

Министерство образования Республики Беларусь
Учреждение образования «Витебский государственный
университет имени П.М. Машерова»

Е.О. Данченко, А.А. Чиркина

**ПЛАНИРОВАНИЕ И ОБРАБОТКА
ЭКСПЕРИМЕНТА В БИОХИМИИ
(Химико-лабораторный
мониторинг в экологии)**

*Учебно-методический комплекс
для студентов биологического факультета*

*Витебск
Издательство УО «ВГУ им. П.М. Машерова»
2006*

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072я73+20.1я73
Д19

Печатается по решению научно-методического совета учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

Авторы: профессор кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор медицинских наук, доцент **Е.О. Данченко**; старший преподаватель кафедры информатики и ИТ УО «ВГУ им. П.М. Машерова», кандидат биологических наук **А.А. Чиркина**

Рецензенты: заведующий кафедрой химии УО «ВГАВМ», доктор биологических наук, профессор В.М. Холод; доцент кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», кандидат биологических наук Н.Ю. Германович

Данченко Е.О., Чиркина А.А.

Д19 Планирование и обработка эксперимента в биохимии (Химико-лабораторный мониторинг в экологии): Учебно-методический комплекс для студентов биологического факультета / Е.О. Данченко, А.А. Чиркина. – Витебск: Издательство УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2006. – 130 с.

ISBN 985-425-606-5

Учебно-методический комплекс по планированию и обработке эксперимента в биохимии (химико-лабораторный мониторинг в экологии) предназначен для студентов биологического факультета и включает программу по химико-лабораторному мониторингу в экологии, рабочий план, теоретические основы предмета, лабораторный практикум. Комплекс призван оказать помощь студентам биологических специальностей, в том числе специальности 1-33 01 01 Биозология, специализация 1-33 01 01 03 Физико-химический анализ объектов окружающей среды в изучении вопросов планирования и обработки фактического материала экспериментов.

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072я73+20.1я73

ISBN 985-425-606-5

© Данченко Е.О., Чиркина А.А., 2006
© УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2006

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
Программа курса «Химико-лабораторный мониторинг в экологии» ...	5
Литература	10
Теоретическое содержание дисциплины	11
Лабораторный мониторинг как раздел лабораторной диагностики.	
Основные объекты исследования	11
Понятие биологической пробы	11
Задачи лабораторных исследований в биоэкологии	13
Типы аналитических лабораторий	14
Клинико-диагностические лаборатории, типы, оснащение, решаемые задачи	15
Лаборатории санитарно-эпидемиологического и экологического контроля.....	17
Лаборатории контроля лекарственных препаратов.....	18
Лаборатории контроля продукции биотехнологических производств.....	19
Исследовательские биологические лаборатории.....	20
Лаборатории контроля продуктов питания.....	20
Лабораторный анализ как средство получения диагностической информации.....	21
Основные этапы химического анализа биопробы	22
Критерии выбора метода лабораторного анализа биопроб.....	25
Требования, предъявляемые к методам лабораторного исследования	26
Характеристика и особенности проб внутренней среды организма	28
Характеристика и особенности проб окружающей среды	29
Атмосферный воздух как объект анализа	29
Природная вода как объект анализа	34
Отбор проб внутренней среды организма и окружающей среды ...	36
Отбор проб внутренней среды организма	36
Отбор проб окружающей среды	38
Пробоподготовка объектов внутренней среды организма и окружающей среды	43
Условия хранения биопроб	48
Контроль качества лабораторных исследований в клинико-диагностических лабораториях	49
Контрольные материалы	52
Возможные источники ошибок при проведении лабораторных исследований	53
Внутрилабораторные источники ошибок	54
Классификация аналитических ошибок	55

Система внутрилабораторного контроля качества химического анализа биопроб	58
Внутренний (внутрилабораторный) контроль воспроизводимости	59
Контроль правильности результатов исследований	69
Проведение контроля качества без контрольного материала	71
Межлабораторный (внешний) контроль качества лабораторных исследований	73
Лабораторный практикум	78
Лабораторная работа № 1. Получение статистических характеристик выборки	78
Лабораторная работа № 2. Анализ вида распределения	84
Лабораторная работа № 3. Определение доверительных интервалов для среднего и медианы	89
Лабораторная работа № 4. Корреляционный анализ	95
Лабораторная работа № 5. Регрессионный анализ	100
Лабораторная работа № 6. Проверка гипотез. Выявление достоверности различий между двумя выборками с помощью t-критерия Стьюдента	106
Лабораторная работа № 7. Проверка гипотез. Выявление достоверности различий между двумя выборками с помощью критерия хи-квадрат	112
Лабораторная работа № 8. Планирование эксперимента. Априорное ранжирование факторов	117
Лабораторная работа № 9. Планирование эксперимента. Построение регрессионной модели	121
Лабораторная работа № 10. Статистическая обработка биохимических показателей сыворотки крови	129

ВВЕДЕНИЕ

Учебно-методический комплекс «Планирование и обработка эксперимента в биохимии» составлен с ориентацией на конечный результат обучения студентов на биологическом факультете с целью формирования знаний о возможностях химико-лабораторного мониторинга окружающей среды и человека. В основе программы лежат представления о принципах организации лабораторной службы, типах лабораторных исследований в экологии, контроле качества лабораторных исследований, применении компьютерных технологий при обработке цифрового материала. Рассмотрены вопросы практического применения лабораторных исследований, их планирования и компьютерной обработки применительно к экологии окружающей среды и экологии человека. Программа основана на учебно-исследовательском принципе изучения предмета.

Программа курса
«Химико-лабораторный мониторинг в экологии»
для студентов биологического факультета
(специальность 1-33 01 01 Биоэкология. Специализация 1-33 01 01 03 Физико-химический анализ объектов окружающей среды)

ЗАДАЧИ ПРЕПОДАВАНИЯ КУРСА

В результате изучения основ химико-лабораторного мониторинга в экологии студент должен:

знать

- принципы организации лабораторной службы;
- правила техники безопасности при работе в лаборатории;
- особенности доаналитического, аналитического и постаналитического этапов лабораторного исследования;
- особенности хранения реагентов;
- принципы планирования эксперимента и обработки полученных данных;

уметь

- пользоваться терминами аналитической и биологической химии и справочными руководствами;
- выбрать биологический объект, составить алгоритм лабораторного исследования, обосновать наиболее эффективный метод анализа вещества;
- применить физико-химические методы лабораторного анализа.

Базовая программа «Мониторинг лабораторных исследований в экологии»

Целью дисциплины является формирование у студентов основ организации экспериментов и испытаний, овладение методами и практическими навыками планирования, проведения и обработки результатов экспериментов.

В результате изучения дисциплины студент должен:

- овладеть основами организации, планирования и проведения экспериментальных работ;
- иметь четкое представление о важности и необходимости предварительного планирования всех элементов экспериментальной работы;
- уметь проводить метрологический анализ результатов и овладеть аппаратом такого анализа;
- овладеть практическими навыками планирования на основе теории эксперимента при решении различных задач;
- иметь представление о практической направленности всех теоретических положений, связанных с планированием и обработкой результатов экспериментов.

1. Введение в дисциплину.

Определение предмета «Лабораторный мониторинг в биоэкологии» как научной дисциплины, изучающей закономерные взаимосвязи между химическим составом объектов окружающей среды и изменением химического состава и функционального состояния организмов, обитающих в этой среде. Задачи дисциплины: разработка методов объективного исследования биофизических, морфологических, химических и биохимических параметров внешней и внутренней среды организмов с целью выявления причинно-следственных отношений при развитии отклонений от нормы и развития адаптационных реакций; установление причин негативного антропогенного воздействия на природу и техногенного влияния на патологические процессы в живых организмах для научного обоснования тактических и стратегических мероприятий по сохранению здоровья человека и других живых организмов в условиях нарастающего экологического прессинга. Связь дисциплины с экологией и фундаментальными науками – биологией, физикой и химией. Использование понятийного арсенала химической экологии, клинической лабораторной диагностики и биометрии.

Аналитическое исследование. Понятие о биологических веществах. Определения понятий «проба» и «биопроба». Характеристика «биопробы»: оптимальный объем, полный набор определяемых веществ, отсутствие модификации и разрушения определяемых веществ в биопробе от момента ее получения до анализа. Особенности анализа «биопробы».

Отрасли науки и народного хозяйства, для которых необходимо исследование биопроб. Задачи лабораторных исследований в биоэкологии.

Биологические материалы. Объекты лабораторного исследования в биоэкологии. Понятие о биологически активных веществах.

Типы аналитических лабораторий. Клинико-диагностические лаборатории, типы, оснащение, решаемые задачи. Лаборатории санитарно-эпидемиологического и экологического контроля. Лаборатории контроля лекарственных препаратов. Лаборатории контроля продукции биотехнологических производств. Исследовательские биологические лаборатории. Лаборатории контроля продуктов питания.

Объекты лабораторных исследований. Характеристика проб внутренней среды организма. Характеристика проб окружающей среды. Вещества, необходимые для нормального существования организма. Вещества, определяющие среду обитания организма.

Атмосферный воздух как объект анализа. Понятие о предельно допустимых концентрациях вредных веществ (ПДК). Нормирование содержания вредных веществ. Первичные и вторичные загрязнители. Критериальные загрязнители. Классификация токсических веществ воздуха. Отбор проб. Анализ – индикаторные трубки, газоанализаторы.

Природная вода как объект анализа. Виды загрязнений воды – физические, химические и биологические. Этапы анализа воды: отбор пробы, пробоподготовка, обнаружение и идентификация ожидаемых компонентов, измерение концентрации найденных компонентов. Разовое и серийное исследование воды. Консервирование проб воды для исследования. Особенности пробоподготовки (концентрирование, фракционирование). Электроаналитические, оптические и хроматографические методы анализа воды.

Твердые объекты лабораторного анализа (почва).

Лабораторный анализ как средство получения диагностической информации при анализе компонентов организма и/или среды обитания.

Основные этапы химического анализа пробы (биопробы). Этапы технологического процесса анализа биопробы: доаналитический, аналитический, постаналитический.

Общие вопросы анализа биосубстратов. Критерии выбора метода лабораторного анализа биопроб. Временные критерии анализа биопроб.

Особенности проб из внутренней среды организма или из окружающей среды. Требования для выбора типа лабораторного анализа биопроб и проб окружающей среды.

Способы отбора и приготовления биопроб. Особенности приготовления биопроб для медицинских и экологических исследований. Забор крови, мочи, биотканей. Правила отбора проб воздуха, воды, твердых образцов.

Условия хранения биопроб.

Контроль качества лабораторных исследований как система количественной оценки специфичности, точности, сходимости, воспроизводимости и правильности лабораторных исследований. Этапы контроля качества – преаналитический, аналитический и постаналитический. Основные группы аналитических методов – дефинитивные (окончательные), референтные

I уровня, референтные II уровня и рутинные. Внутрिलाбораторный и межлабораторный контроль качества.

Контрольный материал – сливные сыворотки, моча и коммерческие контрольные материалы. Аттестованные и неаттестованные контрольные материалы. Нормальные и патологические контрольные материалы. Требования к контрольным материалам. Референтный материал.

Возможные источники ошибок при проведении химического анализа биопроб. Ошибки внелабораторные и лабораторные. Классификация ошибок – грубые, случайные, систематические. Внутрिलाбораторные источники ошибок. Система внутрिलाбораторного контроля качества химического анализа биопроб. Этапы внутрिलाбораторного контроля воспроизводимости: определение концентрации веществ и накопление данных; статистическая обработка цифрового материала; построение контрольных карт; оценка контрольных карт по предупредительным и контрольным критериям.

Контроль правильности результатов исследований. Проведение контроля качества без контрольного материала. Межлабораторный (внешний) контроль качества лабораторных исследований. Протокол контрольных измерений. Контрольная программа. Оценка результатов. Оценка правильности результатов. Построение графика Youden.

Регистрация и хранение результатов лабораторного исследования.

2. Статистическая и компьютерная обработка результатов лабораторных исследований. Общий обзор и классификация методов биометрии. Средние величины показателей. Среднее квадратичное отклонение (сигма), коэффициент вариации. Нормальное распределение и его закономерности. Асимметрия и эксцесс. Биноминальное распределение. Распределение Пуассона. Использование закономерностей распределения в лабораторной практике.

Общее понятие о репрезентативности результатов выборочных лабораторных исследований. Генеральная совокупность и выборка. Доверительные границы и доверительные интервалы выборочных параметров. Критерий достоверности разницы средних, разностей между выборочной и генеральной долями. Определение достаточной численности выборки.

Понятие о корреляции двух признаков. Оценка корреляционной связи. Коэффициент корреляции, корреляционное отношение. Показатели корреляции между альтернативными признаками.

Коэффициент и уравнение регрессии, получаемые на основе простого корреляционного анализа. Метод наименьших квадратов при анализе прямолинейных и криволинейных функций.

Основные элементы дисперсионного анализа: фактор, результативный признак, сила и достоверность влияния факторов, их совместного действия и различных сочетаний их градаций. Влияние неорганизованных факторов. Дисперсионный анализ на основе однофакторных и двухфакторных комплексов – равномерных, пропорциональных и неравномерных – при изучении данных лабораторных исследований.

Изучение степени соответствия фактических данных теоретически ожидаемым с помощью критерия соответствия χ^2 . Вычисление χ^2 по четырехпольным таблицам. Использование χ^2 для установления наличия сопряженности.

Основы использования операционных систем Windows (управление файлами, оформление рабочего стола и планировка задания). Основы использования Excel (ввод информации, форматирование таблиц, статистическая обработка результатов, их графическое выражение). Решение лабораторных задач с помощью электронных таблиц.

3. Планирование эксперимента.

Цели и задачи предварительного анализа результатов наблюдений. Использование ЭВМ для расширения возможностей анализа данных научного эксперимента. Подготовка экспериментальных данных для статистического анализа. Графическое представление данных. Ведение отчета. Упорядоченная выборка результатов измерений. Вариационный ряд. Гистограмма. Различные методы оценки истинного значения постоянной величины по несгруппированным и сгруппированным данным. Сравнительная эффективность различных оценок центра распределения. Виды оценок рассеивания опытных данных. Методы установления вида закона распределения. Применение критериев согласия для установления соответствия моделей закона распределения экспериментальным данным. Доверительный интервал. Проверка статистических гипотез. Регрессионный, дисперсионный, корреляционный анализ данных. Дискриминантный и факторный анализ. Программные средства статистического анализа медико-биологической и биоэкологической информации.

Общие вопросы организации и планирования эксперимента. Задачи планирования экспериментов. Эффективность эксперимента. Содержание основных этапов планирования эксперимента. Активные и пассивные эксперименты. Факторы. Рациональный выбор числа факторов. Определение объема экспериментальных данных. Функция отклика. Планирование эксперимента и обработка результатов при исследовании однофакторных зависимостей. Методы установления характера функциональной зависимости. Выбор вида модели однофакторной зависимости. Оценка параметров модели. Метод наименьших квадратов. Анализ погрешностей при исследовании однофакторных зависимостей. Понятие адекватности модели. Планирование многофакторного эксперимента. Оценка параметров многофакторных моделей. Оптимальные планы. Полный и дробный факторный эксперимент первого порядка. Выбор дробных реплик. Планы факторных экспериментов высших порядков. Центральные композиционные ротатабельные планы. Планирование отсеивающих экспериментов. Рандомизация.

В соответствии с утвержденным учебным планом для биологического факультета по специальности 1-33 01 01 Биоэкология. Специализация 1-33 01 01 03 Физико-химический анализ объектов окружающей среды на преподавание дисциплины «Химико-лабораторный мониторинг в экологии» предусматривается следующее количество часов:

Название факультета	Семестр	Всего часов	Из них аудиторные	Лекции	Лабораторные занятия	Экзамен, зачет
Биологический	10	46	46	24	22	Зачет

Литература

Основная:

1. Контроль качества клинических лабораторных исследований: Метод. указания. – Мн., 1997. – 98 с.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М., 2004. – 920 с.
3. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.А. Даниловой. – СПб., 2003. – 736 с.
4. Гаранина Е.Н. Качество лабораторного анализа. Факторы, критерии и методы оценки / Под ред. В.В. Меньшикова. – М., 1977. – 192 с.
5. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – М., 1973.
6. Плохинский Н.А. Биометрия. – М., 1970.
7. Плохинский Н.А. Дисперсионный анализ. – Новосибирск, 1964.
8. Бейли Н. Статистические методы в биологии. – М., 1962.
9. Грошев С.В., Коцюбинский А.О. Самоучитель профессиональной работы на компьютере. – М., 1999.
10. Басалыга В.И., Левкович О.А., Шелкоплясова Т.Н. Основы компьютерной грамотности. – Мн., 1999.
11. Любищев А.А. Дисперсионный анализ в биологии. – М., 1986.

Дополнительная:

1. Айвазян С.А., Енюков И.С., Мешалкин Л.Д. Прикладная статистика. Основы моделирования и первичная обработка данных. – М., 1983.
2. Асатурян В.И. Теория планирования эксперимента: Учеб. пособие для вузов. – М., 1983.
3. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ: подход с использованием ЭВМ / Пер. с англ. – М., 1982.
4. Боровиков В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. – СПб., 2001.
5. Грачев Ю.П. Математические методы планирования экспериментов. – М., 1979.
6. Джонсон Н., Лион Ф. Статистика и планирование эксперимента в технике и науке: Методы обработки данных: – М., 1980.
7. Ермаков С.М., Жиглявский А.А. Математическая теория оптимального эксперимента. – М., 1987.
8. Поллард Дж. Справочник по вычислительным методам статистики. – М., 1982.
9. Тюрин Ю.Н., Макаров А.А. Анализ данных на компьютере / Под ред. В.Э. Фигурнова. – М., 1995.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Лабораторный мониторинг как раздел лабораторной диагностики. Основные объекты исследования

Лабораторный мониторинг в биоэкологии – научная дисциплина, предметом которой является:

- 1) изучение закономерных взаимосвязей между химическим составом объектов окружающей среды и изменением химического состава и функционального состояния организмов, обитающих в этой среде;
- 2) разработка методов объективного исследования биофизических, морфологических, химических и биохимических параметров внешней и внутренней среды организмов с целью выявления причинно-следственных отношений при возникновении отклонений от нормы и развития адаптационных реакций;
- 3) установление причин негативного антропогенного воздействия на природу и техногенного влияния на патологические процессы в живых организмах для научного обоснования тактических и стратегических мероприятий по сохранению здоровья человека и других живых организмов в условиях нарастающего экологического прессинга.

Это направление научно-практических исследований возникло и оформилось на стыке экологии и фундаментальных наук – биологии, физики и химии. Оно использует понятийный арсенал химической экологии, клинической лабораторной диагностики и биометрии.

Изучение состава и структуры естественно существующих или искусственно созданных веществ из окружающей среды связано с выполнением исследований, которые относятся к классу *аналитических*, т.е. осуществляющих *качественный* или *количественный* анализ некоторого количества вещества. Аналитические исследования (лабораторный анализ) проводится в специально оборудованных лабораториях, наиболее приспособленных для их выполнения. Для этих исследований разработаны разнообразная техника и методики, пригодные для анализа пробы. *Проба* – небольшое количество вещества, взятого от изучаемых объектов. Источниками «проб» могут быть *биологические объекты* (живые организмы) и *объекты окружающей среды*.

Понятие биологической пробы

Задачами аналитических исследований в медико-биологической и биоэкологической практике являются: 1) определение *химического состава и структуры* самого широкого спектра компонентов, содержащихся в раз-

нообразных веществах и материалах биологического происхождения; 2) оценка ряда их *физических и физико-химических характеристик*. Само исследование выполняется с относительно небольшим количеством исходного материала, который может находиться в различных агрегатных состояниях, иметь разный химический состав, различаться по физическим свойствам, но главное для их характеристики – *непосредственное отношение к биологическим процессам*.

Биологическая проба (биопроба) – некоторое количество биологического материала, взятого из любой исследуемой среды. В общем случае этот биологический материал определяется как биосубстрат, учитывая, что исследуемая среда может содержать биосубстраты разного вида. Именно эти возможные пути получения исследуемого материала и определяют два типа проб, поступающих на анализ.

Таким образом, объекты лабораторного мониторинга можно классифицировать на две большие группы: *биопробы внешней (окружающей) среды и биопробы из внутренней среды живых организмов*. Методология их анализа базируется на фундаментальных принципах физико-химического и биологического анализа с учетом особенностей исследования проб и биопроб, что реализуется в специализированных лабораториях.

С точки зрения потребностей организма, разделение биопроб на две группы по источнику их получения условно, так как и те, и другие вещества принимают активное участие в процессах жизнедеятельности и могут находиться внутри организма, оказывая влияние на его функционирование. Они или необходимы организму для поддержания этих процессов, или синтезируются организмом непосредственно в процессе жизнедеятельности.

Основными *источниками биопроб внутренней среды организма* являются: содержимое сосудов и полостей (кровь, моча, спинномозговая жидкость, трансудаты, экссудаты), выделения живых организмов, ткани. Для анализа здоровья человека используют биопробы из крови, мочи, клеточных элементов крови, слюны. Представляет интерес исследование пота, слезной жидкости, волос, отпечатков поверхности кожи, выдыхаемого воздуха.

Чтобы исследование было репрезентативным, *компоненты, содержащиеся в биопробе, должны содержать в полной мере все особенности основной массы изучаемого материала*. Поэтому выбор *оптимального объема* биопробы – одна из сложных задач таких исследований. Часто для получения достоверных результатов приходится исследовать несколько биопроб, взятых из различных областей биоматериала, т.е. проводить *серийный эксперимент*. Исследуемая биопроба является многокомпонентной и часто содержит компоненты, способные *модифицировать или разрушать* избранное для исследования вещество (клетки, ферменты, свободные радикалы и др.). Для предотвращения этого необходимы специальные технические приемы (пробоподготовка, хранение биопроб).

Задачи лабораторных исследований в биоэкологии

Биоэкологические, биомедицинские и валеологические исследования характеризуются сложностью и разноплановостью. Их отличают как *разнообразие* самих анализируемых материалов и содержащихся в них веществ, так и множество *конкретных задач*, которые могут быть поставлены на каждом эксперименте с биопробой. Подобные исследования проводятся в биологических лабораториях различного профиля и обеспечивают решение многих фундаментальных и прикладных задач.

Значительную часть аналитических исследований биологической направленности составляют исследования, проводимые в здравоохранении, медицинской промышленности, микробиологии, научно-исследовательских учреждениях биотехнологического и экологического профилей, лабораториях судебно-медицинской или судебно-ветеринарной экспертизы. Развитие индустриальных государств привело к значительному влиянию промышленных производств на природную среду. В связи с этим задачи лабораторных исследований в биоэкологии могут быть следующими:

- экологическая экспертиза промышленных и сельскохозяйственных регионов (анализ химического состава воздуха, воды и почвы);
- изучение влияния окружающей среды на здоровье населения;
- изучение влияния окружающей среды на демографию;
- научное обоснование допустимых концентраций вредных веществ;
- определение предельно допустимых концентраций вредных веществ (ПДК);
- лабораторная оценка механизмов повреждения живых организмов неблагоприятными экологическими факторами;
- лабораторная оценка механизмов защиты организма от действия неблагоприятных экологических факторов;
- изучение механизмов адаптации организмов к действию неблагоприятных экологических факторов.

Общим для всех перечисленных задач является изучение веществ, так или иначе *вовлеченных в биологические процессы, т.е. биологических материалов*. Вещества, содержащиеся в них, либо непосредственно связаны с функционированием организмов (являются продуктами их жизнедеятельности), либо являются внешними по отношению к организму, но способствующими поддержанию в нем физиологических процессов. Это могут быть:

- *часть исследуемого объекта*, например организма, при изучении свойств веществ из его внутренней среды (ВС);
- *часть среды обитания организма*, например пробы воздуха или воды из окружающей среды, в которой постоянно находится организм в процессе жизнедеятельности;

- *продукты питания*, потребляемые организмом с целью пополнения запасов энергии и веществ, необходимых для осуществления его жизненно важных функций;
- *активные минеральные и растительные вещества*, например лекарства и пищевые добавки, оказывающие значимое влияние на процессы жизнедеятельности в организме, усиливая или угнетая последние.

В качестве объектов лабораторного исследования могут быть выбраны материалы биотехнологических производств, продукция которых относится к так называемым *активным биологическим веществам* (искусственный белок, дрожжевая масса и т.п.). В аптечном деле аналитические задачи решаются при приготовлении лекарственных препаратов с заданными свойствами. К этому же классу объектов относятся так называемые пищевые добавки в рационы человека и животных, получившие широкое распространение в качестве средств профилактики или компенсации неблагоприятных для организма факторов.

В проведении мониторинга объектов различной природы и различного назначения можно выделить следующие этапы: отбор пробы; пробоподготовка; обнаружение и идентификация ожидаемых компонентов; измерение концентрации найденных компонентов; статистическая обработка полученных результатов.

Типы аналитических лабораторий

Вследствие огромного разнообразия конкретных задач лабораторного анализа аналитические лаборатории медико-биологического и биоэкологического направлений различаются по характеру исследуемых объектов, ввиду проводимых исследований, методикам, скорости и точности выполнения анализов, техническим приемам и средствам, производительности работ, по организационной структуре и внешним связям. Поэтому выделяют отдельные лабораторные службы, которые выполняют определенные задачи.

Существует несколько аналитических служб, которые контролируют вещества, влияющие на живые системы и, прежде всего, на человека:

- *диагностические* – клинико-диагностические лаборатории (КДЛ);
- *санитарные и гигиенические* – санитарно-эпидемиологические станции (СЭС);
- *экологические* – станции экологического контроля (СЭК);
- *фармацевтические* – лаборатории качества лекарственных препаратов;
- *биотехнологические* – лаборатории контроля продукции биотехнологических производств;
- *биологические* – исследовательские биологические лаборатории;
- *пищевые* – лаборатории качества продуктов питания (ЛКПП).

Поскольку экология человека лежит в центре биоэкологии, на первое место следует поставить лаборатории, контролирующие состояние здоровья людей.

Клинико-диагностические лаборатории, типы, оснащение, решаемые задачи

Главная задача *медицинского лабораторного анализа* состоит в *получении достоверной диагностической информации о функционировании различных систем человеческого организма на основании проведения лабораторных исследований.*

Организационной структурой для выполнения медицинского лабораторного анализа являются *клинико-диагностические лаборатории (КДЛ).*

Данные из КДЛ, как правило, дополняют данные физиологических исследований, проводимых непосредственно на организме. В то же время диагностическая информация, получаемая с их помощью, почти всегда позволяет ставить диагноз значительно раньше появления симптомов заболеваний, фиксируемых на физиологическом уровне. Поэтому правильный выбор объема проводимых лабораторных диагностических тестов и интерпретация их результатов во многом определяют успех и своевременность постановки диагноза, а также выбор терапии и контроль ее эффективности. Особенно важными эти исследования становятся для решения наиболее трудных клинических задач, таких, как диагностика инфекционных болезней, определение симптомов онкологических заболеваний, оценка возрастных изменений биохимического статуса организма и т.п.

Значение исследований, проводимых в КДЛ, состоит в том, что они предоставляют *непосредственную, часто наиболее раннюю, полную и точную диагностическую информацию о многих тончайших биохимических процессах, происходящих на клеточном, молекулярном и субмолекулярном уровнях.* При этом объектом анализа является биологический материал, отобранный из внутренней среды организма: кровь, моча, лимфа, спинномозговая жидкость, желудочный сок, срезы биотканей и другие субстанции, вырабатываемые организмом в процессе его жизнедеятельности.

Обследование больного в стационаре в значительной мере состоит в получении ряда систематизированных медицинских анализов, позволяющих выявлять тенденции в развитии заболевания, контролировать ход патологических или оздоровительных процессов. При этом в КДЛ больницы поступают на анализ материалы из всех отделений: терапевтических различного профиля, хирургического, реанимационного и др.

При проведении исследований в КДЛ, как правило, применяются те же физико-химические методы, что и в лабораториях, изучающих другие органические и неорганические материалы. Однако эти методы должны

быть приспособлены для изучения биологических материалов, полученных из живых организмов.

Обычно в клинико-диагностических лабораториях используется стандартная аналитическая аппаратура: фотометры, спектроанализаторы, полярографы, масс-спектрометры, центрифуги и т.п. В то же время в зависимости от назначения КДЛ, конкретного биологического материала и метода исследования может использоваться и узкоспециализированная техника, применяемая только для определенного вида медицинских анализов. Наиболее точное и своевременное распознавание большинства заболеваний можно обеспечить только при сочетании аппаратуры для функциональной диагностики с приборами медицинской лабораторной техники.

КДЛ можно подразделить на следующие основные типы:

- лаборатории клинических стационаров;
- централизованные лаборатории (например, аналитические лаборатории диагностических центров);
- лаборатории многопрофильных и специализированных лечебно-профилактических учреждений;
- первичные лабораторные пункты.

Это разделение необходимо для оптимизации распределения ресурсов КДЛ. Так, централизованные лаборатории в основном ориентированы на проведение массовых обследований населения и выполнение наиболее часто требующихся анализов, результаты которых не обязательно поступают в клинические или поликлинические учреждения. В первичных лабораторных пунктах (например, в полевых лабораториях территориальных центров медицины катастроф, на производственных предприятиях, в детских учреждениях и т.п.), как правило, можно выполнить только самые простые исследования, а в специализированных лабораториях проводятся редко встречающиеся анализы. Возможности аналитических лабораторий стационаров и многопрофильных лечебно-профилактических учреждений значительно шире, поэтому в первичных лабораторных пунктах в оснащении преобладают лабораторные технологии, не требующие специальных условий для реализации, например средства сухой химии. В специализированных лабораториях имеющееся оборудование требует специальных условий эксплуатации и наличия высококвалифицированного персонала.

Изучение деятельности КДЛ медицинских учреждений различного профиля показало, что наряду с увеличением числа анализов наблюдается их дальнейшее усложнение за счет расширения списка веществ и факторов внешней среды, интересующих врачей. Это предопределяет высокие требования к качеству выполнения используемых аналитических методов и уровню аппаратуры соответствующих лабораторий, а также к степени автоматизации проводимых исследований. В связи с этим представляется целесообразным использовать условную классификацию аналитических лабораторий, согласно которой все их можно разделить:

по производительности:

- лаборатории, производящие одиночные анализы (до пяти анализов в час);
- лаборатории средней мощности (10–15 анализов в час);
- лаборатории массовых анализов (свыше 50 анализов в час);

по скорости выполнения анализов:

- лаборатории со строго лимитированным временем анализа (экспресс-лаборатории);
- лаборатории с ограниченно лимитированным временем анализа;
- лаборатории, не имеющие лимитов на время выполнения анализов;

по количеству проводимых в год анализов:

- КДЛ первой категории – ежегодно производится свыше 400 тыс. анализов;
- КДЛ второй категории – 201–400 тыс. анализов;
- КДЛ третьей категории – 101–200 тыс. анализов;
- КДЛ четвертой категории – 51–100 тыс. анализов;
- КДЛ пятой категории – 50 тыс. анализов.

Категория лабораторий зависит от мощности обслуживаемых больниц, поликлиник и объединений, и она определяет их методическое и техническое обеспечение.

Лаборатории санитарно-эпидемиологического и экологического контроля

К ним относятся *лаборатории санитарно-эпидемиологических станций (СЭС) и станций экологического контроля (СЭК).*

Основная цель *санитарно-эпидемиологических станций* заключается в *сохранении здоровья населения путем изучения условий жизни человека и предотвращения влияния неблагоприятных факторов окружающей среды.*

Основными функциями СЭС является:

- гигиенический контроль условий труда на промышленных предприятиях;
- контроль санитарного состояния детских учреждений, учебных заведений, коммунальных объектов (бани, прачечные, общежития);
- контроль безопасности работы с радионуклидами;
- проведение противоэпидемических мероприятий;
- профилактики малярии и других паразитарных заболеваний и т.п.

В последние годы в связи с нарастанием экологического кризиса в крупных промышленных центрах и регионах дополнительно появились иные независимые подразделения – *станции экологического контроля*, что послужило основанием для создания специальных экологических лабораторий.

Защита окружающей среды от загрязнений превратилась в одну из наиболее важных проблем современности. Попадая в воздух, воду и почву, а также в продукты питания, токсичные вещества создают реальную угро-

зу существованию человека, растений и животных. По некоторым оценкам, сейчас в биосфере постоянно находится около 1 млн. различных химических соединений антропогенного происхождения, и число их непрерывно растет. Ежегодно в мире синтезируется несколько тысяч новых химических веществ, многие из которых становятся потенциальными загрязнителями атмосферы, воды и почвы. Решение проблем борьбы с загрязнением окружающей среды невозможно без создания эффективной системы контроля качества воздуха, воды и почвы. Поэтому основная задача состоит в разработке новых и эффективном использовании существующих методов определения различных токсичных веществ в составе проб, извлекаемых из воздуха, воды и почвы.

В задачи СЭК входит постоянный мониторинг тех факторов окружающей среды, которые могут представлять серьезную угрозу жизни человека:

- гигиенический контроль состояния окружающей среды (вода, воздух, почва);
- анализ загрязнений воздуха, качества воды, состояния водоемов;
- очистка сточных вод;
- проверка уровня шумов и вибрации и др.

Для сохранения здоровья населения, а также обеспечения условий нормального функционирования сельского, рыбного и лесного хозяйств, промышленных предприятий и различных сооружений большое значение имеют анализы проб окружающей среды, в первую очередь, воздуха и воды, осуществляемые этими лабораториями. Лабораторный анализ совершенно необходим при контроле качества очистки сточных и природных вод от различных примесей, а для природных вод важной также является задача оценки их лечебных возможностей.

Организация работы СЭС и СЭК подобна организации деятельности КДЛ, тем более что некоторые задачи у этих служб совпадают, особенно в направлении медико-экологических исследований. Здесь тоже можно выделить учреждения разного уровня по типам и объемам исследований, скорости выполнения исследований и уровню аппаратного оснащения.

Лаборатории контроля лекарственных препаратов

При выполнении лечебных мероприятий медицина широко использует лекарственные препараты, которые часто готовятся из полуфабрикатов, наборов исходных материалов с использованием определенной технологии приготовления конечного продукта. От соблюдения технологических условий изготовления зависит качество препаратов, поэтому на всех этапах предусматривается контроль продуктов производства. В медицинские учреждения поступают также препараты иностранного производства, вещества, имеющие ограниченный срок хранения, медикаменты, выпу-

щенные разными фирмами-производителями. Лаборатории контроля лекарственных препаратов включаются в состав фармацевтических предприятий и крупных аптек и связаны с контролем качества биологически активных веществ, при котором должна эффективно использоваться аналитическая техника. Их основными *задачами* являются следующие:

- оценка чистоты и эффективности лекарственных препаратов различного назначения;
- оценка качества препаратов при их длительном хранении;
- выявление факторов, влияющих на качество биологически активных веществ (БАВ), особенно в процессе их приготовления;
- изучение побочных эффектов применения препаратов и т.п.

В организационном отношении подобные лаборатории небольшие, перед ними не стоят проблемы достижения высоких скоростей и объемов анализов.

Лаборатории контроля продукции биотехнологических производств

Основой биотехнологического производства служит *микробиологический синтез, т.е. синтез различных веществ с помощью микроорганизмов.*

Начальным этапом биотехнологических разработок является получение чистых культур микроорганизмов, клеток и тканей растений и животных с заданными свойствами. Затем эти культуры включаются в биологические процессы, организованные в промышленных масштабах и контролируемые по всем определяющим их эффективность параметрам. Продукцией таких производств будут БАВ, необходимые для развития многих отраслей народного хозяйства.

Таким образом, *задачи* лабораторий качества продукции биотехнологических производств связаны с оценкой:

- состава производимых веществ и концентрации в них разных компонентов;
- биологической активности (способности влиять на живые системы);
- токсичности;
- влияния разных фаз производства на свойства веществ и др.

Такие работы неразрывно связаны с проведением научных исследований, для которых также необходима специальная аналитическая аппаратура и методики, так как при изучении биологической активности часто проводятся исследования на живых организмах – микроорганизмах, мелких и средних животных.

В качестве *первоочередных задач биотехнологических лабораторий* можно выделить следующие:

- создание новых БАВ и лекарственных препаратов для медицины (например, интерферонов, инсулина, гормонов роста, моноклональных антител и т.п.);
- разработка микробиологических средств защиты растений, ценных кормовых добавок (например, кормового белка, аминокислот, ферментов, витаминов, ветеринарных препаратов и др.) для повышения продуктивности животноводства;
- синтез новых препаратов для профилактики, диагностики и терапии основных болезней сельскохозяйственных животных;
- разработка новых технологий получения хозяйственно ценных продуктов для использования в пищевой, химической, микробиологической и других отраслях;
- развитие технологии эффективной переработки промышленных, сельскохозяйственных и бытовых отходов, использования сточных вод и газовоздушных выбросов для дальнейшей переработки.

Исследовательские биологические лаборатории

Аналитические задачи часто возникают и при выполнении сложных биологических исследований, связанных с решением научных проблем молекулярной биологии, биохимии, генетики и других биологических наук. При этом могут ставиться разные задачи по изучению структуры и свойств различных веществ, оценке их роли в процессах жизнедеятельности, влияния на живые системы и т.п. Как правило, такие исследования проводятся на микроорганизмах, мелких и средних животных, а затем (в зависимости от результатов) в качестве объектов исследования используют крупных животных и даже человека. Эти лаборатории являются в большей степени научно-исследовательскими организациями, поэтому наряду с аналитическими приборами для изучения различных биопроб они оборудованы средствами функциональных исследований и высокопроизводительными комплексами по обработке и хранению больших объемов информации. Состав и оснащение подобных лабораторий зависят от научной направленности исследований и, следовательно, могут различаться в значительной степени.

Лаборатории контроля продуктов питания

Еще одним потребителем аналитической лабораторной аппаратуры является *пищевая промышленность*, которая предоставляет человеку огромное разнообразие продуктов питания, полуфабрикатов, продукции консервных производств, где необходимо непрерывно вести *контроль*:

- биологической ценности производимой пищевой продукции;

- безвредности продуктов питания для организма человека;
- эффективности пищевых добавок, количество которых постоянно растет, и оценки отдаленных последствий их применения;
- сохранности пищевых качеств при хранении продуктов питания и др.

Техника выполнения этих исследований аналогична технике аналитических исследований в других лабораториях. Однако задачи, решаемые в них, существенно отличаются от задач других аналитических лабораторий и поэтому их целесообразно выделить в отдельный вид – лаборатории контроля пищевых продуктов.

Необходимо отметить, что в настоящее время не все перечисленные службы реализованы в полном объеме; ряд из них находится еще в стадии формирования. Возможно также появление в будущем и других лабораторных служб медико-биологической и биоэкологической направленности, предназначенных для работы с использованием различной аналитической техники.

Лабораторный анализ как средство получения диагностической информации

Основными типами решаемых в лабораторных условиях *задач* являются: 1) определение *вида и концентрации компонентов* в исследуемой среде и 2) определение *структурного состояния отдельных компонентов* путем проведения качественного или количественного анализа. Решив в комплексе задачи указанных типов, можно получить полное представление о любой пробе при данных условиях. Однако чаще всего бывает достаточно определить одно или несколько характерных свойств пробы, выявить какой-то специфический компонент или небольшую их группу, чтобы сделать необходимый вывод по существу поставленной диагностической, научной или производственной задачи.

Весьма распространено изучение факторов, влияющих на пробу, формы проявления и степени подобного влияния, выяснение всех возможных последствий. Эта задача может быть сведена к предыдущим. При этом вводятся как бы новые переменные величины или параметры, характеризующие изменяющиеся начальные условия (исходное состояние пробы) или условия проведения эксперимента. Часто подобные изменения условий могут осуществляться в самих лабораторных анализаторах с помощью дополнительных устройств.

В клинко-диагностических лабораториях определяются характеристики биологических субстанций, которые участвуют в процессах метаболизма. К подобным характеристикам можно отнести качественный и количественный состав биопробы, данные о структуре, геометрических соотношениях, объемах, а также о динамике изменения свойств каких-либо компонентов в процессе жизнедеятельности.

Чаще всего целью анализа клинико-диагностических лабораторий является определение *наличия* конкретного компонента или *диагностически значимого отклонения* в его содержании. Например, начальная стадия заболевания диабетом часто выявляется по повышению уровня сахара в крови, а для диагностики анемии значимым является отклонение в содержании гемоглобина и эритроцитов в крови, которые в норме всегда присутствуют в организме. Для многих заболеваний уже само наличие некоторого компонента свидетельствует о патологии, например присутствие белка или эритроцитов в моче, изменение в лейкоцитарной формуле крови и т.п.

Для проб второй группы интерес представляет, прежде всего, определение *количественного содержания (концентрации) компонентов вещества, опасных для жизнедеятельности человека*. Для описания качества среды обитания человека вводятся предельно допустимые концентрации (ПДК) основных токсических составляющих, контроль поддержания которых обеспечивается специальными службами – СЭС и СЭК. Примерами подобных исследований могут служить определение следов тяжелых металлов в питьевой воде, концентрации пестицидов в сточных водах, уровня запыленности воздуха в производственных помещениях и др.

Основные этапы химического анализа биопробы

Анализ любой пробы подразумевает измерение ряда (множества) параметров $\{ФП\}_{БП}$ различной физической природы – механических, электрических, магнитных, оптических и др., связанных с изучаемой характеристикой или компонентом исходного вещества пробы. Поэтому здесь применяются те же физико-химические методы, что и в лабораториях, исследующих другие органические и неорганические материалы, и используется универсальная аппаратура.

Однако не вся биопроба подвергается анализу, а только некоторая ее часть – *исходное вещество* $ИВ_{БП}$. Это связано с тем, что на одном и том же материале, взятом из исследуемой среды, может быть проведено несколько исследований разными методами. Исходное вещество с целью стабилизации ее характеристик также обрабатывается специальным образом, например, путем добавления антикоагулянтов. Поэтому $\{ФП\}_{ИВ}$ в общем случае могут отличаться от $\{ФП\}_{БП}$. Кроме того, не все свойства $ИВ_{БП}$ непосредственно отображаются в $\{ФП\}_{ИВ}$.

Прямое измерение соответствующего параметра $\{ФП\}_{ИВ}$ часто оказывается невозможным из-за сложного состава вещества $ИВ_{БП}$ и наличия примесей, которые дают те же реакции, что и интересующий исследователя компонент. Возникает необходимость в специальных преобразованиях $ИВ_{БП}$, которые позволили бы, во-первых, подготовить его к соответствующей процедуре измерения и, во-вторых, трансформировать определенным образом для наиболее эффективного извлечения информации. Такие пре-

образования (так называемая пробоподготовка) обычно представляют собой достаточно сложную и продолжительную по времени последовательность различных операций Q_p по трансформированию исходного вещества пробы в *конечный продукт* (КП) и в, физические параметры которого $\{ФП\}_{кп}$ будут затем измерены (рис.1). Процедура пробоподготовки предполагает выполнение целого ряда операций, отличающихся для разных методик лабораторного анализа: дозирование, перемешивание, термостатирование, фракционирование, химическая трансформация и т.п.

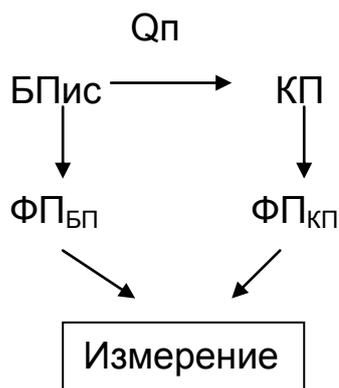


Рис. 1. Структура получения информации о состоянии $БП_{ис}$.

Последовательность всех описанных операций, их продолжительность и условия выполнения являются принципиальными для того или иного вида исследования и образуют своеобразный *технологический процесс* (ТП) выполнения соответствующего анализа. Конкретное содержание операций в ТП определяется как методом исследования, исходным состоянием $БП_{ис}$ и ее исследуемыми характеристиками, так и алгоритмами преобразования вещества (для пробоподготовки) и электрических сигналов измерительных преобразователей (при получении числовых оценок исследуемых свойств), а также способами интерпретации результатов анализа.

Таким образом, ТП любого лабораторного исследования включает несколько этапов, имеющих разные целевые функции. В свою очередь, каждый этап может включать несколько операций, выполнение которых позволяет реализовать определенную функцию. Последовательность этапов ТП, а при необходимости и последовательность операций каждого из них, удобно представить в наглядном виде с помощью *технологических схем*, в которых всегда можно выделить три этапа.



Назначение первого (*доаналитического*) этапа определяется тем, что биосубстрат может находиться в разных исходных условиях (в том числе, например, и не в стерильных), в которых нельзя отбирать биопробу. Это особенно важно при медицинских исследованиях, поэтому поверхность

тела, из которого будет отбираться биологический материал, обрабатывается специальными составами. Кроме того, тщательно готовится инструмент для отбора биопробы. Этот этап важен и для аналитических исследований веществ из окружающей среды, так как его правильное выполнение исключает влияние случайных факторов, способных внести искажения в результаты.

Доаналитический этап связан также с предварительной подготовкой самой биопробы. В ходе его выполнения от исследуемой среды (вернее, из биосубстрата, содержащегося в исследуемой среде) отбирается часть вещества БПис, которая затем помещается в специальный контейнер (емкость) и перемещается в лабораторию. Здесь от нее отделяют некоторую часть – ИВ_{БП}, с которой затем должны проводиться мероприятия, связанные с реализацией той или иной методики исследования.

Несмотря на кажущуюся простоту выполнения этой части этапа, его роль крайне важна. Биопроба представляет исследовательский интерес только до тех пор, пока она несет в себе информацию об исследуемой среде, из которой она взята. Со временем связь биопробы с исследуемой средой утрачивается, а значит, исчезает и полезная информация. Следовательно, продолжительность транспортировки биопробы и выделения из нее анализируемой части должна быть сведена к минимуму, что не всегда возможно, поэтому на этом этапе предусматриваются операции по стабилизации (консервации) биоматериала.

В процессе второго (*аналитического*) этапа разворачивается основная технологическая процедура лабораторного анализа. Это наиболее сложная часть исследования, которая включает разнообразные операции по преобразованию ИВ_{БП}, а после контакта КП_{ИВ} с измерительным преобразователем – операции по обработке сигналов. В ходе выполнения такой процедуры должна быть реализована однозначная связь между изучаемой характеристикой исследуемой среды и той оценкой, которая будет получена после измерения соответствующих физических параметров конечного продукта {ФП}кп.

Третий (*постаналитический*) этап включает операции по обработке результатов исследований. Их содержание целиком зависит от решаемой задачи и опыта исследователя.

Последовательности операций в виде технологических схем можно установить для любого лабораторного исследования. Разработка новых, более эффективных способов физико-химических и биологических воздействий на исследуемые вещества позволила значительно расширить возможности по преобразованию исходных проб и предложить новые технологические операции для выполнения лабораторных исследований, а следовательно, и новые методики анализа.

Критерии выбора метода лабораторного анализа биопроб

Лабораторному анализу могут подвергаться различные материалы биологического происхождения или материалы, непосредственно влияющие на процессы жизнедеятельности живых систем, которые объединяются под общим понятием *биосубстраты* (БС). Для последующего анализа из БС готовят биопробы различного объема, которые могут находиться в разных агрегатных состояниях. Несмотря на исключительное разнообразие физических и химических свойств БС, наиболее подходящим для выполнения различных лабораторных исследований является жидкое состояние биопробы. Такое состояние при необходимости достигается с помощью операций по ее подготовке.

При выборе метода лабораторного анализа должны учитываться различные факторы, от которых зависит качество выполнения исследования. Основное влияние на выбор метода оказывает цель анализа: определение какого-либо параметра или оценка состояния исследуемой среды. При этом не менее важными могут быть и другие факторы. Например, для целей клинического анализа, кроме диагностических возможностей метода, большое значение имеют скорость и простота выполнения лабораторного эксперимента с биопробой, доступность исследования для широкого пользования, достоверность результата, экономичность выбранного метода, уровень требуемой квалификации медицинского персонала, проводящего лабораторный эксперимент, и т.п. При выполнении исследований с пробами из внутренней среды организма особое внимание обращается на представительность набора биопроб по изучаемому региону, полноту и глубину исследования, безопасность обслуживающего персонала.

Практика применения аналитических методов позволяет ввести пять групп критериев, руководствуясь которыми следует выбирать конкретный метод для поставленной медико-биологической задачи:

- *биомедицинские*, отражающие, прежде всего, диагностическую значимость показателей выбранного метода, а также: количество материала, необходимого для анализа, способ отбора и доставки биологического материала в лабораторию, длительность анализа (по отношению к допустимым срокам постановки диагноза);
- *аналитические*, связанные с оценкой возможностей метода – специфичность, воспроизводимость, чувствительность и т.п.;
- *технические* – расход рабочего времени и материальных ресурсов на проведение одного исследования, которые определяются наличием необходимого оборудования и приборов, их технические характеристики (быстродействие, помехоустойчивость, точность, ремонтпригодность и др.), уровнем квалификации технического персонала, проводящего периодическую калибровку и юстировку, и т.п.;

- *экономические*, отражающие *стоимость одного исследования*, которая складывается из стоимости реактивов, амортизационных расходов по использованию оборудования, заработной платы обслуживающего персонала и т.д.;
- *безопасности*, связанные с влиянием реактивов на здоровье исследователей и пациентов (токсичность, возможность заражения и т.д.), отсутствие травматизма при взятии биологических материалов на исследование и пр.

Для сравнительного анализа различных вариантов выполнения исследований необходимо учитывать затраты времени на их проведение, которые можно определить как *временные критерии*. Одним из таких критериев может служить *общая продолжительность анализа* (T_0) – время, затраченное на проведение одного исследования (с момента отбора вещества биопробы из организма до получения искомого значения медико-биологического показателя в его качественном или количественном выражении). Определение времени T_0 связано с анализом временной структуры всего исследования и отдельных его этапов. Введя аналогичные обозначения для времени, затрачиваемого на выполнение отдельной операции ($t_{оп}$) или соответствующего этапа ($t_{ппэ}$, $t_{ип}$), можно построить полную временную диаграмму выполнения исследования – его своеобразный сетевой график. Результаты сравнения таких диаграмм дают основания для оптимизации самого исследования – определения узких мест, тормозящих процесс, и разработки приемов ускорения операций, например за счет воздействий на изучаемые материалы внешними физическими полями.

Кроме перечисленных критериев, которые носят общий характер и могут быть отнесены к любому методу анализа, существует также ряд требований, предъявляемых к аналитическим методам, которые специфичны для каждой из двух групп объектов (проб из внутренней среды или из окружающей среды).

Требования, предъявляемые к методам лабораторного исследования

Требования, которые предъявляются к методам лабораторных исследований, определяются *биологической природой и свойствами объекта исследования*:

- низкий энергетический уровень внутренних взаимодействий, определяющих устойчивость структурных комплексов на субклеточном, молекулярном и субмолекулярном уровнях, и, как следствие этого, нестабильность, легкая травмируемость биологических материалов вплоть до утраты специфических свойств при внешних энергетических воздействиях;
- гетерогенность БПис, их многокомпонентность, сохранение биологической специфичности в узком диапазоне значений кислотности рН, ионной силы и других химических показателей;

- очень низкие концентрации активных компонентов при больших количествах примесей;
- минимальные изменения (динамика) физико-химических свойств биопробы, которые, тем не менее, являются значимыми для организма, т.е. существенно влияют на процессы жизнедеятельности;
- сохранение биологической специфичности в относительно узком температурном диапазоне, следствием чего является необходимость проведения исследований при стабилизированных температурах;
- ограниченный исходный объем БП, измеряемый иногда единицами и десятками микролитров.

Эти особенности определяют набор *специальных приемов* проведения исследований с биоматериалами:

- применение сравнительно *мягких*, по возможности, *неразрушающих методов* обработки БП_{ИС} (все преобразования, входящие в технологическую процедуру анализа, должны как можно меньше изменять исходный биологический материал);
- *поиск физического параметра ФП_{БП}*, который соответствовал бы *исследуемой характеристике БП_{ИС}*, или методического приема трансформации исходного вещества в некоторый конечный продукт, физический параметр которого будет соответствовать данной характеристике;
- *учет посторонних факторов* (методических, технологических, климатических), которые могут повлиять на результаты анализа и исказить их.

Исходя из сказанного, можно сформулировать *требования*, которые необходимо учитывать при выборе метода лабораторного анализа:

- возможность исследования *при малых уровнях воздействующих энергий и сохранение ИВ_{БП} неизменной*;
- обеспечение *специфичности исследования*, т.е. способности получать показатели именно тех компонентов гетерогенной системы, которые позволяют эффективно решить поставленную медико-биологическую задачу;
- *высокая чувствительность метода*, т.е. получение существенных изменений выходных параметров сигналов при малых изменениях свойств БП_{ИС};
- *малые размеры активной зоны*, т.е. минимизация объемов анализируемых биопроб;
- *минимально возможное время исследования*, например за счет перехода к импульсным режимам работы.

Аналогичные требования, но приспособленные для методов исследования проб окружающей среды, формулируются следующим образом:

- возможность *определения следов органических и неорганических веществ*, находящихся в пробе на уровне долей 10^{-9} ;
- достаточная *селективность* (специфичность);
- *отсутствие сложной процедуры пробоподготовки*;

- *небольшая длительность* выполнения исследования;
- *возможность автоматизации* методики (для проведения серийных анализов);
- *независимость* от уровня квалификации персонала;
- *доступная стоимость* оборудования;
- *минимальные массогабаритные характеристики* анализаторов, позволяющие проводить исследование в полевых условиях;
- *достаточная универсальность* (определение большого количества веществ), с одной стороны, и возможность одновременного определения нескольких компонентов пробы – с другой.

Характеристика и особенности проб внутренней среды организма

В группу проб, взятых из внутренней среды организма, входят вещества, представляющие собой неотъемлемую часть этой среды и образующиеся в процессе жизнедеятельности. Как правило, это объекты, исследуемые при решении медицинских, экологических, а иногда и биологических задач.

Число биологических веществ, которые можно отобрать из внутренней среды организма, достаточно велико (по литературным источникам, в клинической практике известно более 2000 аналитических исследований с разными биоматериалами. Наиболее часто в качестве объектов исследования выделяют отдельные виды таких веществ, характеризующиеся общими свойствами: различные газовые составляющие, биологические жидкости, продукты выделений, ткани организма; сюда же можно отнести микроорганизмы, сосуществующие во внутренней среде основного организма. Специфические свойства каждого вида биологического материала должны учитываться при выборе аналитического метода для определения ряда медико-биологических показателей.

С целью диагностики состояния организма человека наиболее часто проводятся следующие исследования: общий анализ крови; общий анализ мочи; подсчет количества тромбоцитов; определение глюкозы в крови и моче; полная коагулограмма; посевы разных материалов на флору; исследование кала на гельминты; определение протромбинового комплекса; определение группы крови; определение резус-принадлежности; определение времени кровотечения и времени свертывания крови; определение общего белка и белковых фракций; определение фибриногена; определение холестерина в сыворотке крови; определение С-реактивного белка; определение сиаловых кислот в сыворотке крови; определение билирубина и уробилина в моче; исследование кала (копрограмма); определение чувствительности микробов к антибиотикам.

При выполнении практически каждого из этих исследований получают несколько показателей, характеризующих состояние организма. При сложных диагнозах число исследований может быть существенно расширено.

Характеристика и особенности проб окружающей среды

В группу объектов, поступающих на исследование из внешней окружающей среды, включаются вещества, которые *участвуют в метаболических процессах организма или определяют среду обитания живых объектов и с которыми постоянно приходится соприкасаться живым объектам в процессе своей жизнедеятельности.*

В этой группе можно выделить две подгруппы. В *первую подгруппу* входят *вещества, необходимые человеку для нормального существования*, – прежде всего воздух как окислитель для метаболических процессов, вода и продукты питания, переработка которых обеспечивает организм энергией и стройматериалами. *Вторую подгруппу* составляют *вещества, определяющие среду обитания организма.* Это атмосферный воздух и вода, почва, другие макро- и микроорганизмы, которые живут в этой же среде и, следовательно, могут входить в контакт с организмом человека, отходы жизнедеятельности живых систем и продукты промышленных производств, попадающие в воздух, воду и почву. Соприкосновение с этими составляющими не всегда безвредно для организма человека. Кроме того, в условиях нарастания экологического кризиса основные компоненты окружающей среды поступают в организм одновременно с большим количеством самых разнообразных примесей, наличие которых может представлять для него серьезную опасность. В связи с этим в медицинской практике появилось новое направление исследований, определяемое как *медико-экологические исследования.*

Атмосферный воздух как объект анализа

Атмосферный воздух представляет собой газовый компонент окружающей среды. Более 99,9% сухого чистого атмосферного воздуха состоит из азота, кислорода и аргона и лишь около 0,1% приходится на долю оксида углерода, криптона, неона, гелия, ксенона и водорода. Но даже в чистом воздухе содержатся следовые количества (до 0,25 мг/м³) оксида углерода, озона, оксидов азота и аммиака, а также 0,5–1,5 мг/м³ водорода и метана. Присутствие небольших количеств этих газов объясняется существованием свободного озона в верхних слоях атмосферы, а также процессами гниения и разложения (аммиак, метан, оксиды углерода и азота) или атмосферными явлениями (диоксид азота).

В атмосферном воздухе содержатся также твердые и жидкие компоненты. К ним относятся аэрозоли металлов, твердые частицы (пыль, песок,

сажа, вулканическая пыль и аэрозоли органической – высокомолекулярные соединения – и неорганической природы) с диаметром 0,001–100 мкм, радиоактивные вещества. Вещества, изменяющие естественный состав атмосферы и попадающие в воздух из источников антропогенного происхождения, считаются загрязнителями. К ним относятся и некоторые газовые компоненты, отсутствующие в чистом воздухе: окислы серы (SO_2 , SO_3 , сероводород); окислы азота (NO , NO_2 , аммиак), окислы углерода (CO , CO_2); фтористый и хлористый водород.

Источники промышленных загрязнений. Основными источниками промышленных загрязнений воздуха являются:

- тепловые электростанции, работающие на каменном угле и выбрасывающие в атмосферу сажу, золу и диоксид серы;
- металлургические заводы, выбросы которых содержат сажу, пыль, оксид железа, диоксид серы, фториды;
- цементные заводы, выделяющие огромное количество пыли;
- крупные предприятия по производству продуктов неорганической химии (диоксид серы, фтороводород, оксиды азота, хлор, озон);
- заводы по производству целлюлозы, очистке нефти (азообразные отходы – одоранты);
- предприятия нефтехимии служат источником поступления углеводородов и органических соединений других классов, таких, как амины, меркаптаны, сульфиды, альдегиды, кетоны, спирты, кислоты и др.;
- отработанные газы автомобилей, а также процессы испарения топлива (оксид углерода, газообразные углеводороды и не изменившиеся составные части топлива, высококипящие полициклические ароматические углеводороды и сажа, продукты неполного окисления топлива, например, альдегиды, галогенуглеводороды, тяжелые металлы и оксиды азота, образованию которых способствуют процессы, происходящие при сгорании топлива);
- лесные пожары, в результате которых в воздух выделяется значительное количество углеводородов и оксидов углерода.

Предельно допустимые концентрации химических загрязнителей. Содержание химических загрязнителей в окружающей среде в СССР начали контролировать в 1925 г., когда определили первые значения ПДК для воздушной среды рабочей зоны. В 1949 г. В.А. Рязановым были сформулированы основные принципы гигиенического нормирования атмосферных загрязнителей.

1. Допустимой может быть признана только такая концентрация того или иного вещества в атмосферном воздухе, которая не оказывает на человека прямого или косвенного вредного или неблагоприятного действия, не снижает его работоспособности, не влияет на его самочувствие и настроение.

2. Привыкание к вредным веществам должно рассматриваться как неблагоприятный момент и недопустимость использования применяемой концентрации.
3. Недопустимыми являются такие концентрации химических примесей воздуха, которые неблагоприятно влияют на растительность, климат местности, прозрачность атмосферы и бытовые условия жизни населения.

При научном обосновании ПДК вредных веществ основываются на представлении о наличии порогов в их действии и используют принцип лимитирующего показателя (нормирование по наиболее чувствительному показателю). Так, если запах ощущается при концентрациях, которые не оказывают вредного влияния на организм человека и внешнюю среду, нормирование осуществляется с учетом порога обоняния. Если вещество оказывает на окружающую среду вредное действие в меньших концентрациях, чем влияющие на организм человека, то при гигиеническом нормировании исходят из порога действия этого вещества на внешнюю среду.

Нормирование содержания вредных веществ. Нормирование содержания вредных веществ проводится на двух уровнях – максимально допустимом (ПДКм.р.) и среднесуточном (ПДКс.с.). Промежуточные значения имеет ПДКр.з.

ПДКм.р. – максимальная разовая концентрация вредных веществ в воздухе населенных мест, мг/м³. Эта концентрация не должна вызывать в течение 30 минут рефлекторных (в том числе субсенсорных) реакций в организме человека.

ПДКс.с. – среднесуточная предельно допустимая концентрация вредных веществ в воздухе населенных мест, мг/м³. Эта концентрация вредных веществ не должна оказывать на человека прямого или косвенного воздействия в условиях неопределенного долгого круглосуточного вдыхания.

ПДКр.з. – предельно допустимая концентрация вредных веществ в воздухе рабочей зоны, мг/м³. Эта концентрация не должна вызывать у работающего при ежедневном вдыхании в пределах 8 часов в течение всего рабочего стажа заболеваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследования непосредственно в процессе работы или в отдаленные сроки.

Как следует из приведенных выше определений различных ПДК, концентрация одного и того же вредного вещества может заметно меняться, являясь минимальной для ПДКс.с. и максимальной для ПДКм.р. Кроме этого, в самом определении ПДК заложена идея их изменения, поскольку совершенствование методов диагностики заболеваний позволяет фиксировать отклонения в здоровье человека на принципиально новом уровне.

Типы загрязнителей. В зависимости от источника и механизма образования различают первичные и вторичные загрязнители воздуха.

Первичные загрязнители представляют собой вещества, попадающие в воздух непосредственно из стационарных или подвижных источников, в то время как *вторичные* образуются в результате взаимодействий в атмосфере первичных загрязнителей между собой и с присутствующими в воздухе веществами (кислород, озон, аммиак, вода) под действием ультрафиолетового излучения.

Большая часть присутствующих в воздухе твердых частиц и аэрозолей являются вторичными загрязнителями, которые часто оказываются гораздо токсичнее первичных. Выхлопные газы состоят из различных веществ и могут под действием солнечной радиации вступать в атмосфере в фотохимические реакции, приводящие к образованию токсичного смога.

Более подробно остановимся на тех загрязнителях, которые представляют наибольшую опасность для здоровья человека.

Критериальные загрязнители. Все так называемые *критериальные загрязнители* (для которых вводится критерий ПДК) – оксид углерода, диоксид серы, оксиды азота, углеводороды, твердые частицы и фотохимические оксиданты – считаются первичными загрязнителями атмосферы. Из них диоксид серы – главный и наиболее опасный для животных и растений загрязнитель воздуха, участвующий в образовании фотохимического смога. Чрезвычайно опасным газообразным загрязнителем воздуха является также оксид углерода, токсичность которого обусловлена реакцией с гемоглобином крови. Большую опасность представляют газы и пары органических веществ и тяжелые металлы (свинец, кадмий, бериллий и др.). Полициклические ароматические углеводороды могут быть как первичными, так и вторичными загрязнителями атмосферы и обычно адсорбируются на твердых частицах. Многие из этих веществ отличаются выраженным канцерогенным и мутагенным действием и представляют серьезную угрозу для человека. Следовые количества химических элементов представлены в атмосфере такими высокотоксичными загрязнителями, как мышьяк, бериллий, кадмий, свинец, магний и хром (обычно присутствуют в воздухе в виде неорганических солей, адсорбированных на твердых частицах). Около 60 металлов присутствуют в продуктах сгорания угля и дымовых газах ТЭС. Ежегодно в воздушный бассейн попадает огромное количество свинца. Очень токсичны металлическая ртуть и свинец, а также их металлоорганические соединения.

Скапливаясь в атмосфере, загрязнители взаимодействуют друг с другом, гидролизуются и окисляются под действием влаги и кислорода, а также изменяют свой состав под воздействием радиации (поэтому продолжительность пребывания токсичных примесей в атмосфере связана с их химическими свойствами). Большую опасность представляют также смеси различных загрязнителей, концентрация отдельных компонентов в которых ниже ПДК. Вместе такие смеси могут представлять значительную угрозу всему живому вследствие кумулятивного эффекта. Велика продолжи-

тельность пребывания в воздухе малоактивных соединений – постоянных газов (фреоны и диоксид углерода). Из пестицидов, которые распыляют с самолетов, особенно токсичны фосфорорганические пестициды, при фотолитическом разложении которых в атмосфере образуются продукты еще более токсичные, чем исходные соединения.

Так называемые абразивные частицы, к которым относятся диоксид кремния и асбесты, при респираторном проникновении в организм вызывают серьезные заболевания. Сульфаты, нитраты и другие соединения из последней группы являются продуктами реакций первичных загрязнителей атмосферы. Например, нитрозамины, обладающие выраженной канцерогенной активностью, образуются в атмосфере при взаимодействии аминов с оксидами азота. К потенциальным канцерогенам относятся и хлорбифенилы, которые обычно добавляют к пестицидам для усиления действия ядохимикатов.

Классификация вредных веществ. Вредные вещества систематизируются по степени токсичности (опасности) на четыре группы:

- чрезвычайно опасные (ЧО);
- высокоопасные (ВО);
- умеренно опасные (УО);
- малоопасные (МО).

Деление может проводиться либо по абсолютным значениям ПДКр.з, либо на основе определения соотношений ПДКр.з./ПДКс.с. или ПДКр.з./ПДКм.р.

К ЧО относятся вредные вещества с $\text{ПДКр.з.} < 0,1 \text{ мг/м}^3$; $\text{ПДКр.з./ПДКс.с.} = 10$ и $\text{ПДКр.з./ПДКм.р.} = 8$. Для всех других классов ПДКр.з. увеличиваются в 10 раз при переходе к следующему классу (ВО – $0,1-1 \text{ мг/м}^3$; УО – $1-10 \text{ мг/м}^3$; МО – $>10 \text{ мг/м}^3$), а отношение ПДК возрастает (ВО – 46 и 25; УО – 84 и 36; МО – 240 и 130). Поскольку контроль за содержанием всех возможных вредных веществ невозможен, да и не нужен, в каждом регионе (области, городе) составляется свой перечень анализируемых вредных веществ, определяемый особенностями имеющихся предприятий. Существует, однако, перечень соединений, подлежащих определению везде и всегда: бенз[а]пирен, диоксины, хлорированные бифенилы, полиароматические углеводороды и т.д.

Особенности анализа воздуха. Загрязненный воздух (т.е. часть окружающей среды, из которой берется проба) в большинстве случаев может быть охарактеризован как *нестационарная, негомогенная, многофазная и многокомпонентная* система. Сложность анализа примесей в атмосфере состоит в том, что, попадая в воздух, загрязнители сейчас же *разбавляются*. При этом газы растворяются, жидкости конденсируются, а твердые частицы образуют суспензию в воздухе. На определенном расстоянии от источника эмиссии загрязнители попадают в атмосферные потоки и могут передвигаться на большие расстояния. При этом они переносятся к акцеп-

торам (например, к твердым телам или водной поверхности) за счет седиментации, диффузии или под действием дождевых капель. Степень такой эмиссии сильно зависит от расстояния до источника загрязнения, его интенсивности, топографии местности и локальных метеоусловий. Необходимо отметить, что определяемые концентрации довольно значительно изменяются во времени и пространстве, в зависимости от типа и интенсивности источника эмиссии, химических процессов в атмосфере, метеорологических и топографических факторов.

Задачи аналитического контроля атмосферных загрязнителей в значительной мере зависят от наличия всех вышеперечисленных процессов. При этом необходимо контролировать *эмиссионные источники*, из которых загрязнители попадают в воздух, *эмиссию*, *фоновый* и *чистый* воздух.

К кругу этих задач относится также и контроль степени загрязнения воздуха на рабочем месте (внутри производственных помещений). Это означает, что в аналитических лабораториях окружающей среды необходимо определять концентрацию вредных веществ в воздухе в интервале от миллиграмма на метр³ до нанограмма на метр³. Причем проба воздуха, необходимая для такого анализа, должна быть внесена внутрь аналитической системы с возможно меньшими изменениями в физическом состоянии и химическом составе.

Для определения вредных веществ в воздухе могут быть рекомендованы самые разные методы, выбор которых определяется природой анализируемого вещества и его концентрацией. Если предполагаемое соединение присутствует в количестве менее 5%, говорят об анализе примесей, менее 10⁻²% – об определении следов веществ.

Если необходим длительный контроль за содержанием какого-либо вещества в данной географической точке, удобно использовать интегрирующие методы. В их основе, как правило, лежат химические процессы. Так, если изучается динамика изменения содержания диоксида серы SO₂ в атмосфере в течение 4–6 месяцев, в выбранной точке моделируют «природный объект» (например, куст) из ткани, пропитанной Ba(OH)₂. При наличии в воздушных потоках, перемещающихся в данной местности, SO₂ он взаимодействует с гидроксидом с образованием BaSO₃, масса которого может быть определена после озоления «псевдокуста». Знание метеорологических характеристик (скорость перемещения масс, их объем и т.д.) позволит рассчитать содержание SO₂.

Природная вода как объект анализа

Вода представляет пример жидкой части окружающей среды. Вода является одним из самых ценных природных ресурсов нашей планеты, без нее невозможно существование человечества.

Растущая озабоченность относительно качества природных, питьевых вод, вод хозяйственного назначения, безопасности сточных вод привела различные международные организации (Европейское сообщество, Агентство по охране окружающей среды США) и объединенные регулирующие органы к необходимости составления перечня приоритетных загрязнителей и выработки соответствующих правил для их контроля.

Список приоритетных загрязнителей, принятый Европейским сообществом (ЕС) в 1982 г., насчитывает 129 веществ. Столько же веществ входит в аналогичный перечень, принятый Агентством по охране окружающей среды США. Позднее к списку ЕС были добавлены еще три вещества.

В обоих «черных списках» можно выделить следующие основные группы веществ:

- неорганические соединения;
- летучие органические соединения;
- органические соединения средней летучести;
- полициклические ароматические углеводороды;
- пестициды, гербициды и бифенилы;
- фенолы;
- анилины и нитроароматические соединения;
- бензидины;
- оловоорганические соединения;
- другие соединения.

Виды загрязнений воды можно разделить на три основные группы.

1. *Химические загрязнения*. В результате сброса неочищенных сточных вод предприятиями, коммунальными и сельскохозяйственными объектами происходит изменение естественных свойств воды за счет увеличения вредных примесей неорганической и органической природы. К *неорганическим примесям* относят тяжелые металлы, кислоты, щелочи, минеральные соли и удобрения с биогенными элементами (азот, фосфор, углерод, кремний). Среди *органических примесей* выделяют легко окисляемые (органические вещества сточных вод пищевых предприятий и другие биологически мягкие вещества) и трудноокисляемые и поэтому трудно выводимые из воды (нефть и продукты ее переработки, органические остатки, БАВ, пестициды и др.).

2. *Физические загрязнения*. Изменение физических параметров воды возможно в результате попадания в нее примесей трех типов: *механических* (твердые нерастворимые частицы: песок, глина, шлак, рудные включения); *тепловых* (сброс подогретых вод ТЭС, АЭС и промышленных предприятий); *радиоактивных* (продукция предприятий по добыче радиоактивного сырья, обогатительные фабрики, АЭС и т.д.). Влияние механических и радиоактивных примесей на качество воды понятно, а тепловые примеси могут привести к экзотермическим химическим реакциям компонентов, растворенных или

взвешенных в воде, и синтезу еще более опасных веществ.

3. *Биологические загрязнения.* Изменение свойств воды происходит в результате увеличения количества микроорганизмов, растений и животных из внешних источников: бактерий, водорослей, грибов, червей и др. (сброс бытовых сточных вод и отходов некоторых предприятий). Их жизнедеятельность могут сильно активизировать физические загрязнения (особенно тепловые).

Для выявления загрязнений разрешено использовать любой метод, чувствительность которого позволяет определять загрязнители на уровне предельно допустимых концентраций.

ОТБОР ПРОБ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ ОРГАНИЗМА И ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Отбор проб внутренней среды организма

При *отборе биопроб* для медицинского исследования необходимо использовать специально оговоренные в методиках устройства и оборудовании, а также по возможности соблюдать следующие *требования*:

- сохранять необходимый уровень стерильности;
- устранять негативные психологические последствия у пациента;
- сводить к минимуму влияния субъективных оценок (это зависит от квалификации персонала);
- учитывать дополнительные факторы, которые могут повлиять на результаты анализа (использованная ранее лекарственная терапия, назначение диеты, положение пациента в момент отбора пробы и др.)
- если исследование проводится не сразу после отбора биопробы, при ее хранении (доставке) обеспечить определенные условия по температуре, влажности, давлению, герметичности контейнеров для хранения, а при необходимости провести ее консервацию.

В качестве примера рассмотрим особенности выполнения операций доаналитического этапа при отборе и приготовлении биопроб из периферической крови, которые чаще других биожидкостей участвуют в проведении клинического анализа. Общий клинический анализ периферической крови является одним из важнейших лабораторных тестов и иногда дает возможность сразу определить направление диагностического поиска.

Кровь представляет собой биожидкость сложного состава – плазму, в которой суспензированы форменные элементы: эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. При коагуляции крови после отделения сгустка остается жидкость, которая называется сывороткой. В периферической крови в норме содержатся зрелые клеточные элементы, а незрелые их предшественники находятся в органе кроветворения – красном костном мозге.

Эритроциты выполняют функцию переноса кислорода; лейкоциты выполняют защитные функции от проникновения в организм чужеродных белков, способных вызвать инфекционные заболевания; тромбоциты способствуют свертываемости крови. При патологических состояниях организма нарушается соотношение между этими клетками, а также изменяются их свойства, что приводит к нарушениям в выполнении их функций.

Исследование крови рекомендуется проводить *утром* натощак. Не рекомендуется брать кровь после физической и умственной нагрузки, применения медикаментов, воздействия рентгеновских лучей и после физиотерапевтических процедур.

Капиллярную кровь берут путем прокола соответствующего участка кожи на глубину 3–4 мм. Перед проколом кожу обрабатывают 70% этиловым спиртом или другим антисептическим раствором, дают ей высохнуть и затем прокалывают. Первую каплю обязательно снимают ватным тампоном, а затем, осторожно выдавливая кровь из прокола, вводят ее в капиллярную трубку. В зависимости от дальнейшей процедуры приготовления ИВ_{БП}, которая четко определена для каждого конкретного компонента или исследуемого показателя (числа эритроцитов и лейкоцитов, концентрации гемоглобина, скорости оседания эритроцитов и т.п.), подготовка отобранной крови происходит по-разному.

Иначе протекает процедура подготовки биологической пробы из венозной крови. Для отбора венозной крови используется прокол вены и сбор крови в пробирку или специальный контейнер. На этом этапе необходимо учитывать возможные ошибки, которые впоследствии могут исказить результат – неправильное соотношение антикоагулянтов и отбираемой крови, замена одних реагентов близкими, но не идентичными по действию и др. Для обеспечения герметичности контейнера с кровью может быть использована фольга с резиновой вставкой, резиновая пробка, винтовая крышка с резиновой прокладкой.

Следует обратить внимание на обеспечение безопасности отбора пробы как для пациента, так и для обслуживающего медицинского персонала, с целью исключения возможного инфицирования.

Поэтому приемы взятия крови постоянно совершенствуются и в последнее время широкое распространение получили так называемые закрытые системы, которые основаны на вакуумном способе взятия пробы, исключающем контакт специалиста с кровью и обеспечивающем максимальную защиту пациента. Однако и этот способ обладает рядом очень существенных ограничений. Сюда можно отнести слепое вхождение в участок организма, из которого берется кровь, опасность спадания вен со слабыми стенками, довольно травматичная, в первую очередь для клеток крови, процедура резкого перепада давления при поступлении образца в пробирку.

При подготовке биопроб используются разнообразные приемы и технические средства. Например, при подготовке среза биоткани (напри-

мер, в методах биопсии), биосубстрат в виде небольшого кусочка биоткани (размером не более нескольких мм³), вырезанного с помощью специального режущего инструмента из организма, помещают в парафиновую оболочку и замораживают. Затем с помощью микротомы этот кусочек разделяют на отдельные срезы толщины в несколько мкм, помещают на предметное стекло, окрашивают, высушивают и покрывают сверху пластинкой из тонкого оптически чистого стекла. В таком виде препарат может храниться продолжительное время.

Сложность приготовления биопроб характерна для многих методов исследования. Типовые методики выполнения этих процедур для каждого типа клинического или амбулаторного исследования описаны в специальных справочниках, при этом, как правило, приводятся последовательность и режимы всех операций, которые обеспечивают качество подготовки биопробы к дальнейшему анализу. Существуют и нетиповые методики, применяемые для нестандартных исследований в научной практике или принятые в конкретных организациях при выполнении типовых исследований.

Конечно, далеко не для всех биосубстратов необходимы сложные процедуры подготовки биопробы на доаналитическом этапе, для многих из них операции значительно проще, что и объясняет широкое применение этих биопроб на практике.

Отбор проб окружающей среды

Для *отбора проб окружающей среды* разработаны специальные правила, описывающие последовательности операций по приготовлению биопроб из атмосферного воздуха и водных сред, а также по подготовке исследовательского материала при формировании биопроб из почвы. Способ отбора любой биопробы прежде всего определяется физическими и химическими свойствами исходного биосубстрата. При отборе биопробы нужно учитывать следующие обстоятельства:

- *агрегатное состояние* исследуемого биосубстрата;
- *неоднородность биосубстрата* (чем однороднее биоматериал, тем проще отобрать биопробу);
- *размер частиц*, с которых начинается неоднородность;
- *требуемую точность оценки* содержания компонента в зависимости от задачи анализа и природы исследуемой среды.

Одним из факторов, который также нужно учитывать при выборе способа, с помощью которого будет взята биопроба, является возможность изменения состава и содержания определяемого компонента во времени (например, колебания состава дымовых газов промышленного предприятия) и в пространстве исследуемой среды. Остановимся подробнее на особенностях отбора биопроб из биосубстратов различного типа.

Отбор пробы воздуха. Степень однородности газов велика: неоднородность наблюдается на молекулярном уровне. Смеси газов гомогенны, поэтому отбираемая биопроба может быть относительно небольшой. Биопробу обычно отбирают, измеряя объем газа при помощи *вакуумной мерной колбы* или *бюретки* с соответствующей запорной жидкостью, часто также используется способ конденсирования газа в ловушках разного типа при низких температурах.

В замкнутом пространстве (например, цех предприятия) газовые биопробы отбирают в разных его точках и в зависимости от решаемой задачи либо смешивают объемы, либо каждую биопробу анализируют независимо. При отборе биопробы из потока газа обычно используют *метод продольных струй* и *метод поперечных сечений*. Первый метод (используется в том случае, когда состав газа вдоль потока не меняется) предполагает, что поток газа направляют в трубу и специальными отведениями делят на ряд струй по его длине, затем биопробы отбирают в струях через одну. В методе поперечных сечений (если состав газа вдоль потока меняется) поток также направляют в трубу и отбирают биопробы через определенные расстояния (через специальные отверстия в трубах) вдоль потока.

Чаще всего отбор пробы воздуха и его анализ представляют собой две разные операции. Пробу воздуха можно отбирать с одновременным накоплением анализируемого компонента или без накопления. Воздух для анализа отбирают:

- в баллоны (создавая в них избыточное давление);
- в газовые пипетки различного объема;
- в стеклянные сосуды, пробки которых снабжены специальным устройством – мешочком из инертного материала, не адсорбирующего на своей поверхности анализируемое вещество, позволяющим вытеснить газ при отборе пробы;
- в систему сообщающихся сосудов, предварительно заполненных раствором, практически не поглощающим анализируемую смесь.

Такой отбор пробы применим лишь в тех случаях, когда концентрация анализируемого вредного вещества достаточно велика. Если же требуется проводить анализ на уровне ПДКс.с., отбор пробы совмещают с центрированием определяемых компонентов.

Накопление компонентов на месте отбора пробы можно проводить:

- вымораживанием (при этом ловушка охлаждается, например, твердым CO_2 , жидким азотом и т.д., а через нее пропускают определенный объем пробы);
- адсорбцией (отделяя примеси или концентрируя их на патроне с адсорбентом);
- абсорбцией (поглощая отдельные компоненты или всю анализируемую смесь специально подобранной жидкостью).

Выбор варианта накопления компонентов пробы будет определяться их концентрацией и особенностями используемого в дальнейшем метода анализа.

Процесс накопления компонентов может быть совмещен с его обнаружением (например, при использовании *индикаторных трубок*). Индикаторными трубками на уровне ПДКр.з. могут быть обнаружены H_2S , SO_2 , фосген, HCN , ртуть.

При наличии в пробе этих веществ при концентрациях, равных ПДКр.з. или превышающих их, наблюдается появление у трубки окраски. Метод не очень удобен, так как интенсивность окраски будет зависеть от скорости движения пробы через трубку, а количественное определение просто невозможно. Бесспорным достоинством индикаторной трубки является простота ее изготовления, что позволяет быстро и при наличии минимальных навыков у работающего получить инструмент для анализа.

Отбор пробы воды. Отбор пробы воды является важной частью ее анализа, необходимым условием получения правильных результатов. Ошибки, возникающие из-за неправильного отбора проб, в дальнейшем исправить невозможно.

Условия, которые следует соблюдать при отборе проб, настолько разнообразны, что нельзя дать подробных рекомендаций для всех случаев в соответствии со всеми требованиями. Основные принципы, которые необходимо соблюдать при отборе проб, состоят в следующем:

- проба воды должна отражать условия и место ее отбора;
- отбор, хранение, транспортировка и работа с пробой должны проводиться так, чтобы не произошло изменений в содержании определяемых компонентов или в свойствах воды;
- объем пробы должен быть достаточным и должен соответствовать применяемой методике анализа.

Способы отбора гомогенных и гетерогенных жидкостей различны. *Гомогенные жидкости* отличаются высокой степенью однородности, поэтому, как и для газов, способы отбора проб в этом случае относительно просты. Смеси таких жидкостей, как правило, гомогенны и хорошо перемешиваются. Такие пробы отбирают при помощи пипеток, бюреток, мерных колб. Отбор пробы жидкости *из замкнутого объема* проводят после ее тщательного перемешивания. Отбор биопробы гомогенной жидкости *из потока* производят через определенные интервалы времени и в разных местах. Для отбора биопроб *на разной глубине* используют специальные пробоотборные устройства – батометры, основной частью которых является цилиндрический сосуд вместимостью 1–3 л, снабженный сверху и снизу крышками. После погружения в жидкость на заданную глубину крышки цилиндра закрывают, и сосуд с пробой поднимают на поверхность.

Место и время отбора выбирают в зависимости от решаемой задачи. Например, при анализе сточных вод необходимо согласовывать время и

место отбора с технологическим процессом. Существуют также правила, регламентирующие место и время отбора природных вод в естественных водоемах, а также условия использования биопроб. Например, биопробы природной воды для получения достоверных результатов необходимо анализировать в течение 1–2 ч после отбора.

Биопробы *гетерогенных жидкостей* отбирают не только по объему, но и по *массе*. При этом в одних случаях жидкость гомогенизируют, в других, наоборот, добиваются ее полного расслоения. Если гомогенизировать жидкость невозможно, то ее расслаивают и отбирают биопробу каждой фазы, используя при этом специальные пробоотборники с большим числом забирающих камер.

Место для отбора пробы выбирают в соответствии с целями анализа и с учетом всех обстоятельств, которые могли бы оказать влияние на состав взятой пробы. Так, при отборе проб *поверхностных и подземных вод* необходимо внимательно обследовать все источники поступления воды в водоем, выявить возможные источники загрязнения водоема. Место для отбора проб *сточных вод* выбирают только после подробного ознакомления с технологией производства, расположением цехов, системой канализации, назначением и работой отдельных элементов станции очистки и т.д.

В соответствии с целями анализа проводят *разовый* или *серийный* отбор проб. При разовом отборе пробу берут один раз в определенном месте и рассматривают результаты одного анализа. Этот способ применяется в редких случаях, когда результатов единичного анализа достаточно для суждения о качестве исследуемой воды (например, при постоянстве состава воды, как это наблюдается для глубинных грунтовых вод). В большинстве случаев состав воды изменяется в зависимости от места и времени отбора пробы, в этих случаях проводят серийный отбор проб. При анализе серии взятых проб определяется изменение содержания отдельных компонентов с учетом места, времени отбора или обоих этих факторов. Полученные результаты обрабатываются статистически.

Типичным примером серийного отбора проб является *зональный* отбор. Пробы отбирают с различной глубины по выбранному створу водохранилища, озера, пруда и т.д. Другой распространенный тип серийного отбора проб – *отбор через определенные промежутки времени*. Позволяющий следить за изменением качества воды во времени или же в зависимости от ее расхода. При этом можно получить сведения о сезонных или дневных изменениях качества воды.

Различают два основных вида проб: *простую и смешанную*. Простую пробу получают путем однократного отбора всего требуемого количества воды. Анализ простой пробы дает сведения о составе воды в данный момент в данном месте. Смешанную пробу получают, сливая простые пробы, взятые в одном и том же месте через определенные промежутки времени или отобранные одновременно в различных местах обследуемого объекта. Эта проба ха-

рактирует средний состав воды исследуемого объекта или средний состав за определенный период времени (за час, смену, день и т.д.), или, наконец, средний состав с учетом как места, так и времени. Смешанную пробу нельзя отбирать за период больше одних суток. При необходимости более длительного хранения пробу консервируют. Смешанную пробу нельзя использовать для определения тех компонентов и характеристик воды, которые легко изменяются со временем (растворенные газы, рН и т.д.). Эти определения проводят в каждой составляющей пробы отдельно.

Количество пробы, которое необходимо отобрать, зависит от числа определяемых компонентов. Чаще всего, это 1–2 л воды.

В качестве *сосудов* для отбора и хранения проб обычно используют бутылки из химически стойкого стекла. Закрывают их резиновыми или стеклянными притертыми пробками. В специальных случаях используют полиэтиленовые бутылки или термосы. Посуда должна быть тщательно вымыта, обезжирена и высушена.

После отбора проб делается *запись*, в которой указывают вид и происхождение воды, точное место, день и час отбора, способ консервирования.

Консервирование проб воды. Если анализ воды проводится не на месте отбора пробы или не в тот же день в лаборатории, то пробу консервируют. Необходимость консервирования обусловлена тем, что некоторые характеристики воды при хранении изменяются (температура, рН, содержание различных газов; некоторые вещества могут выпасть в осадок, другие, наоборот, раствориться и т.д.). В неконсервированной пробе могут также протекать различные биохимические процессы, вызванные деятельностью микроорганизмов или планктона. Универсального консервирующего средства не существует. Для полного анализа воды следует отобрать пробу в несколько бутылок, в которые добавляют различные консервирующие вещества. Пробы для определения всех видов связанного азота, окисляемости, пиридина консервируют, прибавляя к ним серную кислоту, при определении взвешенных частиц и сухого остатка добавляют к пробам хлороформ, для определения фенолов – пробы подщелачивают и т.д. Довольно затруднительным является консервирование сточных вод, особенно при наличии в пробе нерастворимых веществ, т.к. консервирующее вещество может оказать мешающее действие. Консервирование сточных вод химическими реагентами проводят лишь в тех случаях, когда консервирующий реагент не мешает определению компонентов анализируемой воды и если невозможно провести определение сразу после отбора проб.

Отбор пробы твердых веществ. При формировании биопробы из твердых биосубстратов (почва) прежде всего возникает вопрос о ее размере, который должен обеспечивать ее представительность. Оптимальная масса биопробы обусловлена неоднородностью анализируемого объекта окружающей среды, размером частиц, с которых начинается неоднородность, и требованиями к точности анализа. Зависимость массы представительной биопробы от степени неоднородности ее частиц определена в спе-

циальных руководствах. При формировании биопроб из твердых биосубстратов последние часто преобразуют в жидкофазную биопробу, готовую для применения аналитических методов. Для этого используют специальные технологические приемы: подготовка растворов, взвесей, коллоидов, паст и других жидкообразных сред.

Пробоподготовка объектов внутренней среды организма и окружающей среды

Пробоподготовка пробы воды. Подготовка пробы обычно является обязательной стадией в анализе воды. Лишь в исключительных случаях удается избежать этого и использовать прямой ввод пробы (например, при определении в питьевой воде тригалометанов методом капиллярной газовой хроматографии с электронно-захватным детектором или полиядерных ароматических углеводородов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием).

Слишком разбавленные или сложные по составу образцы приходится подвергать ряду специфических процедур, чтобы сделать возможным их исследование на имеющейся аналитической аппаратуре и достичь эффективного разделения и детектирования. Подготовка пробы может ограничиваться только концентрированием исходного образца, а может включать также и фракционирование содержащихся в пробе компонентов. Для концентрирования пробы и разделения ее на фракции могут применяться выпаривание, отгонка, дистилляция, вымораживание, осаждение и соосаждение, экстракция, сорбция, хроматография и другие методы.

Выпаривание воды является самым простым и доступным способом концентрирования. Концентрации растворенных веществ можно увеличить при этом в 10–1000 раз. Однако метод не лишен довольно существенных недостатков:

- при выпаривании концентрируются не только определяемые в воде микрокомпоненты, но и макрокомпоненты, которые при высоких концентрациях обычно мешают определению;
- при значительном концентрировании выпариванием нередко выпадают осадки, отделение которых фильтрованием может привести к потере определяемых компонентов проб;
- если определяемые вещества летучи, то при выпаривании может произойти частичное или даже полное удаление их из пробы;
- при выпаривании возможно загрязнение пробы веществами, извлекаемыми из материала посуды.

Значительно эффективнее можно использовать выпаривание после экстракции (выпаривание экстрагента). Увеличение концентрации определяемого вещества в этом случае будет равно произведению результатов обоих процессов – экстракции и выпаривания. Кроме того, при этом отделяются все неэкстрагируемые примеси.

Методом *отгонки* микрокомпонентов (при атмосферном давлении или в вакууме) концентрируют летучие вещества (аммиак, летучие фенолы, летучие кислоты и др.), а также неопределяемые компоненты, которые можно превратить в летучие вещества (например, фтор в виде SiF_4 , цианиды в виде HCN). При отгонке следует всегда учитывать возможность разложения отделяемого соединения и неполноту его отгонки.

Концентрирование примесей *вымораживанием* основано на том, что при замерзании части водного раствора растворенные компоненты остаются в жидкой фазе. Этот метод применяют для концентрирования веществ, обладающих достаточной растворимостью в воде при низких температурах, и в особенности гидрофильных веществ, трудно извлекаемых из воды другими методами. К преимуществам метода относятся:

- незначительные потери летучих соединений;
- отсутствие загрязнения применяемыми реактивами;
- значительно меньшая опасность изменения компонентного состава исследуемой воды вследствие протекания каких-либо превращений определяемых веществ.

Основными факторами, определяющими эффективность процесса вымораживания, являются *скорость нарастания льда, возможность отвода веществ* из зоны раствора, прилегающей к намерзающему льду, и *структура* получаемого льда.

Возможны различные варианты проведения процесса, из которых чаще всего используют следующие:

- в простейшем случае анализируемую воду помещают в конусообразный сосуд, расширяющийся кверху. Вымораживают основную массу воды в морозильной камере при температуре -12°C или в бане с охлаждающей смесью. Способ очень прост, однако здесь практически нет возможности влиять на параметры, определяющие эффективность процесса;
- *по Бейкеру*, исследуемую воду помещают в круглодонную колбу, емкость которой должна в 4–5 раз превышать объем пробы. Колбу с пробой погружают под углом 60° в охлаждающую смесь с температурой -12°C и вращают с частотой 80 оборотов/мин. При необходимости можно варьировать температуру вымораживания и частоту вращения, влияя таким образом на скорость намерзания льда и быстроту отделения от поверхности льда слоя воды, более концентрированного, чем остальной раствор. Вымораживание по Бейкеру проводят до замерзания приблизительно 9/10 раствора. Хладоагентами могут быть солевой раствор, фенолы, жидкий аммиак и др.;
- оригинальным вариантом вымораживания является так называемый *метод направленной кристаллизации*. Он осуществляется на специальной установке, обеспечивающей постепенное погружение пробирок с исследуемой водой в охлаждающую смесь при постоянном и достаточно интенсивном перемешивании жидкой фазы около границы лед-вода.

Нарастание кристалла льда здесь происходит снизу вверх. Метод позволяет максимально варьировать условия эксперимента и влиять таким образом на эффективность процесса.

Существенным ограничением метода вымораживания является резкое падение эффективности при анализе систем с высоким солевым фоном. При этом получают только 10–12-кратное обогащение. Уменьшение эффективности концентрирования наблюдается при этом в явной мере для всех компонентов раствора. Оно связано с нарушением структуры льда и захватом уже сконцентрированной фазы намерзающими кристаллами.

Соосаждение является одним из самых эффективных методов концентрирования при определении неорганических веществ. Таким способом часто выделяют очень малые (следовые) количества определяемого металла из большого объема сточной воды. Для этого вводят в достаточном количестве соль другого металла (макрокомпонент, носитель, коллектор) и осаждают этот металл подходящим реагентом. Образующийся осадок увлекает с собой и микрокомпоненты – определяемый металл. Выпавший осадок растворяют в возможно меньшем объеме необходимого растворителя и анализируют полученный концентрат. Методом соосаждения можно достигнуть повышения концентрации в десятки тысяч раз.

Одним из важнейших методов, применяемых для концентрирования неорганических и органических веществ, является *экстракция*. Наиболее часто используемая при анализе воды *жидкостно-жидкостная экстракция* может проводиться встряхиванием анализируемого образца с органическим раствором в делительной воронке или автоматически, при использовании экстрактора непрерывного действия. В зависимости от условий проведения процесса экстракты могут содержать малолетучие загрязнители средней и малой полярности (универсальная экстракция малолетучих веществ), кислоты или основания (селективная экстракция при соответствующих значениях pH).

К недостаткам метода жидкостно-жидкостной экстракции следует отнести следующие:

- процесс экстрагирования может отнимать много времени;
- зачастую используются токсичные растворители;
- разделение органической и водной фаз часто затруднено образованием устойчивой эмульсии (особенно в ручной экстракции).

Обычно объем получаемого экстракта довольно велик, поэтому в некоторых случаях (например, при использовании для анализа воды хроматографических методов) необходима дополнительная операция – выпаривание и концентрирование.

К применяемым в методе экстракции экстрагентам предъявляют следующие требования:

- экстрагент должен обладать хорошей способностью извлекать одно определяемое вещество или группу веществ;

- он должен отличаться малой растворимостью в воде;
- желательно, чтобы экстрагент имел достаточно высокую температуру кипения (не ниже 50°C);
- плотность экстрагента должна как можно больше отличаться от плотности анализируемого раствора;
- экстрагент не должен взаимодействовать с компонентами анализируемого раствора;
- он должен быть чистым и легко регенерироваться в лабораторных условиях.

При выборе наиболее подходящего экстрагента используют справочные данные по коэффициентам распределения, по растворимости соединений в воде и в различных органических растворителях. Можно также ориентироваться на химическое сродство экстрагируемого вещества и экстрагента.

В последнее время широко используется также *твердофазная экстракция*, основанная на разделении и концентрировании в результате сорбционных или ионообменных процессов. Этот способ пригоден для извлечения из воды соединений как малой и средней, так и высокой полярности (в зависимости от характеристик используемого сорбента). Пробы большого объема могут быть обработаны с использованием достаточно малых количеств твердой фазы, что в свою очередь требует малого объема растворителя для последующей десорбции сконцентрированных соединений. Это снимает необходимость дополнительного выпаривания и существенно уменьшает риск загрязнения образца. Метод является значительно более экспрессным по сравнению с классическими методами выделения и концентрирования.

В зависимости от объема пробы воды и характера анализируемого вещества процесс может быть проведен либо на картридже (патроне, заполненном сорбентом), либо на мембранных дисках. Применение высокоэффективных картриджей часто позволяет проводить полное выделение большого числа загрязнителей. Процесс легко автоматизировать.

Особенно удачным является применение метода твердофазной экстракции для выделения и концентрирования полярных веществ. Загрязнители улавливают и предварительно концентрируют на крупносетчатых пористых синтетических сорбентах, называемых *смолами*, которые затем высушивают, промывают дихлорметаном и полученный элюат используют для анализа (при необходимости концентрируют его). Элюирование растворителем иногда заменяют термической десорбцией, при этом обеспечивается наиболее высокая степень обогащения пробы. Ограничение метода связано с недостаточно высокой термической стабильностью полимерных сорбентов, что существенно сужает область его применения.

Еще одним методом выделения и одновременного концентрирования является продувка с последующим улавливанием. Этот метод используют главным образом для анализа неполярных летучих органических соединений перед их хроматографическим определением. Продуваемый через пробу воды инертный газ захватывает летучие органические соединения, которые затем улавливаются на таких адсорбентах, как тенакс или активный уголь и (или) конденсируют в криогенной ловушке. Ловушка с адсорбентом обычно встроена в десорбционную камеру, снабженную мощным нагревательным устройством, которое обеспечивает десорбцию сконцентрированных веществ. Эта методика имеет существенные достоинства, поскольку позволяет выделить «чистую» пробу из грязной воды. Устройство для стриппинга может быть легко смонтировано на газовом хроматографе с подключенными последовательно детекторами электронно-захватным, пламенно-ионизационным, фотоионизационным с десорбцией через замкнутую петлю или с масс-спектрометрическим детектированием. С помощью такой методики могут быть проанализированы загрязнители в питьевой воде при очень низких концентрациях – на уровне мкг/л или даже нг/л.

При определении летучих веществ можно использовать для целей концентрирования также *парофазный анализ*. Его применяют в двух вариантах: *статическом и динамическом*. В статическом варианте пробу воды помещают в специальный сосуд, плотно закрывают и термостатируют для того, чтобы перевести летучие компоненты в газовую фазу. Анализ полученной газовой фазы проводят с помощью метода хроматографии с использованием насадочных или капиллярных колонок. Проба отбирается после установления равновесия между газовой и жидкой фазой.

Для увеличения чувствительности применяют динамический вариант парофазного анализа. В этом случае фазовое равновесие постоянно нарушается вследствие продувки сосуда с образцом инертным газом. Выдуваемые компоненты собирают на адсорбенте (например, на тенаксе) или улавливают в криогенной ловушке и после десорбции вводят в газовый хроматограф. Статический вариант парофазного анализа позволяет определять летучие примеси на уровне мкг/мл, динамический – на уровне мкг/л. Предварительная обработка пробы (высаливание примесей сульфатом натрия или изменение рН пробы) часто увеличивает чувствительность и воспроизводимость результатов анализа.

Пробоподготовка пробы воздуха. Для анализа можно использовать газообразное состояние биопробы, но в лабораторных условиях значительно удобнее сформировать из нее биопробу в жидком состоянии. Для этого широкое распространение получил *метод барбатирования* – пропускания газа через базовую жидкость, для которой хорошо известны все ее свойства и характеристики временной стабильности ее свойств. Газ растворяется

в жидкости, и после завершения этого процесса такая биожидкость может быть подвержена анализу для изучения свойств растворенного газа.

Условия хранения биопроб

В процессе отбора и хранения биопробы возможны *потери определяемого компонента, внесение загрязнений, изменение ее химического состава*. Все это приводит к увеличению общей погрешности, к ухудшению качества лабораторного анализа. Допустимый промежуток времени между отбором биопробы и ее анализом зависит от состава биосубстрата, природы определяемых компонентов и условий хранения. Если невозможно сразу после отбора провести анализ, то биопробу консервируют и помещают на хранение. Поэтому при работе с биопробами необходимо особое внимание обращать не только на приемы отбора биосубстратов из изучаемой среды, но и на условия их хранения.

Чаще всего имеют дело со следующими причинами, приводящими к снижению качества аналитических исследований:

- потеря летучих продуктов вследствие изменения температурного режима при хранении или разогреве (особенно велики потери летучих органических соединений, определяемых в различных природных объектах);
- потери вследствие адсорбции определяемого компонента на поверхности емкостей для отбора и хранения биопробы;
- изменение состава внутри образца в процессе отбора и измельчения биопробы вследствие прохождения химических реакций (взаимодействие с компонентами атмосферы, окислительно-восстановительные реакции и др.).

В процессе отбора и хранения биопроб возможно также изменение их состава из-за загрязнения компонентами, поступающими из материала пробоотборников, различных приспособлений, емкостей для хранения, воздуха лабораторных помещений и т.д. Ввиду этого обычно биопробы хранят в посуде из особых сортов стекла или полиэтилена, а материал определяется типом анализируемого компонента.

Некоторые компоненты биологических материалов устойчивы в течение длительного времени и не требуют особых условий консервации: в этом случае используются быстрое охлаждение, изменение рН среды, в которой будет находиться биопроба, добавление стабилизирующих веществ. Иногда для сохранения определяемого компонента его экстрагируют органическими растворителями или сорбируют на различных твердых веществах. Для иных компонентов в биопробу добавляют различные консерванты (чаще всего, кислоты и вещества, образующие комплексные соединения). Для повседневной работы выпущены специальные справочники, в которых подробно описываются типы и состав консервантов, а также условия и порядок работ по консервации проб.

Хранение биопробы необходимо проводить в условиях, гарантирующих постоянство ее состава в отношении определяемых компонентов (температура, освещенность, материал посуды и т.д.). Очень важно правильно разместить контейнеры с биоматериалами в хранилище, снабдить

их этикетками с дополнительной информацией, регулярно проверять соответствие условий хранения заданным.

Контроль качества лабораторных исследований в клинико-диагностических лабораториях

Система контроля качества лабораторных исследований предназначена для *оценки качества проводимых лабораторных исследований, выявления возникающих при этом ошибок, их характера и причины, разработки способов устранения ошибок*. Проведение контроля качества должно являться неотъемлемой частью работы каждой лаборатории.

Под контролем качества работы понимают систему мер, направленных на количественную оценку точности, сходимости, воспроизводимости и правильности лабораторных исследований.

Качество выполнения лабораторных исследований во многом определяется: 1) отбором и хранением проб; 2) особенностями используемого метода; 3) тщательностью его исполнения; 4) квалификацией лаборанта; 5) техническим совершенством используемой аппаратуры; 6) чистотой реактивов и 7) точностью мерной посуды.

Контроль качества при выполнении лабораторных исследований должен проводиться на всех этапах выполнения анализа – от получения пробы до выдачи результатов и его интерпретации.

Контроль качества должен быть объективным, ежедневным, охватывать все лабораторные тесты и все области измерения, как нормальные, так и патологические результаты.

Контроль качества включает в себя следующие основные этапы:

1) *преаналитический* (взятие биологического материала, его предварительная обработка, транспортировка и хранение);

2) *аналитический* (контроль процедуры дозирования, проведения реакции, т.е. перемешивания, термостатирования, соблюдения необходимого времени реакции, измерения и др.), расчет результатов;

3) *постаналитический* (на этом этапе обращают внимание на правильность оформления результатов).

На каждом из этих этапов могут возникать ситуации, приводящие в последующем к ошибкам определения показателей лабораторных тестов.

Контроль качества работы лабораторий невозможен без предварительной оценки применяемого метода исследования.

Международной федерацией клинической химии (IFCC) выделено 4 основные группы аналитических методов.

1. *Дефинитивные (или окончательные)* – методы, признанные не имеющими источников ошибок (примером одного из них является определение кальция масс-спектрометрией с изотопным разведением). Они, как

правило, дорогостоящи, вследствие чего возникает потребность в других, более доступных клинико-лабораторной практике, способах анализа.

2. *Референтные методы I уровня* – методы, правильность которых оценивается с окончательными (дефинитивными). Выполняемые с помощью доступного оборудования, они позволяют получать результаты, статистически неотличимые от устанавливаемых с использованием дефинитивных методов (аналитическая ошибка определения составляет примерно 1%). Примером референтных методов I типа является определение Ca, Na, K, Mg и др. методом атомно-абсорбционной фотометрии.

3. *Референтные методы II уровня* – методы, имеющие такую же аналитическую ошибку, как и референтные методы I типа. Но это достигается за счет тщательного выполнения всех этапов исследования. К ним относятся ряд ферментативных методов, в частности, глюкокиназный метод определения глюкозы.

4. *Рутинные методы*. Включают в себя методы с известным отклонением (правильность которых установлена) и методы с неизвестным отклонением (правильность которых не определена). Первую подгруппу методов составляют способы исследования, характеризующиеся известным отклонением, выявленным в процессе оценки их надежности. Это в основном обычные, рекомендованные ассоциациями специалистов, а также официально утвержденные методы клинико-биохимических исследований, применяемые в повседневной практике лабораторных работ. В подгруппу методов с неизвестным отклонением включены те из способов определения, аналитические свойства которых ранее не изучались.

К критериям, характеризующим аналитическую пригодность метода, относятся: специфичность, точность, сходимость, воспроизводимость, правильность, избирательность и чувствительность.

Специфичность метода – его способность выявлять именно тот компонент, для определения которого данный способ исследования предназначен, т.е. свойство метода качественно и количественно обнаруживать одно и то же вещество. Специфичность отражает степень влияния на полученный результат веществ, отличающихся от анализируемого соединения по химической структуре.

Интерферирующие (мешающие определению) факторы весьма многообразны. На результаты выполнения диагностических тестов могут оказывать влияние как внешние факторы (прием лекарств), так и внутренние (например, нарушение физиологического состояния организма). Внешние интерферирующие факторы способны проявлять свое действие в условиях *in vivo* и *in vitro*. Так, в условиях целостного организма (*in vivo*) алкоголь способствует увеличению активности гамма-глутамилтранспептидазы.

Точность – качество измерений, отражающее близость полученных результатов содержания анализируемого вещества к его истинному значению. Критерий точности характеризуется воспроизводимостью результатов при повторном анализировании отдельных проб. Неточность есть один из показателей качества исследований, находимый путем анализирования на повторяемость достаточно большого количества лабораторных проб. Точность метода должна быть достаточно высокой для того, чтобы отличить специфические, вызванные заболеваниями, изменения теста от случайных аналитических.

Сходимость (или воспроизводимость в серии) дает представление о близости друг к другу результатов исследований, выполняемых в одинаковых условиях (в серии).

Воспроизводимость характеризует близость друг к другу результатов, полученных при выполнении лабораторно-аналитических исследований пробы в различных условиях (обычно во времени, месте). В более широком смысле воспроизводимость – это критерий, отражающий степень разброса данных. Используется для выявления случайных ошибок.

Правильность – понятие, характеризующее качество измерений. Правильность лабораторного теста оценивается соответствием определяемого результата истинному его значению. Чем оно ближе, тем ближе к нулю систематические погрешности в результате анализа. Критерий правильности используется для того, чтобы показать, насколько полученные данным методом результаты отличаются от истинных.

Неправильность теста есть то, что отличает характеризующий его показатель от истинного значения.

Чувствительность – способность метода выявлять наименьшее количество анализируемого вещества, которое еще можно определить, т.е. отличить от нуля. Оценивается величиной отношения разности между показаниями измерительного прибора (т.е. различиями величин абсорбции) к разности величин измеренных концентраций: $\Delta A / \Delta C$, где ΔA и ΔC – соответственно разность в показателях абсорбции и концентрации анализируемых проб. Чем больше величина этого отношения, тем выше чувствительность метода. Так, например, чувствительность диацетилмонооксимного метода определения мочевины при использовании фотоэлектроколориметра обычно составляет 0,03.

Предел чувствительности аналитического метода – концентрация исследуемого вещества, соответствующая наименьшему результату измерения, еще отличимому от показателей холостой пробы.

Несмотря на наличие множества критериев, характеризующих контроль качества, в повседневной практике под ним обычно понимают оценку *правильности* и *воспроизводимости* выполненных исследований.

Различают *внутрилабораторный* (внутренний) и *межлабораторный* (внешний) контроль качества.

Контрольные материалы

Для осуществления контроля качества используют *контрольный материал*, подвергаемый исследованию в соответствии с той же процедурой анализа, что и опытная проба (с неизвестным содержанием вещества).

Контрольный материал может быть получен из клинической лаборатории (сливные сыворотки) или закуплен у фирм (коммерческие контрольные материалы). На упаковке промышленных сывороток указывается номер серии, количество добавляемого растворителя, условия хранения и срок годности.

Сливные сыворотки являются одним из наиболее распространенных контрольных материалов. Получают их следующим образом. Остатки исследованных в лаборатории сывороток (за исключением гемолизированных, желтушных, липемических, а также полученных от больных гепатитами, другими заразными болезнями, носителей ВИЧ) собирают в течение недели в одну лабораторную посуду и хранят при -20°C . Когда накопится до 2 л сыворотки, ее оттаивают на водяной бане при 37°C и тщательно перемешивают. Затем сыворотку фильтруют и разливают в пузырьки малой дозировки. Плотнo закупоренные пузырьки хранят при -20°C . Такую сыворотку можно использовать в лаборатории ежедневно для контроля воспроизводимости.

Коммерческие контрольные материалы выпускаются в лиофилизированном или жидком виде.

Лиофилизированные материалы перед использованием необходимо растворить добавлением воды или специального растворителя. Выполнение этой процедуры может служить источником ошибок, связанных с потерей лиофилизата при вскрытии, неправильной дозировкой растворителя, использованием некачественной воды.

Жидкие контрольные сыворотки лишены недостатков, свойственных сухим, и представляют наиболее удобный материал для использования.

Коммерческие сыворотки изготавливаются из крови человека или животных. Человеческой сывороткой пользоваться предпочтительно, но она представляет собой дорогой и дефицитный биологический материал. В связи с этим ряд фирм выпускает человеческую сыворотку (матрицу) с обогащением ее компонентами от животных (лошадь, бык, свинья и др.).

Контрольные материалы могут быть *аттестованные* (с известным содержанием вещества) и *неаттестованные* (с неустановленным уровнем анализируемого компонента). Контрольные сыворотки с *известным* содержанием компонентов, используются для контроля *правильности* лабораторных исследований. Контрольные сыворотки с *неизвестным со-*

держанием компонентов применяются для контроля *воспроизводимости* лабораторных исследований.

Требования, предъявляемые к контрольным материалам следующие:

- контрольный материал должен быть идентичен по своим физико-химическим свойствам анализируемому образцу;
- стабилен при длительном хранении и транспортировке;
- должен иметь минимальную вариабельность внутри серии;
- давать возможность контролировать весь аналитический процесс;
- быть пригодным для контроля точности и правильности, т.е. выявлять и систематические и случайные ошибки.

В настоящее время в повседневной работе лабораторий стало правилом применение *референтного материала*. Согласно определению Европейского комитета по референтным измерениям, под референтным материалом понимается «материал или вещество, концентрация определяемого ингредиента в котором достаточно хорошо установлена, с тем, чтобы его можно было использовать для калибровки измерительных систем и оценки процедур измерения». Помимо контрольного, он включает и калибровочный материал, т.е. референтный материал, применяемый для калибровки приборов.

В зависимости от того, каким методом они аттестуются, выделяют первичный калибратор (аттестован дефинитивным методом), вторичный калибратор (аттестован референтным методом I типа), калибратор (аттестован референтным методом II типа).

Возможные источники ошибок при проведении лабораторных исследований

Ошибки обычно разделяют на две основные группы: *внелабораторные и лабораторные*.

Внелабораторные (доаналитические) ошибки составляют около 20% всех ошибок. К ним относятся:

- *канцелярские ошибки* (ошибочные образцы, перепутывание фамилий или кодирующих номеров, бланков-заказов, ошибочные заявки и т.д.);
- *гемолиз эритроцитов* (в гемолизированных сыворотках завышаются результаты определения активности некоторых ферментов (лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и др.), билирубина (прямого и непрямого), холестерина, калия);
- *ошибки взятия проб* (антикоагулянты цитрат и оксалат натрия ингибируют большинство ферментов, ЭДТА ингибирует активность щелочной и кислой фосфатаз);
- *химическая и физическая интерференция* (результаты исследований могут изменять лекарственные вещества, промежуточные и конечные продукты их метаболизма);

• *хранение биологического материала* (следы детергентов в стеклянных пробирках влияют на исследование активности ферментов; длительное хранение крови приводит к сдвигам ряда показателей; некоторые вещества чувствительны к влиянию ультрафиолетовых лучей, поэтому пробы нельзя держать на свету).

Внутрилабораторные источники ошибок. Надежность результатов клинико-лабораторного исследования зависит от ряда факторов. Выполнение анализов, правильное в качественном отношении, гарантируется эффективным использованием всех элементов, составляющих измерение: оборудование – оснащение – методы – реактивы – стандарты – пробы – система контроля качества.

Внутрилабораторные ошибки часто связаны с приготовлением стандартов, калибровкой прибора, расчетами, приготовлением образца, чистотой и качеством реагентов, их хранением, состоянием измерительной аппаратуры и ее энергообеспечения.

Ошибки зависят от метода и техники исследования, интерпретации результатов, квалификации исполнителя. При выполнении исследования вручную большой процент ошибок связан с пипетированием. При этом лаборанты допускают индивидуальные грубые ошибки, как при взятии биологического материала, так и реагентов.

Перед отбором сыворотки, крови, мочи и других объектов их необходимо тщательно, но без встряхивания, перемешать. Эти факторы зависят от лаборанта. Если пробы или реагенты были заморожены или находились в холодильнике, то перед анализом образцы и реагенты следует согреть до комнатной температуры в течение 1 часа. Перед выполнением исследования тщательно перемешать образцы проб и реагентов, не допуская чрезмерного пенообразования. Работа с дозаторами дает меньше погрешностей, чем с обычными пипетками. К ошибке может привести всякая капля на пипетке, неполный забор объема дозатором, плохо подогнанный накопчик, физический износ дозатора и т.д.

Существенным источником погрешностей является обработка стандарта. Стандартное вещество должно быть химически чистым (х.ч), точно взвешено на аналитических весах, растворено в мерной калиброванной посуде. Стандарты – это основа точных анализов. Единичное калибрование не является надежным, поэтому анализу необходимо подвергать стандарты с разной концентрацией вещества.

Реактивы в лабораториях должны приготавливаться с большой точностью, быть чистыми, обозначены после приготовления, храниться согласно предписаниям. Одной из причин погрешностей в работе может быть использование реактивов с истекшим сроком годности. Вода, употребляемая для приготовления реагентов, должна быть также хорошего качества (иметь рН, близкий к нейтральной реакции, не содержать примесей солей и т.п.). Чтобы исключить методические погрешности, необходимо пользо-

ваться унифицированными (стандартизированными) методами исследований. Иногда ошибка может быть заложена в самом принципе метода. Например, определение креатинина в крови по реакции с пикриновой кислотой (реакция Яффе) может приводить к ложно завышенным результатам в результате повышения содержания в крови так называемых псевдокреатининов (ацетоуксусной кислоты, ацетона, аскорбиновой кислоты, фруктозы, глюкозы, пировиноградной и мочевой кислот и т.д.), способных взаимодействовать с пикратом.

Важным фактором является также качество оборудования и оснащения в лаборатории, стабильность энергообеспечения и температурного режима. Состояние измерительной аппаратуры должно периодически проверяться. В идеальном случае при фотометрическом измерении между значением концентрации вещества и экстинкцией (оптической плотностью) прибора соблюдается линейная зависимость (закон Ламберта–Бугера–Бэра). Ошибки будут тем больше, чем больше разница между концентрацией стандарта и анализируемой пробы.

Надежность результатов измерений при работе на приборах, в первую очередь, обеспечивается правильной установкой и соответствующей эксплуатацией приборов, их техническим обслуживанием. Приступать к измерениям можно только после тщательного ознакомления с устройством прибора и правилами его эксплуатации. Поверка приборов производится органами метрологической службы, в ведении которых находятся поверочные средства, и лицами, имеющими допуск (сертификат) к данной аппаратуре. Если в лаборатории имеются калибраторы, прибор калибруется персоналом, работающим на данном приборе. Однако это не исключает метрологической поверки прибора.

Немаловажное значение для правильности исследований имеет чистота лабораторной посуды. Пробирки и измерительные кюветы должны быть химически чистыми, сухими. Для гарантии оптимальных условий работы лаборатория должна быть оснащена хорошей вентиляцией и кондиционерами.

Из суммы всех перечисленных погрешностей получается интегральная ошибка, выражающаяся в неточности конечного результата.

Классификация аналитических ошибок. Наиболее распространена следующая классификация аналитических ошибок:

- грубые;
- случайные;
- систематические.

Грубые ошибки – это ошибки одиночного значения, результаты исследований выходят за пределы области определяемого компонента, как нормы, так и патологии. Такие ошибки обычно замечаются сразу и отбрасываются. Эти ошибки могут быть субъективными и обусловлены квалификацией лаборанта, недостаточной тщательностью его работы (ошибкой в

разведении, подсчете, небрежностью в проведении метода исследования). Они могут быть объективными, зависящими от чистоты лабораторной посуды, реактивов, состояния приборов и т.д.

Случайные ошибки – это ошибки также одиночного значения, нет закономерности в их появлении, они не выходят за пределы области исследуемого компонента и влияют на индивидуальные результаты исследования. Эти ошибки могут быть также субъективными и объективными. Наличие случайных ошибок сказывается в том, что при повторном определении того или иного компонента получают, как правило, не одинаковые, а несколько различающиеся между собой результаты. Такого рода ошибки обусловлены:

- свойствами самой пробы (неоднородностью, неравномерностью перемешивания);
- некачественным инструментарием (неточностью, пипеток, дозаторов, нестабильностью фотометров и т.д.);
- неточностью работы персонала (ошибкой пипетирования, разведения, считывания, утомлением лаборанта и т.д.).

Случайные ошибки происходят при всяком измерении, в том числе при любом аналитическом определении, как бы тщательно оно не проводилось. Величина случайных ошибок (разброс данных) является мерой воспроизводимости лабораторных результатов. Чем меньше величина случайных ошибок и меньше разброс индивидуальных показателей, тем лучше воспроизводимость данных лабораторных показателей. Распространенным способом характеристики воспроизводимости результатов является величина среднеквадратического отклонения (S).

Систематические ошибки – это ошибки, одинаковые по знаку, т.е. результаты лабораторных исследований либо завышены, либо занижены и происходят от одинаково определенных причин. Как бы хорошо не совпадали результаты параллельных проб, т.е. были воспроизводимы, они могут быть далеки от истинного значения. Наиболее характерными являются следующие виды систематических ошибок:

1. *Ошибки методические*. Они зависят от особенностей применяемого метода анализа, например, некачественно протекает реакция, влияние посторонних примесей и т.д. Поэтому колориметрические методы уступают более точным спектрофотометрическим, флуорометрическим, иммуноферментным методам. Методические ошибки составляют серьезную причину искажения результатов количественного определения.

2. *Ошибки, зависящие от применяемых приборов, их состояния и реактивов* (неточные весы, нечувствительность фотоэлементов, загрязнение растворов, неправильно выбранный светофильтр, сбивка длины волны, использование реагентов с истекшим сроком годности, загрязненная вода и т.п.).

3. *Ошибки оперативные*. Они происходят от неправильного или недостаточно тщательного выполнения аналитических операций (неточный отбор растворов, пробы, разведение, нарушение температурного режима и др.).

4. *Ошибки, допущенные при обработке стандарта, построения градуировочного графика, вычислении фактора пересчета и составлении калибровочной таблицы.*

Систематические ошибки влияют на всю серию определений. Величина систематической ошибки характеризует правильность результатов. Обнаружение систематической ошибки является сложной задачей.

В лаборатории должен вестись дневник, в который обычно заносятся данные контрольных проб и стандартов со свежеприготовленной порцией реактивов, начало использования реактива другой квалификации, другой фирмы, данные калибровочных кривых. Сопоставление показателей позволяет критически оценить характер наблюдаемых сдвигов в результатах и дает возможность во многих случаях легко установить непосредственную причину систематической ошибки.

Использование автоанализаторов постепенно уменьшает число случайных ошибок (ошибок манипуляций), но не исключает систематических ошибок. Постоянное измерение точности выполнения анализов, точности работы лабораторий, т.е. проведение контроля качества работы, позволяет предупредить систематические ошибки и свести до минимума случайные ошибки.

Таким образом, система мер, направленная на количественную оценку точности, воспроизводимости и правильности лабораторных определений, является системой контроля. Сущность контроля качества лабораторных исследований состоит в сопоставлении результатов диагностических исследований проб биологических жидкостей, проводимых в лаборатории с результатами исследований контрольных материалов и в измерении величины отклонения.

Целью контроля качества работы является устранение систематических ошибок и сведение до минимума случайных ошибок, достижение оптимальных стандартных условий исследования биологических жидкостей во всех лабораториях. Для этого контроль качества должен быть: *систематическим, объективным, охватывать все области измерения, проводиться в реальных условиях работы лаборатории с применением точно установленных методов и средств контроля.*

В каждой лаборатории необходимо поддерживать на должном уровне воспроизводимость, правильность и точность результатов исследования. В тех случаях, когда нет возможности поддерживать и воспроизводимость и правильность из-за технических трудностей и приходится делать выбор между ними, то воспроизводимость можно рассматривать как более важную характеристику качества в практическом смысле, чем правильность. Пока лаборатория получает воспроизводимые результаты, решение проблемы правильности можно заменить установлением устойчивых жестких нормальных значений и при повторном исследовании будут получены сопоставимые результаты. Однако, это крайняя мера и при значительных отклонениях является нежелательной, т.к. результаты будут искажать истинную концентрацию ве-

щества. Точность анализа в целом определяется его воспроизводимостью и правильностью и характеризуется общей ошибкой анализа, которая представляет собой сумму случайных и систематических ошибок.

Система внутрилабораторного контроля качества химического анализа биопроб

Основной формой контроля всех видов исследований является внутрилабораторный контроль качества. Внутрилабораторный контроль качества включает определение воспроизводимости и правильности исследований.

Контрольный материал включается в серию исследований, и определение производится тем же персоналом, с использованием той же аппаратуры, методов, реактивов, пипеток, дозаторов и т.д.

Применение контрольных материалов с известным содержанием компонентов определяет правильность выдаваемых результатов. Результат исследования контрольного материала с известным содержанием компонентов должен укладываться в пределы допустимых отклонений, указанных в инструкции (паспорте) к контрольному материалу. Если результат выходит за пределы допустимого отклонения, то показатели исследований сывороток являются неправильными и необходимо установить и устранить причину полученной ошибки. Например, в контрольной сыворотке содержание глюкозы составляет 7,6–8,4 ммоль/л. В лаборатории получен результат 6,11 ммоль/л. Следовательно, в этот день допущена ошибка, т.е. результаты глюкозы занижены.

Наиболее подходящими для контроля являются нормальные и патологические контрольные сыворотки, изготовленные промышленным путем.

Для проведения контроля правильности исследуют три контрольных кона:

- с нормальными величинами;
- с низкими значениями;
- с высокой концентрацией вещества.

Контрольные материалы не могут применяться в роли калибраторов. Калибратор всегда имеет точно определенную величину, установленную производителем или потребителем референтного метода. Эту величину надо воспринимать как надежную. Калибратор применяется для стандартизации метода или приборов.

Внутрилабораторная программа контроля качества может производиться по методам, не требующим контрольных материалов:

- исследование параллельных, случайных, повторных и смешанных проб;
- метод средних величин.

Воспроизводимость результатов проводится при исследовании сыворотки с неизвестным, неисследованным содержанием компонентов. При этом следует учитывать, что для проведения контроля воспроизводимости необходимо располагать достаточным количеством сыворотки одной серии, чтобы ее хватило не менее чем на 6–8 месяцев работы, т.к. в разных сериях сыворотки содержится разная концентрация вещества. Внутрилабо-

раторный контроль воспроизводимости должен проводиться в лаборатории постоянно и по всем видам анализов, его качество и эффективность оценивается межлабораторным контролем.

Сухая лиофилизированная сыворотка представляет собой порошкообразное вещество золотисто-желтого цвета. При растворении лиофилизованного материала необходимо соблюдать все требования, касающиеся работы с контрольным материалом.

Типичными ошибками, возникающими при манипуляции с лиофилизированными контрольными образцами (сыворотка или плазма), являются:

- потеря вещества лиофилизованной пробы при небрежном открывании пузырьков;
- ошибки, возникающие при пипетировании растворителя;
- недостаточное выдерживание времени, необходимого для полного растворения сыворотки;
- сильное встряхивание;
- несоблюдение условий хранения как сухого, так и растворенного контрольного материала.

Для подготовки лиофилизированных контрольных сывороток перед вскрытием флаконов легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к пробке, точно добавить необходимое количество дистиллированной воды (температура 20–25°), как указано на этикетке. Весь порошок материала должен быть полностью в растворе. Через 15–20 минут пузырек с сывороткой плавно наклоняют и вращают в разные стороны и оставляют до полного растворения вещества. Время, необходимое для его растворения, составляет 30–60 минут. Избегать сильного встряхивания и пенообразования. Растворы лиофилизатов должны быть прозрачными. Наличие муты, хлопьев, взвеси свидетельствует о непригодности вещества. Если растворенную сыворотку замораживали, то нужно дать ей оттаять при комнатной температуре перед использованием ее для анализа.

Внутренний (внутрилабораторный) контроль воспроизводимости. Контроль воспроизводимости результатов анализа подразделяется на 4 этапа:

1. Определение концентрации вещества в сыворотке и установление расчетных параметров для дальнейшего контроля качества (предпериод контроля).
2. Статистическая обработка полученных результатов.
3. Построение контрольных карт.
4. Оценка контрольных карт по предупредительным и контрольным критериям.

1-й этап – это система накопления результатов исследований контрольной сыворотки на воспроизводимость. Так как в сыворотке концентрация вещества неизвестна, то необходимо иметь запас сыворотки одной серии, чтобы ее хватило для работы на 1 год или хотя бы на 6 месяцев.

Набор результатов контрольного материала на воспроизводимость проводится в течение 23–25 дней. Ежедневно или один раз в 2 дня растворяют сыворотку, если она сухая, и исследуют показатели, указанные в инструкции к определению тестов (глюкоза, холестерин, общий белок, мочеви́на и т.п.). Наряду с опытными пробами обрабатывают контрольную сыворотку в двух параллельных пробах, причем результаты измеряют на тех же приборах, что и опытные образцы. Растворенную сыворотку можно хранить 2 суток при температуре +4–6°С или в замороженном состоянии 1 месяц. Из двух параллельных проб контрольной сыворотки вычисляют среднюю величину каждого параметра, записывают в виде столбика (табл. 1), и, таким образом, получают ряд чисел. Каждая величина одного дня обозначается статистическим знаком \bar{X} .

Таблица 1

**Внутрилабораторный контроль качества
воспроизводимости результатов**

Дата	\bar{X}	$\bar{X} - X$	$(\bar{X} - X)^2$
Тест			
Метод			
Прибор			

2-й этап – статистическая обработка данных. Все результаты за 23–25 дней по отдельным видам исследований оценивают (сравнивают между собой). Если какая-либо величина (одна или больше) \bar{X} выходит за пределы ряда показателей, то она отбрасывается и число дней исследований (n) уменьшается. Затем рассчитывают средний показатель (\bar{X}), для чего все результаты суммируют: $X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + \dots + X_n = \sum X$, где X – средняя одного дня (из двух параллельных проб), n – число дней исследования, $\sum X$ – сумма результатов всех дней исследования.

Среднюю величину вычисляют по формуле:

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}.$$

Затем определяется отклонение от средней величины результатов каждого дня исследования без учета знака (плюс или минус), т.е. вычисляют $\bar{X} - X_1$, $\bar{X} - X_2$, $\bar{X} - X_3$ и т.д. Все отклонения от средней величины суммируют $\sum (\bar{X} - X)^2$ и находят среднее квадратическое отклонение (S) по формуле:

$$S = \pm \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X)^2}{n - 1}}.$$

Сравнение воспроизводимости результатов, полученных разными методами исследования, допускается лишь с помощью коэффициента вариации (V) как относительного показателя разброса данных:

$$V\% = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%.$$

Коэффициент вариации позволяет составить объективное представление о точности и надежности теста. В случае большого разброса этот показатель оказывается высоким, и наоборот. Чем меньше коэффициент вариации, тем выше точность лабораторного исследования. В последнее время для оценки качества лабораторного исследования применяют практически только один показатель – коэффициент вариации: он широко используется для сравнения воспроизводимости различных методов и для объективной характеристики качества работы лабораторий.

Среднеквадратическое (стандартное) отклонение показывает разброс результатов от средней величины в одну (+) и другую (-) сторону. Пределом минимального разброса результатов (предел достоверности) допускают $\pm 2S$ от средней величины ($\bar{X} + 1S$; $\bar{X} + 2S$; $\bar{X} - 1S$; $\bar{X} - 2S$).

Пример исследования концентрации глюкозы на воспроизводимость результатов

Дата	X, ммоль/л	$\bar{X} - X$, ммоль/л	$(\bar{X} - X)^2$, ммоль/л
1. 02.03.05	4,04	+0,03	0,0009
2. 03.03.05	3,98	-0,03	0,0009
3. 07.03.05	4,08	+0,07	0,0049
4. 09.03.05	4,01	0	0
5. 10.03.05	3,99	-0,02	0,0004
6. 11.03.05	4,03	+0,02	0,0004
7. 14.03.05	3,85	–	–
8. 15.03.05	3,98	-0,02	0,0004
9. 16.03.05	4,01	0	0
10. 17.03.05	4,03	+0,02	0,0004
11. 18.03.05	4,13	–	–
12. 21.03.05	4,00	-0,01	0,0001
13. 22.03.05	4,03	+0,02	0,0004
14. 23.03.05	3,95	-0,06	0,0036
15. 24.03.05	3,96	-0,05	0,0025
16. 25.03.05	4,06	+0,05	0,0025
17. 28.03.05	4,04	-0,03	0,0009
18. 29.03.05	3,99	-0,02	0,0004
19. 30.03.05	4,02	+0,01	0,0001
20. 31.03.05	4,03	+0,02	0,0004
21. 01.04.05	3,98	-0,03	0,0009
22. 04.04.05	3,95	-0,06	0,0036
23. 05.04.05	4,05	+0,04	0,0016
24. 06.04.05	4,03	+0,02	0,0004
25. 07.04.05	4,03	+0,02	0,0004
n=23	$\Sigma 92,27$		0,0266

$n = 23$, т.к. 2 величины отброшены из-за большого разброса (14.03.05 и 18.03.05).

Среднее арифметическое $\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = \frac{92,27}{23} = 4,01$ ммоль/л. Сумма квадратов отклонений от среднего $\sum(\bar{X} - X)^2 = 0,0266$. Среднее квадратичное отклонение $S = \pm \sqrt{\frac{0,0266}{22}} = 0,034$ ммоль/л. $1S = \pm 0,034$ ммоль/л; $2S = \pm 0,069$ ммоль/л, $3S = \pm 0,102$.

После вычисления S определяют критерий надежности T , с помощью которого оценивают максимальную и минимальную величину ряда чисел, набранных в предпериоде.

$$T_{\max} = \frac{X_{\max} - \bar{X}}{S} \quad T_{\min} = \frac{\bar{X} - X_{\min}}{S}$$

При $n=20$ критерий надежности должен быть равен или меньше величины 2,62.

В данном примере на глюкозу

$$T_{\max} = \frac{4,08 - 4,01}{0,034} = 2,05 \quad T_{\min} = \frac{4,01 - 3,95}{0,034} = 1,76$$

Величины ряда предпериода можно также оценить с помощью $\pm 2S$ от средней арифметической. Если результат за какой-либо день не укладывается в эти пределы, то такой показатель за день выбрасывают и статистическую обработку проводят заново, т.е. рассчитывают новое стандартное отклонение S и так до тех пор, пока величины ряда не будут входить в пределы $\pm 2S$.

В данном примере на глюкозу $\bar{X} \pm 2S$ равно $4,01 \pm 0,069$ ммоль/л, т.е. величины ряда должны располагаться между 3,94 и 4,08 ммоль/л. В данном ряду от этой величины отклоняются 3,5 и 4,25 ммоль/л. Эти величины были отброшены до проведения статистической обработки, иначе после проведенной обработки данных вновь необходимо было бы находить отклонения от средней и вычислять S . Если оценить выброшенные величины с помощью T , то они также выпадут

$$T_{\max} = \frac{4,13 - 4,01}{0,034} = 3,5 \quad T_{\min} = \frac{4,01 - 3,85}{0,034} = 4,7$$

После этого приступают к вычислению коэффициента вариации (V). В данном примере $V\% = \frac{0,034}{4,01} \times 100\% = 0,84\%$.

Для большинства биохимических исследований V не должны превышать 4–5%, для исследования активности ферментов – 7–10%.

Для некоторых тестов считаются допустимыми следующие пределы аналитической вариации (в процентах) (табл. 2).

Репозиторий ВГУ

**Допустимые пределы аналитической вариации (разброса)
для анализируемых компонентов**

Анализируемый компонент	V%
Аланинаминотрансфераза	7
Альбумин	3
Аспартатаминотрансфераза	7
Белок общий	3
Билирубин	10
Глюкоза	5
Гамма-глутамилтрансфераза	10
Креатинин	5
Креатинкиназа	7
Лактатдегидрогеназа	7
Мочевая кислота	7
Мочевина	7
Фосфатаза щелочная	7
Холинэстераза	7
Гемоглобин	2

Коэффициент вариации (V) используется для оценки результатов исследования, выполненных одним или разными методами, сравнения методов исследования, разных измерительных приборов, оценки результатов, выполненных в разных лабораториях.

Допустимый предел ошибок.

При большом разбросе результатов, несмотря на то, что ежедневные контрольные значения лежат в пределах допустимой области ($\bar{X} \pm 2S$), рассчитывается допустимый предел ошибок по формуле:

$$\text{ДПО}\% = \frac{1}{8} \times \frac{\text{верхний предел нормы} - \text{нижний предел нормы}}{\text{средняя величина нормы}} \times 100\%$$

Если область нормальных значений узко ограничена, то соответствующие определения и методы должны иметь высокую точность, т.е. допустимая область имеет узкие границы. Если же область нормы относительно широка, то и точность определений может быть несколько меньшей.

Пример расчета ДПО на глюкозу:

$$\text{ДПО}\% = \frac{1}{8} \times \frac{6,4 - 3,9}{5,15} \times 100\% = 6,06\%.$$

3-й этап – построение контрольной карты. Для систематического осуществления анализа получаемых в ходе лабораторного исследования результатов, оценки качества работы лаборатории требуется использование

контрольных карт. Метод контрольных карт впервые описан Шухартом и для лабораторных целей введен Леви-Дженнингсом.

Контрольная карта строится путем откладывания на оси абсцисс дат контрольных анализов, а на оси ординат – полученных при этом результатов. Параллельно оси абсцисс проводят линии, соответствующие среднему содержанию определяемого компонента и значениям S ($\pm 1S$, $\pm 2S$) – среднеквадратического отклонения. Результаты анализов контрольной сыворотки наносят на карту в виде точек. В зоне графика, отведенной горизонталями, соответствующей $\pm 2S$ (доверительная вероятность 95%), должно расположиться не менее 95% всех полученных при исследовании контрольной сыворотки результатов. Сигналом для принятия мер служит выход точки на карте за эти пределы.

На картах желательно также отмечать использование вновь приготовленных реактивов, изменение типов пипеток, шприцев, приводить сведения о смене приборов и т.д.

Контрольные карты готовятся для каждого контролируемого теста, определяемого в лаборатории.

После этого продолжают исследовать контрольную сыворотку той же серии, с которой работали в предпериоде. Если это лиофилизированная сыворотка, то она разводится водой, как и раньше, согласно инструкции. Результаты исследования двух параллельных проб записывают в журнал, а среднее значение двух параллельных проб откладывают на карте в виде точки с указанием даты исследования. Для наглядности точки соединяют между собой линией (рис. 1). Представленный рисунок свидетельствует о надежных результатах воспроизводимости, т.к. результаты распределяются с одинаковой частотой на каждой стороне от средней линии. На рис. 2 результаты не выходят за пределы допустимой области ($\pm 2S$), однако имеется большой разброс величин. В этой ситуации следует проанализировать все этапы исследования. На рис. 3 результаты также не выходят за пределы $\pm 2S$, однако прослеживается систематическая ошибка.

4-й этап – оценка контрольных карт. Результаты последующих исследований контрольного материала той же серии, с которой работали в предпериоде, должны распределяться с одинаковой частотой на каждой стороне от линии средней арифметической и находиться в пределах $\pm 2S$ от средней. Контрольная карта дает в наглядной форме своевременно выявить и предотвратить ошибки даже тогда, когда результаты анализа не выходят за границы $\pm 2S$.

Контрольную карту оценивают по предупредительным и контрольным критериям, ориентируясь на которые можно обнаружить ошибки в работе лаборатории.

Предупредительные критерии:

1. Шесть результатов подряд находятся по одну сторону от средней линии (\bar{X}).

2. Три результата подряд расположились за пределами одного среднеквадратичного отклонения ($\pm 1S$).

3. Один результат находится за пределами двух среднеквадратических отклонений ($\pm 2S$).

4. Шесть результатов подряд имеют тенденцию наклона результатов в одну сторону от средней (\bar{X}).

При наличии предупредительных критериев следует проверить качество калибровочных или стандартных растворов, качество реактивов и сроки их приготовления, работу измерительных приборов. Возможно, появились субъективные погрешности (другой лаборант проводит исследования). Появление предупредительных критериев свидетельствует, что анализ может выйти из-под контроля, необходимо провести поиск причин, устранить их и провести контроль погрешности.

Контрольные критерии:

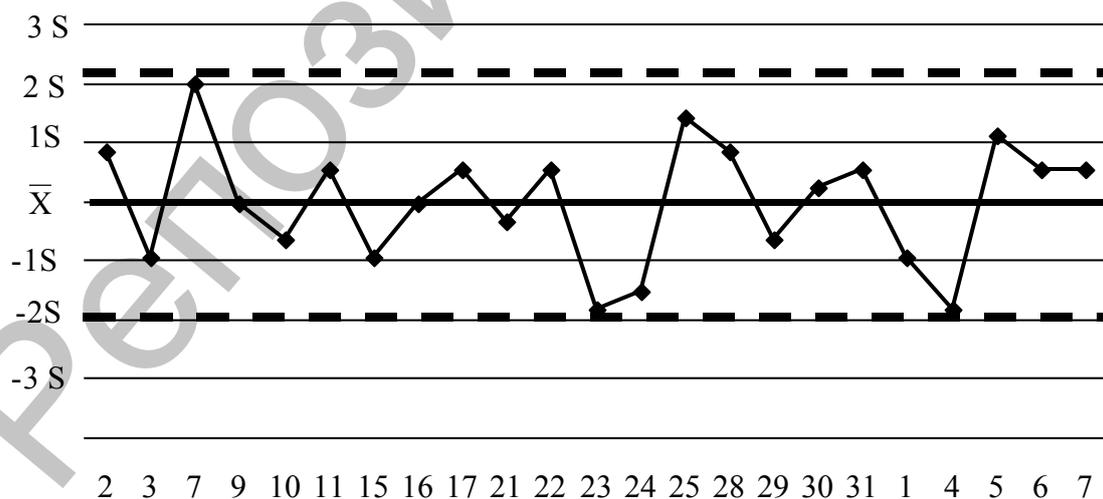
1. Восемь результатов подряд находятся по одну сторону от средней арифметической величины.

2. Пять результатов подряд расположены за линией одного среднеквадратического отклонения ($\pm 1S$).

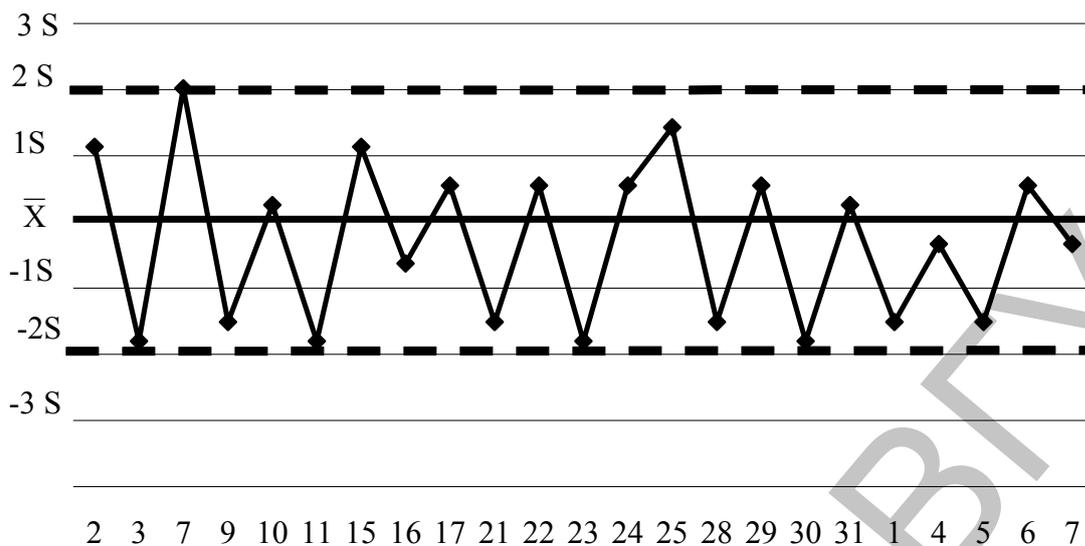
3. Три результата выходят за рамки $\pm 2S$.

4. Один результат располагается за пределами $\pm 3S$.

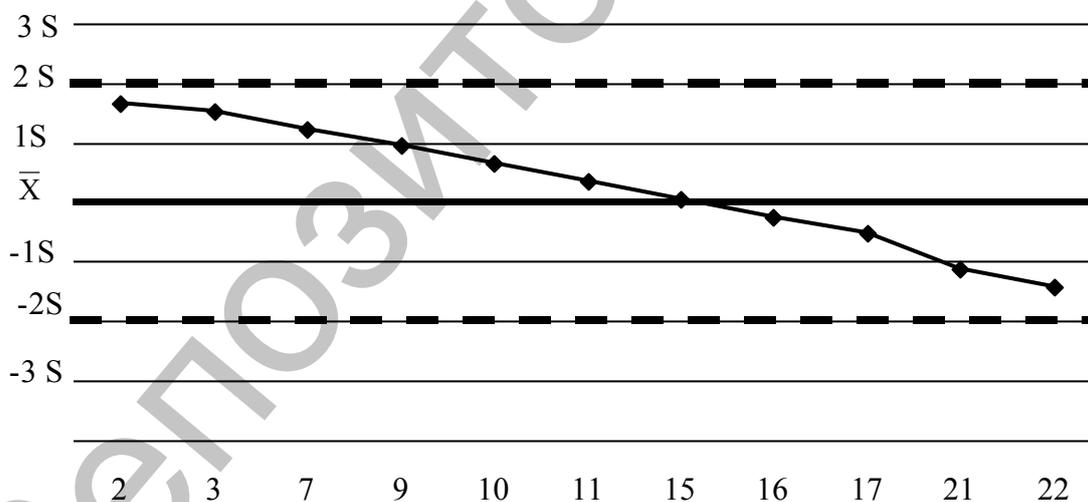
При наличии контрольных критериев результаты исследований ставятся под сомнение (анализ вышел из-под контроля). В таких случаях необходимо проверить все этапы производства анализа (чистоту реактивов, качество стандарта, контрольную сыворотку, мытье посуды, работу приборов и т.п.).



**Рис. 1. Контрольная карта 1.
Результаты воспроизводимости надежные.**



**Рис. 2. Контрольная карта 2.
Отмечается большой разброс величин.**



**Рис. 3. Контрольная карта 3.
Прослеживается систематическая ошибка.**

Пример оформления контрольной карты

Дата	X	X̄ - X	(X̄ - X)²	Расчет относительного показателя разброса результатов	Контрольный материал:	
				$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = \text{-----} =$	Серия _____	
					номер _____	
					год _____	
					$S = \pm \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}} = \text{-----} =$	Контрольный тест: воспроизводимость
				Оперативные данные контроля качества		
				$V = \frac{S \cdot 100}{\bar{X}} = \text{-----} \%$	Дата	Дата
				Предел достоверности $\bar{X} + 1S = \text{-----}$ $\bar{X} - 1S = \text{-----}$ $\bar{X} + 2S = \text{-----}$ $\bar{X} - 2S = \text{-----}$	X	X
				Критерий надежности $T_{\max} = \frac{X_{\max} - \bar{X}}{S} =$ $T_{\min} = \frac{\bar{X} - X_{\min}}{S} =$		
				T при n=20 ≤ 2,62		
				n = ΣX = Σ(X̄ - X)² =		
					X̄ =	X̄ =

Расчет допустимого предела ошибок

$$\text{ДПО}\% = 1/8 \times \frac{\text{Верхний предел нормы} - \text{нижний предел нормы}}{\text{средняя величина нормы}} \times 100\%$$

Тест													
Метод													
Прибор													
Контрольная карта													
Дата													
S													
+2S													
+1S													
\bar{x}													
-1S													
-2S													

Контроль правильности результатов исследований. Исследование контрольного материала с известным содержанием компонентов – наиболее простой способ оценки правильности. Он может быть использован для быстрой ориентировочной оценки правильности результатов. Обязательным условием, ограничивающим возможность этого способа, является использование только того метода исследования, который указан в аннотации к контрольному материалу. Кроме того, проводящий анализ контрольной сыворотки с известной концентрацией может слишком внушительно придерживаться того, что работает с контрольным материалом и более тщательно будет проводить исследование. Если есть возможность избежать этого, то контроль будет объективным. Контроль правильности должен осуществляться по всем диапазонам прямолинейного хода калибровочного графика, т.е. контролю подвергаются как нормальные, так и патологические результаты.

Для проведения контроля правильности необходимо иметь контрольный материал с нормальными и патологическими концентрациями вещества в контрольной сыворотке. Концентрация веществ в контрольных сыворотках зарубежного производства устанавливается референтной лабораторией страны-производителя. Если полученные в лаборатории результаты исследования контрольной сыворотки укладываются в пределы допустимых отклонений содержания вещества, указанного в инструкции к сыворотке, то правильность удовлетворительная.

Оценка правильности результатов исследования возможна с использованием статистического критерия Лорда (L). Для этих целей определяют 10–20 параллельных проб контрольного материала, вычисляют среднюю арифметическую величину, а затем сравнивают со средней величиной, указанной для контрольного материала (μ). Расчет осуществляется по формуле:

$$L = \frac{\bar{X} - \mu}{X_{\max} - X_{\min}},$$

где:

\bar{X} – средняя величина из 10–20 проб;

μ – среднее значение контрольной сыворотки;

X_{\max} – максимальное значение из 10–20 проб;

X_{\min} – минимальное значение этого же ряда.

Статистически установлено, что различие недостоверно при $L=0,23$ или меньше этой величины. Например, при исследовании содержания глюкозы получены следующие результаты: X_{\max} из 10 величин ряда = 5,85 ммоль/л; $X_{\min} = 5,05$ ммоль/л; $\bar{X} = 5,45$ ммоль/л; $\mu = 5,65$ ммоль/л.

$$L = \frac{5,65 - 5,45}{5,85 - 5,05} = \frac{0,20}{0,80} = 0,25.$$

Полученное значение больше 0,23, следовательно, различие достоверно, а результаты неправильные. Критерий Лорда можно использовать только тогда, когда воспроизводимость результатов в лаборатории удовлетворительная. Наличие неправильных результатов требует мер по их устранению.

Если в контрольной сыворотке указано только среднее значение, при необходимости найти отклонение от средней величины, можно рассчитать S , исходя из коэффициента вариации (V). Для большинства биохимических исследований, как было указано выше, V должен находиться в пределах 3–5%. Правильность результатов исследований зависит от наличия систематических ошибок. Систематические ошибки могут быть обусловлены рядом причин: недостаточная степень чистоты стандарта, неправильно построенный калибровочный график, некачественные реактивы, неисправность измерительных приборов и т.д. Постоянная и пропорциональная погрешности составляют общую систематическую ошибку.

Для оценки правильности результатов исследования можно использовать достоверность различия результатов и наличие статистической связи. Статистическая достоверность различий определяется посредством критерия Стьюдента.

Для этих целей рассчитывают ошибку средней арифметической величины $S\bar{X}$ и критерий t

$$t = \frac{X_1 - X_2}{\sqrt{S\bar{x}_1^2 + S\bar{x}_2^2}}; \quad S_{\bar{O}} = \frac{S}{\sqrt{n}},$$

где X_1 и X_2 – среднее арифметическое результатов сравниваемых величин, n – число наблюдений. Например, X_1 – величина, полученная в лаборатории, а X_2 – величина в контрольной сыворотке. Различия считаются достоверными, если t будет равным 2,0 или больше 2,0 (P – показатель достоверности различий при этом будет равен 0,05 или меньше 0,05). Если P больше 0,05, то различия на достигнутом уровне значимости не достоверны, следовательно, определяемая сравниваемая величина правильная.

Таким образом, для статистической оценки правильности результатов при применении контрольных сывороток с известным содержанием компонентов наряду с тестом Лорда можно использовать и разностный метод критерия « t » Стьюдента.

Для установления правильности результатов используют также:

- способ добавки (внесение в биологическую жидкость точно известной навески анализируемого вещества и последующее измерение его с помощью оцениваемого метода);
- способ смешивания проб (при котором биологические жидкости с низкой и высокой концентрацией анализируемого вещества смешивают

в различных соотношениях; этот способ допустимо применять и в методах определения активности ферментов);

- сравнение с методом, правильность которого уже установлена (референтный метод).

Проведение контроля качества без контрольного материала. Внутрिलाбораторный контроль качества лабораторных исследований может осуществляться не только с помощью специальных контрольных материалов, но и методов, не требующих контрольных материалов.

К ним относятся: исследование *параллельных, случайных, повторных и смешанных проб*. Исследование параллельных проб позволяет оценить воспроизводимость результатов исследований с помощью образцов исследуемой крови. Для этого пробу исследуют дважды. Результаты таких дублированных анализов используют для характеристики качества исследований. На принципе параллельных проб рекомендуется использовать контрольные R-карты. Принцип построения контрольных R-карт основан на использовании разницы двукратного определения исследуемого лабораторного показателя одного и того же исходного образца.

По предварительно выбранному показателю пробу биологического материала исследуют дважды, первый раз под № 1, второй раз под последним номером и определяют арифметическую разницу. Все это продельвают ежедневно в течение 15 дней (можно выбрать и другой срок), затем заполняют таблицу, аналогичной табл. 3.

Таблица 3

Примерные вычисления для получения R-карты содержания мочевины (ммоль/л)

Номер исследования	X'	X''	ΔX	ΔX^2
1	8,35	8,29	0,06	0,0036
2	2,61	3,22	0,61	0,37
3	6,25	5,85	0,4	0,16
4	15,6	14,8	0,8	0,64
5	30,2	26,5	3,7	13,69
6	5,65	6,31	0,66	0,44
7	22,1	23,5	1,4	1,96
8	8,12	8,13	0,01	0,0001
9	11,6	13,4	1,8	3,24
10	3,56	4,02	0,46	0,21
11	7,22	7,35	0,13	0,017
12	15,6	15,8	0,2	0,04
13	5,63	5,88	0,25	0,062
14	5,32	5,79	0,47	0,22
15	4,36	5,02	0,66	0,44

Расчет:

$$R = \sqrt{\frac{\sum \Delta X^2}{2n}} \quad R = \sqrt{\frac{21,49}{30}} = \sqrt{0,72} = 0,84,$$

где n – число наблюдений

X' – первое определение в серии

X'' – второе определение в серии

ΔX^2 – квадрат разницы

$\sum X^2$ – сумма квадратов разницы

Вычисляют границы допустимого предела (2R, 2,5R, 3R).

$$2R = 1,68 \quad 2,5R = 2,10 \quad 3R = 2,52$$

На ось ординат контрольной карты наносят величины различий (ΔX) и обозначают уровень рангов: 2R, 2,5R, 3R.

Определенный таким образом предел различий обозначает допустимые границы контроля воспроизводимости. Теоретически вычислено, что в 95% всех исследований разница между двумя параллельными пробами должна быть в интервале между 0 и 2,5R. На карту ежедневно наносят разницу между двумя параллельными пробами. В случаях, когда разница больше 3R ранга, серию исключают и повторно исследуют пробы.

На рис. 4 представлена R-контрольная карта мочевины.

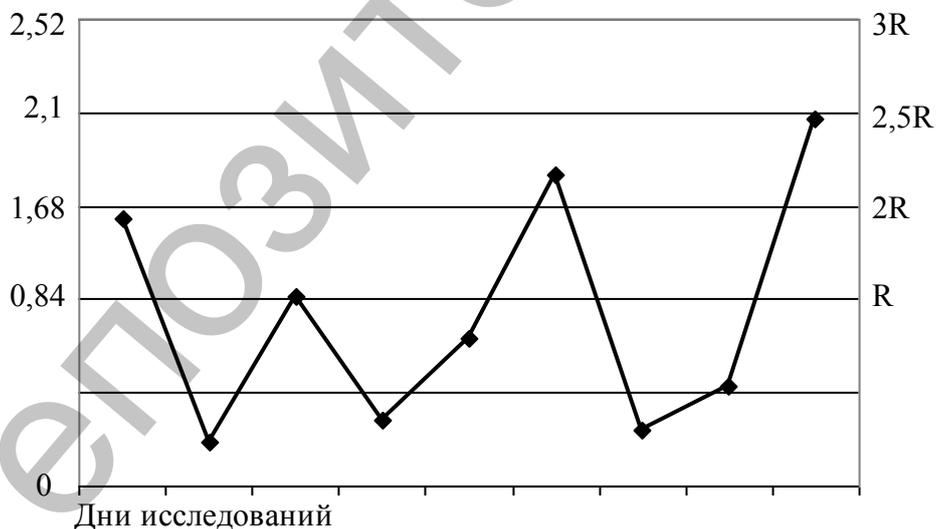


Рис. 4. Пример R-контрольной карты мочевины.

Контрольная R-карта помогает констатировать, что результаты проб находятся в допустимых пределах либо вне допустимых пределов. Последнее свидетельствует о допущенной ошибке и необходимости повторных исследо-

ваний. Однако по карте нельзя определить точные причины ошибок и проверить правильность результатов, а только воспроизводимость.

Исследование случайных проб. Этот метод аналогичен методу параллельных проб. Отличие заключается лишь в том, что лаборант выборочно исследует повторно одну или две пробы. Таким путем можно оценить воспроизводимость результатов исследования.

Исследование повторных проб. Для этого несколько случайно выбранных проб исследуется повторно. Сравнение соответствующих пар результатов дает объективные данные о качестве проведенных исследований. При проведении этого метода 5% образцов должны исследоваться повторно. Метод дает возможность оценить качество работы лаборанта и аппаратуры.

Межлабораторный (внешний) контроль качества лабораторных исследований. Межлабораторный (внешний) контроль качества лабораторных исследований – это контроль сравнимости результатов, полученных в нескольких лабораториях на одном и том же контрольном материале одними и теми же методами или методами, дающими статистически достоверно совпадающие результаты. Осуществление межлабораторного контроля качества дает возможность решать следующие задачи:

- сравнить качество работы всех участвующих в контроле лабораторий;
- выявить систематические, случайные и грубые погрешности в результатах контрольных определений;
- оценить качество используемых методов исследования, аппаратуры, реактивов и т.д.
- каждая лаборатория может сравнить качество своей работы с результатами других лабораторий, участвовавших в контроле, а также удостовериться в эффективности осуществления внутрилабораторного контроля качества исследований.

Основная цель межлабораторного контроля качества лабораторных исследований – выявить и устранить ошибки и достичь сравнимых результатов в лабораториях.

В зависимости от длительности проведения контроля различают краткосрочный и долгосрочный контроль.

Межлабораторный контроль качества лабораторных исследований осуществляется периодически не реже 1 раза в квартал организационно-методическим и контрольным центром по лабораторному делу республики, области.

При осуществлении межлабораторного контроля качества исследований контрольный центр проводит следующие организационные мероприятия:

- определение даты и срока проведения контроля;
- выбор, оповещение и регистрацию участвующих лабораторий (кодирование);

- составление и размножение протокола контрольных определений и контрольной программы (инструкции) для участника межлабораторного контроля качества;

- определение срока подачи результатов контрольных исследований;
- рассылку контрольных образцов;
- сбор результатов контрольных определений;
- статистическую обработку полученных результатов;
- оценку качества работы участвующих лабораторий (общая и индивидуальная), рекомендации для устранения источников ошибок.

Дата и сроки проведения определяются количеством участвующих лабораторий, их территориальным размещением, видом контроля (кратким или долгосрочным), наличием контрольного материала. Все клинично-диагностические лаборатории, независимо от их производительности и штата, должны в обязательном порядке участвовать в межлабораторном контроле качества.

В межлабораторном контроле качества лабораторных исследований должно принимать участие не менее 20 лабораторий. Только при этом условии можно гарантировать получение достаточной информации и надежной оценки качества выполнения лабораторных исследований. Чтобы в контроле могло принимать участие возможно большее число лабораторий, количество контролируемых компонентов на начальном этапе не должно быть слишком большим. Целесообразно начинать контроль с несколькими компонентами (например, глюкоза, мочевины, общий белок, креатинин, холестерин).

Протокол контрольных измерений. Представляет собой таблицу с перечнем контролируемых компонентов. В протокол заносятся полученные результаты контрольных исследований, используемые методы исследования, реактивы (наборы реактивов), а также дополнительная информация, интересующая контрольный центр. Протокол высылается каждому участнику в двух экземплярах.

Контрольная программа. Исследование контрольных проб проводят по программе, составленной контрольным центром. В программе должны быть указаны все основные этапы работы:

- условия хранения и растворения контрольного материала;
- перечень контрольных исследований;
- перечень закодированных методов исследования;
- дата и срок проведения контрольных исследований и срок представления полученных результатов;
- точный адрес контрольного центра;
- дополнительная информация (по усмотрению контрольного центра).

Оценка результатов. Для оценки результатов межлабораторного контроля качества проводится следующая статистическая обработка материала:

1. Оценка статистического распределения результатов участников по каждой контрольной пробе отдельно. Если имеют место многопиковые статистические распределения частоты, то надо выявить факторы влияния (например, разные методы исследования) и в зависимости от этого распределить все результаты на гомогенные группы.

2. В случае симметричного распределения (например, при нормальном распределении) рассчитывают среднюю арифметическую (\bar{O}) и среднеквадратическое отклонение (S). Для исключения грубых ошибок применяют метод «исключения» (за критерий берут границу $\pm 2S$). Если результаты исследования какой-либо лаборатории не укладываются в пределы $\pm 2S$ от средней величины лаборатории, то показатели лаборатории считаются неудовлетворительными и отбрасываются. Число исключенных величин регистрируют.

3. При отсутствии нормального распределения вычисляют медиану и процент или 5 и 95.

Оценка правильности результатов. Оценка результатов контроля правильности в своей основе подобна оценке сравнимости. Главное различие заключается в установленном критерии оценки. При контроле правильности – это номинальная величина, которая устанавливается на основе результатов, полученных в референтных лабораториях. При контроле сравнимости – это скорректированная средняя величина результатов всех участников. Основой для оценки результатов определения отдельного параметра при обоих видах контроля служит разница между полученной и установленной величиной (критерием).

Всю информацию о номинальных величинах и подробный анализ полученных результатов необходимо высылать каждому участнику не позже месяца после получения ответа. Это дает возможность участникам как можно скорее устранить допущенные ошибки. Разницу между полученной и установленной величиной наиболее просто можно представить в виде относительной величины в процентах. Сравнительная оценка нескольких лабораторий, которые исследовали один и тот же параметр, может быть изображена таким образом, что отдельные лаборатории располагаются по возрастающим процентным отклонениям.

Для оценки сравнимости (или правильности) результатов отдельных лабораторий используют также индекс среднеквадратического отклонения (IS). Для этого результат каждой лаборатории выражают в относительных единицах среднеквадратического отклонения по формуле:

$$IS = \frac{X_{\text{лаб}} - M}{S},$$

где $X_{\text{лаб}}$ – результат лаборатории, которую оценивают; M и S – паспортные данные контрольной сыворотки (истинное значение и среднеквадратическое отклонение). Полученный результат считается приемлемым в том случае, если величина IS не превышает 2,0 балла.

Одновременно результаты можно представить в графической форме, если в контроле использовали 2 образца контрольного материала с разной концентрацией компонентов. Наиболее простой является форма модифицированного графика Youden, в котором однозначно обозначаются результаты лабораторий. Равнонаправленные отклонения обоих результатов свидетельствуют о наличии систематических ошибок.

Скорректированные величины средней арифметической (\bar{O}) и среднеквадратического отклонения (S) служат для оценки общей сравнимости отдельных лабораторий. Для оценки межлабораторной воспроизводимости результатов участвующих лабораторий полученную величину коэффициента вариации по каждому компоненту сравнивают с величиной допустимого предела ошибок, рассчитанной по формуле Тонкса.

При долгосрочном контроле с многократными определениями одной контрольной пробы рассчитывают среднюю арифметическую величину и среднеквадратическое отклонение ($n=10$). Отклонение средней величины от должной проверяют на значимость (тест "t"). Статистически значимое отклонение сравнивают с допустимым отклонением, устанавливаемым в зависимости от компонентов и концентраций. При несовпадении – результаты неправильны.

Среднеквадратическое отклонение проверяют на статистически значимое совпадение с требуемой воспроизводимостью, устанавливаемой в зависимости от компонентов и концентраций. При статистически значимом совпадении воспроизводимость результатов участника контроля не отвечает поставленным требованиям.

Результаты статистической обработки представляются в виде таблицы по каждому разделу лабораторной диагностики, которая должна содержать данные о сравнимости результатов и о их качестве. Каждый контрольный материал должен иметь подробную характеристику (завод-изготовитель, номер серии). Для всех контролируемых параметров должны даваться номинальные величины, средние величины, среднеквадратические отклонения и коэффициенты вариации до и после коррекции, а также количества лабораторий, которые определили данный параметр. Лабораториям необходимо сообщать процент отклонения их результатов для отдельных компонентов или величину индекса среднеквадратического отклонения.

Кроме таблиц, следует дать общую оценку качества выполнения всех участников контроля и индивидуальную оценку каждой лаборатории с соответствующими рекомендациями по выявлению и устранению причин ошибочных результатов. Независимо от сообщений, которые высылаются всем лабораториям после каждого проведенного контрольного опыта, целесообразно периодически готовить более обширный анализ результатов, охватывающий несколько контрольных опытов. Цель такого резюме – дать характеристику тенденции качества лабораторных результатов всех кон-

тролируемых лабораторий за рассматриваемый период времени и информировать лаборатории о сопоставимости их результатов с результатами всех лабораторий.

При проведении межлабораторного контроля качества лабораторных исследований соблюдается анонимность участников контроля. Все лаборатории шифруются под определенным кодом так, что каждая лаборатория знает только свой код.

Построение графика Youden. Кроме статистической обработки, результаты межлабораторного контроля можно представить в графическом изображении, которое позволяет лабораториям сравнить свои результаты с результатами референтной лаборатории и дифференцировать тип допущенной ошибки. Для исправления графика каждая лаборатория должна определить данный компонент в двух контрольных образцах с разной концентрацией (например, А и В). Для построения графика строится система координат: на оси абсцисс откладывают номинальные значения компонента и интервалы среднеквадратического отклонения для пробы а, а на оси ординат – те же показатели для пробы В.

Масштаб для среднеквадратического отклонения берется одинаковый для обеих проб (А и В). Из точек Х и Y, соответствующих номинальным значениям данного компонента А и В, проводят две взаимно перпендикулярные прямые. Из точки пересечения этих прямых проводят окружность радиусом, равным $\pm 2S$. Затем под углом 45° к оси абсцисс проводят прямые – через центр окружности и две прямые и касательные к окружности. Пары значений для А и В, полученные от каждой лаборатории, наносятся в виде точки на график. Если точки попали внутрь окружности, результаты пригодны. Если точки попали вне окружности, но между касательными прямыми, это значит, что в лаборатории получили завышенные или заниженные величины для обеих проб и указывает на систематические ошибки. Точки, расположенные близко к центральной прямой, показывают, что лаборатория работает стабильно. Точки, попавшие в другие секции графика, не дают представления о правильности результата и свойственны случайным ошибкам.

Таким образом, график Youden позволяет наглядно дифференцировать систематические и случайные ошибки, допущенные в работе лаборатории, а также лаборатории, работающие в допустимых пределах. Каждая участвующая лаборатория получает бланк оценки своих результатов и результатов всех участников со статистической обработкой и, кроме того, график Youden на каждый контрольный компонент. На графике выделяют точку, соответствующую результатам данной лаборатории по одному из компонентов.

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Лабораторная работа № 1

Тема: Получение статистических характеристик выборки

Для объективной оценки полученных результатов исследования необходима их математическая обработка. Среди выборочных характеристик выделяют показатели, относящиеся к центру распределения (среднее арифметическое, мода, медиана), показатели рассеяния вариантов (меры рассеяния) и меры формы распределения.

Средним значением выборки, или выборочным аналогом математического ожидания, называется величина $\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$,

где $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ – значения вариантов, n – число единиц совокупности. Среднее значение – это центр выборки, вокруг которого группируются элементы выборки. При увеличении числа наблюдений среднее приближается к математическому ожиданию.

Размах вариации (амплитуда, интервал) – это разность между наибольшим x_{mak} и наименьшим x_{min} значениями вариантов: $R = x_{mak} - x_{min}$. Этот показатель улавливает только крайние отклонения и не отражает отклонений всех вариантов в ряду.

Мода – элемент выборки с наиболее часто встречающимся значением (наиболее вероятная величина).

Медиана – это число, которое является серединой выборки, т.е. половина чисел имеет значения большие, чем медиана, а половина чисел имеет значения меньшие, чем медиана. Если ряд распределения дискретный и имеет нечетное число членов, то медианой будет варианта, находящаяся в середине упорядоченного ряда, т.е. элемент с номером $(n+1)/2$. Если число членов ряда четное, то медиана равна среднему членов ряда с номерами $n/2$ и $n/2+1$.

Основными обобщающими показателями вариации в статистике являются дисперсия и среднее квадратическое отклонение.

Дисперсия – это средняя арифметическая квадратов отклонений каждого значения признака от среднего значения выборки. Дисперсия вычисляется по формуле: $s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$. Дисперсия выборки – это параметр, характеризующий степень разброса элементов выборки относительно среднего значения.

Среднее квадратическое отклонение (выборочное стандартное отклонение) представляет собой корень квадратный из дисперсии $s = \sqrt{s^2}$. Параметр аналогичен дисперсии и используется в тех случаях, когда необ-

ходимо, чтобы показатель разброса случайной величины выражался в тех же единицах, что и среднее значение этой случайной величины. Часто среднее квадратичное отклонение обозначают буквой σ (сигма).

Стандартная ошибка (ошибка среднего) находится из выражения $m = \frac{s}{\sqrt{n}}$. Стандартная ошибка – это параметр, характеризующий степень

возможного отклонения среднего значения, полученного на исследуемой ограниченной выборке, от истинного среднего значения (математического ожидания), полученного на всей совокупности элементов. С помощью стандартной ошибки задается доверительный интервал для среднего. 95%-ный доверительный интервал, равный $\bar{x} \pm 2m$, обозначает диапазон, в который с вероятностью $p=0,95$ (при достаточно большом числе наблюдений $n>30$) попадает среднее генеральной совокупности.

Эксцесс и асимметрию используют для проверки гипотезы о том, что данные выборки принадлежат к определенному теоретическому распределению. **Эксцесс** – это степень выраженности «хвостов» распределения, т.е. частоты появления удаленных от среднего значений. Эксцесс измеряет «пикообразность» распределения. Если эксцесс значимо отличен от 0, то функция плотности либо имеет более закругленный (эксцесс отрицательный), либо более острый пик (эксцесс положительный), чем пик плотности нормального распределения. Функция плотности нормального распределения имеет эксцесс, равный 0. **Асимметрия** – величина, характеризующая несимметричность распределения элементов выборки относительно среднего значения. Принимает значения от -1 до 1. В случае симметричного распределения асимметрия равна 0.

В электронной таблице Excel имеется ряд специальных функций, предназначенных для вычисления выборочных характеристик.

МИН(число1;число2; ...) возвращает наименьшее значение в списке аргументов. Число1, число2, ... – от 1 до 30 чисел, среди которых требуется найти наименьшее. Вместо аргументов, разделенных точкой с запятой, можно также использовать массив или ссылку на массив.

МАКС(число1;число2; ...) возвращает наибольшее значение из набора значений.

СРЗНАЧ(число1; число2; ...) вычисляет среднее арифметическое из нескольких массивов (аргументов) чисел.

МЕДИАНА(число1;число2;...) позволяет получить медиану заданной выборки.

МОДА(число1;число2; ...) вычисляет наиболее часто встречающееся значение в выборке.

ДИСП(число1;число2; ...) позволяет оценить дисперсию по выборочным данным.

СТАНДОТКЛОН(число1; число2; ...) вычисляет стандартное отклонение.

СЧЕТ(значение1; значение2; ...) подсчитывает количество чисел в списке аргументов. Значение1, значение2, ... – это от 1 до 30 аргументов, которые могут содержать или ссылаться на данные различных типов, но в подсчете участвуют только числа.

СУММ(число1;число2; ...) суммирует все числа в интервале ячеек.

СУММКВ(число1;число2; ...) суммирует квадраты чисел в интервале ячеек.

Форму эмпирического распределения позволяют оценить специальные функции ЭКСЦЕСС и СКОС.

ЭКСЦЕСС(число1;число2; ...) вычисляет оценку эксцесса по выборочным данным. Можно использовать один массив или одну ссылку на массив вместо аргументов, разделяемых точкой с запятой.

СКОС(число1;число2; ...) позволяет оценить асимметрию выборочного распределения.

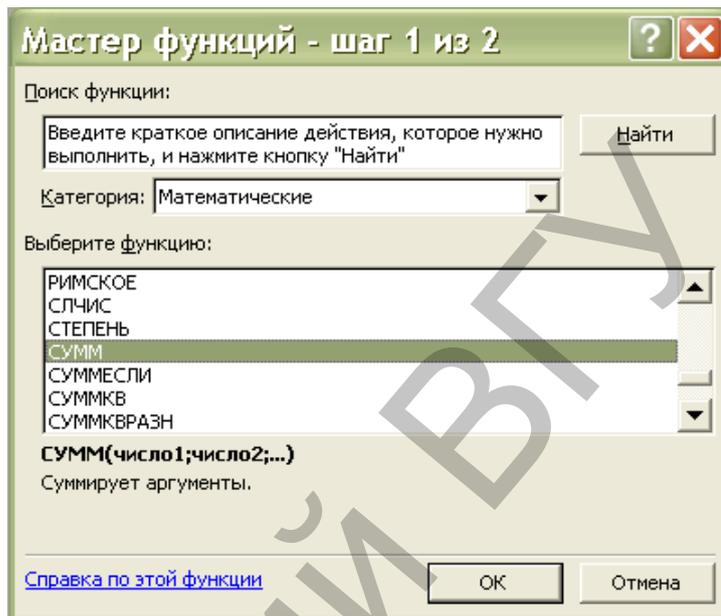
Задание 1. В рабочей зоне производились замеры концентрации вредного вещества. Получен ряд значений (в мг/м³): 12, 16, 15, 14, 10, 20, 16, 14, 18, 14, 15, 17, 23, 16. Необходимо определить основные выборочные характеристики.

Выполнение задания. Заполнить таблицу исходными данными и формулами для расчета основных статистик по следующему образцу:

	А	В	С	Д
1	Варианты	Отклонение от среднего		
2	12	=A2-\$B\$22		
3	16	=A3-\$B\$22		
4	15	=A4-\$B\$22		
5	14	=A5-\$B\$22		
6	10	=A6-\$B\$22		
7	20	=A7-\$B\$22		
8	16	=A8-\$B\$22		
9	14	=A9-\$B\$22		
10	18	=A10-\$B\$22		
11	14	=A11-\$B\$22		
12	15	=A12-\$B\$22		
13	17	=A13-\$B\$22		
14	23	=A14-\$B\$22		
15	16	=A15-\$B\$22		
16				
17	Сумма	=СУММ(A2:A15)		
18	Количество	=СЧЁТ(A2:A15)		
19	Минимум	=МИН(A2:A15)		
20	Максимум	=МАКС(A2:A15)		
21	Размах	=B20-B19		
22	Среднее	=СРЗНАЧ(A2:A15)	или	=B17/B18
23	Медиана	=МЕДИАНА(A2:A15)		
24	Мода	=МОДА(A2:A15)		
25	Дисперсия	=ДИСП(A2:A15)	или	=СУММКВ(B2:B15)/(B18-1)
26	Станд. отклонение	=СТАНДОТКЛОН(A2:A15)	или	=КОРЕНЬ(B25)
27	Станд. ошибка			=B26/КОРЕНЬ(B18)

Для ввода формул можно воспользоваться мастером функций. Например, для ввода формулы, подсчитывающей сумму чисел в диапазоне A2:A15, нужно установить курсор в ячейку B17, нажать знак «= \leftarrow » и щелкнуть

по кнопке  «Вставка функции» в строке формул, либо воспользоваться пунктом меню **Вставка, Функция** в строке меню. На экране появится диалоговое окно Мастера функций, в котором нужно выбрать категорию, функцию и нажать клавишу ОК. Пример заполнения окна:



На следующем шаге нужно указать аргументы функции, в данном случае в поле *Число 1* нужно ввести диапазон ячеек A2:A15, либо выделить данный диапазон с помощью мыши. Ввод других функций производится аналогично с учетом категории, к которой относится та или иная функция.

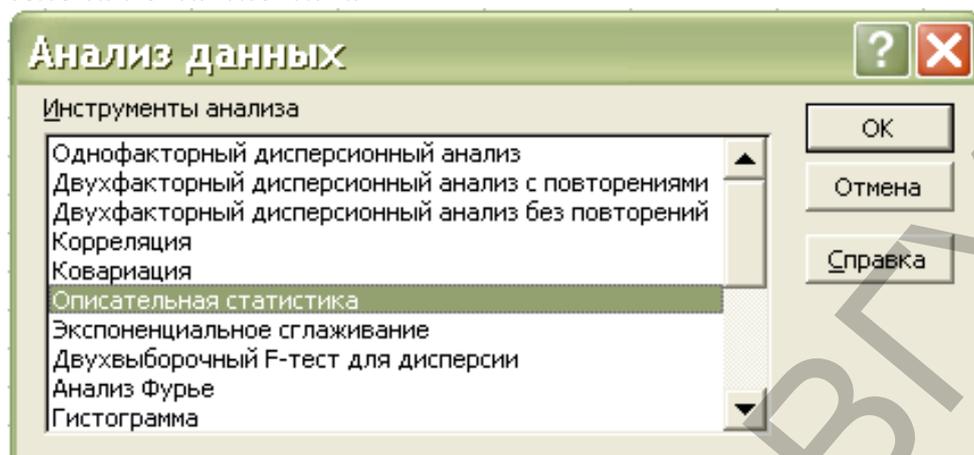
После того, как в таблицу будут введены все формулы, в результате расчетов получают следующие значения:

Сумма	220		
Количество	14		
Минимум	10		
Максимум	23		
Размах	13		
Среднее	15,71428571	или	15,71428571
Медиана	15,5		
Мода	16		
Дисперсия	10,37362637	или	10,37362637
Станд.отклонение	3,220811446	или	3,220811446
Станд.ошибка			0,860798067

Те же самые характеристики можно получить, используя имеющийся в пакете Excel набор более мощных инструментов для углубленного анализа данных.

Для использования Пакета Анализа нужно выбрать пункт меню **Сервис** и далее в раскрывающемся списке команду **Анализ данных**. Для опре-

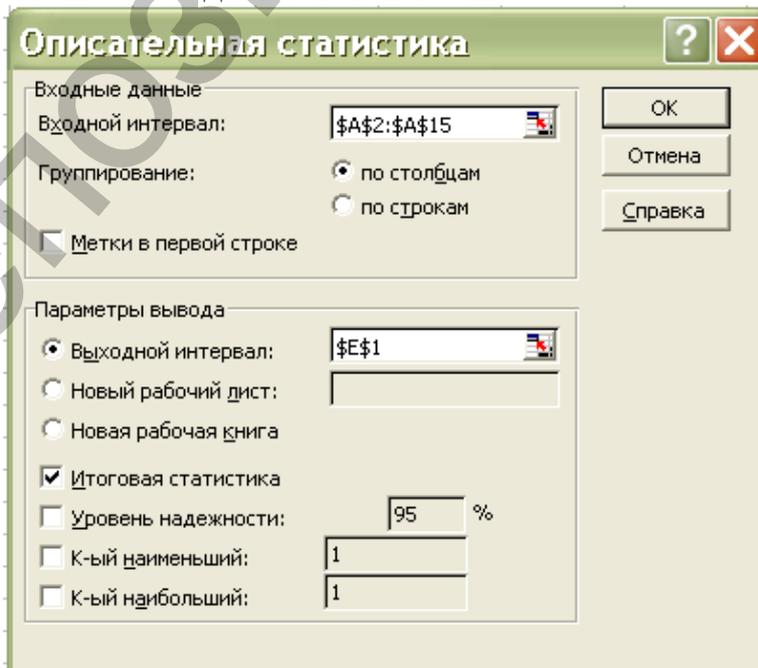
деления основных выборочных характеристик используется процедура **Описательная статистика**.



В появившемся диалоговом окне необходимо выполнить следующие действия:

- указать входной диапазон, то есть ввести ссылку на ячейки, содержащие анализируемые данные;
- установить переключатель в положение *Выходной интервал*;
- указать выходной диапазон, то есть ввести ссылку на ячейки, в которые будут выведены результаты анализа (указать адрес левой верхней ячейки выходного диапазона);
- в разделе *Группирование* переключатель установить в положение по столбцам;
- установить флажок в поле *Итоговая статистика*;
- нажать кнопку ОК.

Пример заполнения диалогового окна:



В результате анализа в указанном выходном диапазоне для столбца данных будут получены соответствующие результаты:

E	F
Столбец1	
Среднее	15,71428571
Стандартная ошибка	0,860798067
Медиана	15,5
Мода	16
Стандартное отклонение	3,220811446
Дисперсия выборки	10,37362637
Эксцесс	1,240199843
Асимметричность	0,606818867
Интервал	13
Минимум	10
Максимум	23
Сумма	220
Счет	14

Задание 2. Найти основные выборочные характеристики для вариационного ряда данных по заданному варианту.

Вариант 1. Данные: 10,03; 9,20; 5,00; 0,47; 2,02; 10,32; 11,11; 14,72; 14,12; 5,00; 10,53; 11,05; 9,78; 15,25; 11,56; 4,26; 5,00; 12,95; 14,01; 11,05.

Вариант 2. Данные: 17,27; 4,46; 9,24; 5,76; 0,53; 7,48; 8,56; 6,26; 10,06; 12,23; 9,73; 12,61; 17,33; 11,85; 10,72; 7,69; 19,52; 17,27; 9,78; 10,48.

Вариант 3. Данные: 3,91; 1,09; 17,25; 11,45; 17,22; 15,93; 14,14; 14,59; 11,16; 14,45; 14,95; 7,44; 18,12; 8,70; 17,25; 6,20; 13,63; 2,54; 19,33; 10,82.

Вариант 4. Данные: 2,04; 17,59; 5,38; 9,33; 17,59; 16,38; 21,23; 9,60; 11,92; 4,96; 6,26; 9,91; 22,54; 16,91; 9,00; 17,59; 7,06; 5,42; 8,96; 5,39.

Вариант 5. Данные: 12,84; 3,58; 17,50; 8,91; 12,47; 6,32; 9,20; 0,21; 3,65; 10,68; 2,32; 0,38; 16,74; 12,35; 15,04; 6,46; 3,58; 17,50; 15,96; 4,95.

Вариант 6. Данные: 11,73; 14,57; 6,08; 1,93; 7,91; 19,45; 10,01; 9,54; 16,72; 2,96; 20,86; 12,64; 13,24; 3,52; 19,52; 16,56; 14,02; 11,73; 7,98; 13,98.

Вариант 7. Данные: 13,41; 14,36; 13,10; 10,91; 1,47; 12,18; 4,70; 13,66; 17,72; 6,08; 13,89; 2,86; 4,97; 12,66; 4,95; 12,27; 10,91; 1,58; 13,35; 16,60.

Вариант 8. Данные: 5,37; 7,71; 10,80; 12,78; 13,20; 12,23; 4,05; 12,03; 2,84; 5,74; 12,81; 2,17; 12,08; 8,62; 12,93; 16,25; 6,19; 5,31; 10,80; 3,20.

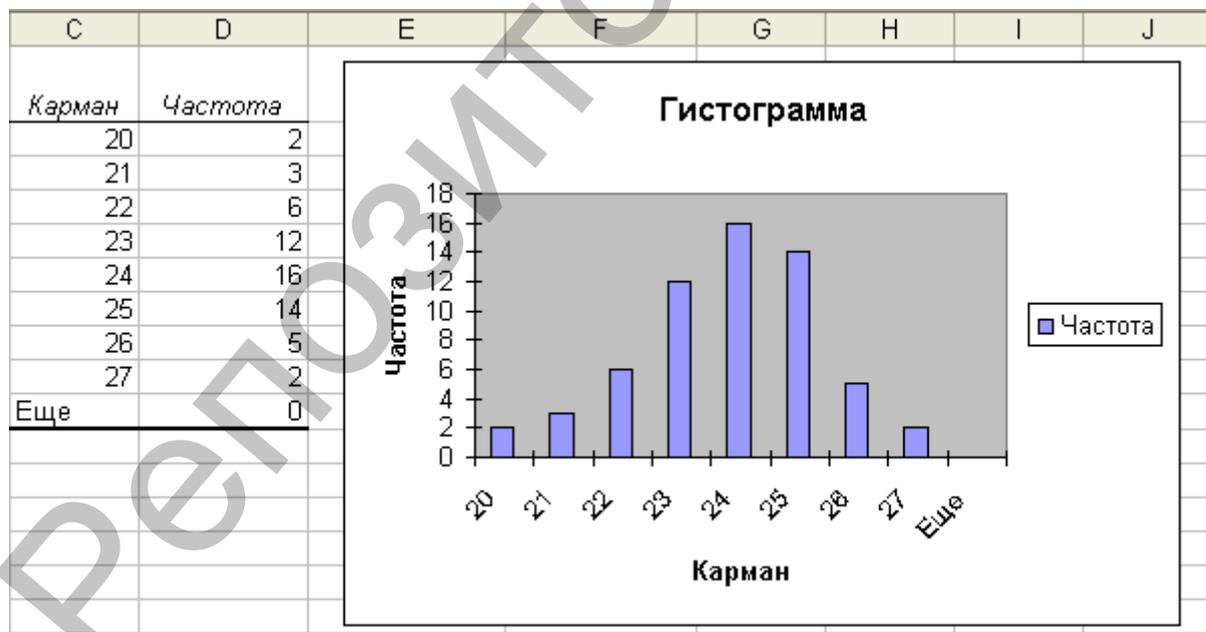
Вариант 9. Данные: 9,52; 12,12; 6,94; 8,12; 7,05; 9,35; 6,20; 5,74; 8,61; 17,20; 4,00; 6,67; 7,05; 8,63; 10,31; 2,48; 7,05; 8,74; 11,13; 8,28.

Вариант 10. Данные: 7,47; 9,43; 13,55; 8,76; 15,54; 11,32; 11,65; 9,37; 18,48; 2,75; 12,84; 11,20; 12,07; 9,94; 18,20; 2,25; 13,46; 13,04; 12,80; 7,47.

Пример заполнения диалогового окна:

	A	B	C	D	E	F	G
1	Вес	Интервалы	<div style="border: 1px solid gray; padding: 5px;"> <h3 style="text-align: center; margin: 0;">Гистограмма</h3> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> Входные данные ? ✖ </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Входной интервал: <input type="text" value="\$A\$2:\$A\$61"/></p> <p>Интервал карманов: <input type="text" value="\$B\$2:\$B\$9"/></p> <p><input type="checkbox"/> Метки</p> </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Параметры вывода</p> <p><input checked="" type="radio"/> Выходной интервал: <input type="text" value="\$C\$1"/></p> <p><input type="radio"/> Новый рабочий лист:</p> <p><input type="radio"/> Новая рабочая книга</p> <p><input type="checkbox"/> Парето (отсортированная гистограмма)</p> <p><input type="checkbox"/> Интегральный процент</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Вывод графика</p> </div> <div style="margin-top: 5px; text-align: right;"> <p>OK</p> <p>Отмена</p> <p>Справка</p> </div> </div>				
2	20	20					
3	20	21					
4	21	22					
5	21	23					
6	21	24					
7	22	25					
8	22	26					
9	22	27					
10	22						
11	22						
12	22						
13	23						
14	23						
15	23						
16	23						
17	23						

В результате анализа в выходном диапазоне начиная с указанной ячейки C1 будут получены соответствующие результаты:



Оценив визуально гистограмму, можно сделать предположение о близости данного распределения к нормальному.

Выборочные параметры распределения (эксцесс и асимметрия) говорят о нормальности распределения, если эксцесс и асимметрия близки

к нулю. Для расчета выборочных параметров распределения нужно заполнить диапазон ячеек C12:D13 текстом и формулами следующим образом:

	С	D
12	эксцесс	=ЭКЦЕСС(A2:A62)
13	асимметрия	=СКОС(A2:A62)

В результате расчетов будут получены следующие данные: эксцесс равен 0,043, а асимметрия -0,368 (отрицательный коэффициент асимметрии говорит о том, что распределение вытянуто в сторону положительных значений). Следует отметить, что на основании выборочных параметров распределения сколько-нибудь уверенно о нормальности закона распределения можно говорить, если имеется не менее 100 наблюдений. Поэтому целесообразно использовать несколько методов оценки, которые дополняют друг друга.

Использование критерия согласия хи-квадрат позволяет с определенной вероятностью утверждать, что наблюдаемые значения принадлежат к генеральной совокупности с нормальным законом распределения. Функция ХИ2-ТЕСТ вычисляет вероятность совпадения наблюдаемых (экспериментальных) и теоретических (вычисленных) значений. Если вероятность близка к единице, то это говорит о высокой степени соответствия экспериментальных данных нормальному закону распределения.

Для проведения вычислений понадобятся такие данные, как количество измерений, среднее значение и стандартное (среднеквадратическое) отклонение. Заполнить диапазон ячеек C14:D16 текстом и формулами следующим образом:

	С	D
14	количество	=СУММ(D2:D10)
15	среднее значение	=СРЗНАЧ(A2:A61)
16	станд.отклонение	=СТАНДОТКЛОН(A2:A61)

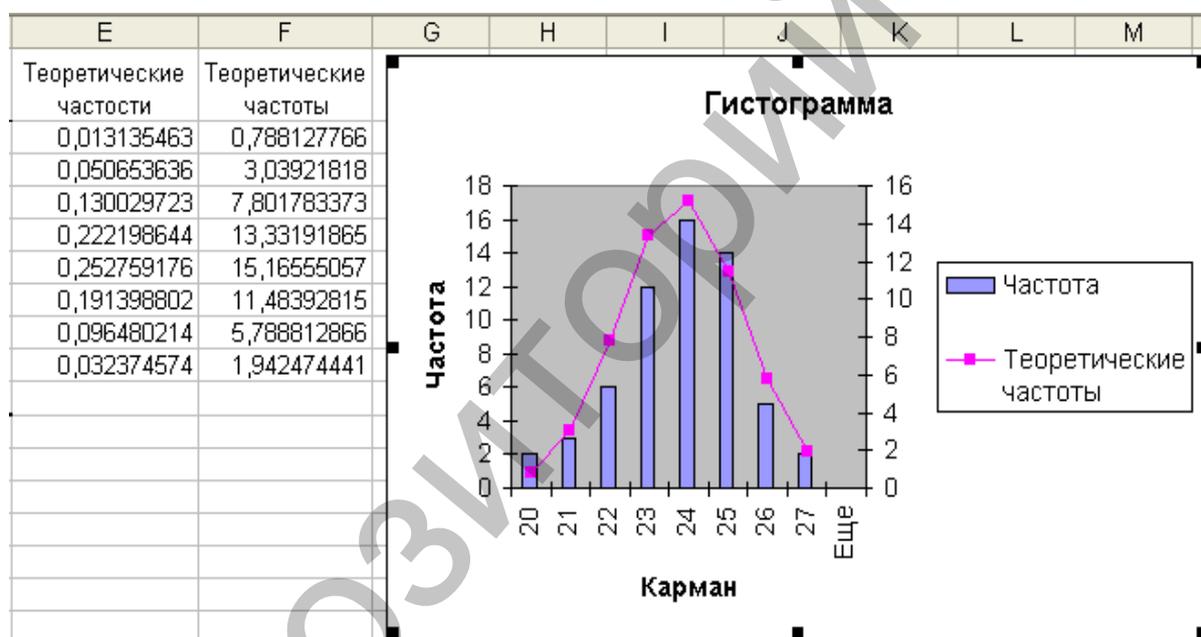
Результаты: количество измерений – 60; среднее значение – 23,817; стандартное отклонение – 1,568. Далее нужно получить теоретические частоты для нормального распределения с теми же параметрами, как у экспериментальных данных. Для решения этой задачи применяется функция НОРМРАСП(x;среднее;стандартное_откл;интегральная), где x – значение, для которого строится распределение; среднее – среднее арифметическое; стандартное_откл – стандартное отклонение; интегральная – логическое значение, определяющее форму функции.

В диапазон ячеек E1:F2 вводятся текст и формулы:

E	F
Теоретические частоты	Теоретические частоты
=НОРМРАСП(C2;\$D\$15;\$D\$16;0)	=E2*\$D\$14

Далее формулы из ячеек E2:F2 необходимо размножить на диапазон E3:F9. В результате в столбце F будут получены теоретические частоты.

Для визуализации данных целесообразно добавить полученные теоретические частоты к гистограмме: щелкнуть правой кнопкой мыши по гистограмме, выбрать пункт контекстного меню *Исходные данные*. В появившемся окне перейти на вкладку *Вид*, щелчком по кнопке *Добавить* добавить еще один ряд, в поле *Имя* указать ячейку F1, в поле *Значения* указать диапазон ячеек F2:F9. В результате будут получены данные и диаграмма следующего вида:



Для окончательного решения о виде распределения нужно ввести в ячейку C17 «Хи2-тест», а в ячейку D17 формулу =ХИ2ТЕСТ(D2:D9;F2:F9), где диапазон D2:D9 задает фактический интервал (интервал данных, которые содержат наблюдения, подлежащие сравнению с ожидаемыми значениями), а диапазон F2:F9 – ожидаемый интервал (интервал данных, который содержит теоретические значения для соответствующих наблюдаемых).

В результате будет вычислена вероятность соответствия экспериментальных данных нормальному закону распределения, равная 0,874. Поскольку полученная вероятность близка к единице, можно говорить, что данные не противоречат нормальному закону распределения.

Задание 2. Определить соответствие экспериментальных данных нормальному закону распределения для заданной выборки.

Вариант 1.

Данные: 50, 50, 51, 49, 50, 47, 50, 49, 52, 50, 51, 50, 49, 48, 51, 49, 53, 48, 50, 48, 48, 49, 48, 51, 49, 48, 52, 48, 50, 51, 49, 50, 51, 51, 50, 48, 50, 51, 50, 51, 52, 49, 52, 50, 53, 50, 51, 51, 49, 49, 52, 51, 50, 52, 51, 48, 51, 50, 51, 49.

Вариант 2.

Данные: 11, 8, 11, 12, 12, 13, 7, 10, 12, 8, 9, 7, 7, 9, 9, 7, 9, 9, 11, 9, 10, 9, 12, 10, 11, 9, 13, 11, 14, 9, 12, 8, 11, 11, 13, 11, 9, 11, 9, 11, 8, 9, 8, 9, 11, 11, 10, 13, 7, 9, 6, 12, 8, 9, 11, 11, 11, 11, 8, 8.

Вариант 3.

Данные: 30, 28, 30, 32, 32, 33, 27, 31, 32, 28, 30, 27, 27, 29, 29, 27, 30, 29, 30, 29, 32, 29, 32, 30, 30, 29, 33, 31, 34, 29, 32, 28, 31, 31, 33, 30, 30, 31, 29, 31, 28, 29, 28, 30, 30, 31, 30, 33, 27, 29, 26, 32, 28, 29, 31, 31, 31, 31, 28, 28.

Вариант 4.

Данные: 72, 70, 67, 69, 69, 72, 70, 71, 70, 69, 71, 70, 71, 69, 71, 70, 71, 71, 69, 71, 72, 71, 69, 71, 69, 68, 72, 72, 71, 68, 68, 69, 70, 68, 69, 71, 70, 68, 71, 72, 72, 70, 70, 69, 68, 69, 72, 68, 71, 70, 69, 70, 70, 73, 72, 70, 71, 70, 70, 68.

Вариант 5.

Данные: 20, 20, 20, 19, 20, 23, 22, 20, 20, 19, 23, 22, 21, 19, 19, 21, 22, 18, 19, 18, 20, 22, 21, 22, 22, 19, 21, 23, 21, 21, 18, 18, 21, 21, 22, 20, 17, 19, 21, 20, 18, 21, 22, 20, 22, 20, 17, 17, 18, 17, 22, 21, 19, 20, 20, 21, 18, 19, 23, 19.

Вариант 6.

Данные: 35, 36, 35, 34, 36, 33, 32, 38, 36, 38, 37, 37, 33, 36, 34, 36, 34, 35, 37, 37, 35, 36, 34, 38, 36, 35, 35, 33, 35, 34, 35, 36, 36, 35, 34, 33, 34, 38, 35, 36, 36, 32, 37, 37, 34, 35, 35, 33, 34, 36, 34, 37, 35, 34, 38, 34, 33, 37, 35, 33.

Вариант 7.

Данные: 15, 13, 15, 17, 17, 18, 12, 15, 17, 13, 14, 12, 12, 14, 14, 12, 13, 14, 15, 14, 15, 14, 17, 15, 15, 14, 18, 16, 19, 14, 17, 13, 16, 16, 18, 15, 14, 16, 14, 16, 13, 14, 13, 14, 15, 15, 15, 18, 12, 14, 11, 17, 13, 14, 16, 16, 16, 16, 13, 13.

Вариант 8.

Данные: 37, 37, 38, 36, 37, 34, 37, 36, 39, 37, 39, 37, 36, 34, 38, 36, 40, 35, 37, 35, 35, 36, 35, 38, 36, 35, 39, 35, 37, 38, 36, 37, 38, 38, 37, 34, 37, 38, 37, 38, 39, 36, 39, 37, 40, 37, 38, 38, 36, 36, 39, 38, 37, 39, 38, 35, 38, 37, 38, 36.

Вариант 9.

Данные: 92, 90, 87, 89, 89, 92, 90, 91, 90, 89, 91, 90, 91, 89, 91, 90, 91, 91, 89, 91, 92, 91, 89, 91, 89, 88, 92, 92, 91, 88, 88, 89, 90, 88, 89, 91, 90, 88, 91, 92, 92, 90, 90, 89, 88, 89, 92, 88, 91, 90, 89, 90, 90, 93, 92, 90, 91, 90, 90, 88.

Вариант 10.

Данные: 25, 25, 25, 24, 25, 28, 27, 25, 25, 24, 27, 27, 26, 24, 24, 26, 28, 23, 24, 23, 25, 28, 26, 27, 27, 24, 26, 28, 26, 26, 23, 23, 26, 26, 27, 25, 25, 24, 26, 25, 23, 26, 27, 25, 27, 25, 22, 22, 23, 22, 27, 26, 24, 25, 25, 26, 23, 24, 27, 24.

Лабораторная работа № 3
Тема: Определение доверительных интервалов
для среднего и медианы

При проведении биологических исследований изучаются, как правило, выборочные, а не генеральные совокупности. Возникает вопрос: в какой степени выборка отражает свойства генеральной совокупности, можно ли утверждать, что полученные путем исследования выборки статистические характеристики (средние величины, дисперсия и т.д.) равны характеристикам генеральной совокупности? Практика показывает, что рассчитанные выборочным путем числовые значения параметров являются лишь результатом приближенного статистического оценивания этих параметров генеральной совокупности. Рассмотрим задачу сравнения выборочного среднего со средним значением генеральной совокупности.

Уровень значимости – максимальное значение вероятности события, при котором событие считается практически невозможным. Как правило, рассматривают уровни значимости $\alpha=0,05$ и $\alpha=0,01$.

Величину $P=1-\alpha$ называют доверительной вероятностью или уровнем надежности. Эта величина используется, чтобы судить о статистической значимости принятого решения. Таким образом, статистическая значимость выборочных характеристик представляет собой меру уверенности в их «истинности». Уровень значимости находится в обратной зависимости от надежности результата. Более высокая статистическая значимость соответствует более низкому уровню доверия к полученному значению.

Доверительный интервал – это интервал, в котором с заданной доверительной вероятностью находится оцениваемая величина. Доверительный интервал используется для сравнения выборочного среднего арифметического со средним значением генеральной совокупности, из которой взята выборка. Ошибку утверждения о том, что выборочное среднее равно генеральному среднему, характеризует параметр m – стандартная ошибка среднего. Для принятой в большинстве исследований доверительной вероятности 0,95 доверительный интервал для средних равен $\pm 2m$. При доверительной вероятности 0,99 доверительный интервал принимают $\pm 3m$.

Для более точного определения границ доверительного интервала можно воспользоваться формулой: $M \pm t_{n,p} s / \sqrt{n}$, где M – среднее значение; n – количество элементов в выборке; s – стандартное отклонение; $t_{n,p}$ – табличное значение распределения Стьюдента с числом степеней свободы n и доверительной вероятностью p .

Задание 1. Имеются результаты обмера 1-летних сеянцев сосны обыкновенной. Диаметр у корневой шейки (в мм) составил: 1,33; 1,00; 1,54; 1,10; 1,45; 1,33; 1,25; 1,65; 1,42; 1,36; 1,20; 1,17; 1,75; 1,62; 1,24 мм.

Определить с уровнем значимости $\alpha=0,05$ доверительный интервал для среднего выборки.

Для решения данной задачи нужно ввести данные в диапазон ячеек A1:A15. Далее необходимо найти: среднее значение по выборке, стандартное отклонение, стандартную ошибку среднего. Расчетная таблица будет иметь следующий вид:

	А	В	С
1	1,33	Количество вариант n =	15
2	1	Среднее значение	=СРЗНАЧ(A1:A16)
3	1,54	Стандартное отклонение	=СТАНДОТКЛОН(A1:A16)
4	1,54	Стандартная ошибка среднего	=С3/КОРЕНЬ(С1)
5	1,1	Полуширина дов. интервала	=2*С4
6	1,45	Нижняя граница интервала	=С2-С5
7	1,33	Верхняя граница интервала	=С2+С5
8	1,25		

Результаты расчетов:

Количество вариант n =	15
Среднее значение	1,371875
Стандартное отклонение	0,210593408
Стандартная ошибка среднего	0,054374984
Полуширина доверительного интервала	0,108749968
Нижняя граница интервала	1,263125032
Верхняя граница интервала	1,480624968

Табличное значение распределения Стьюдента с числом степеней свободы 15 и доверительной вероятностью 95% можно определить с помощью функции СТЬЮДРАСПОБР(альфа; количество степеней свободы). Тогда величина полуширины доверительного интервала определяется с помощью формулы:

$$=СТЮДРАСПОБР(0,05;С1)*С3/КОРЕНЬ(С1).$$

Также в ЭТ Excel имеется функция для определения доверительного интервала: ДОВЕРИТ(альфа; стандартное отклонение; размер выборки). Для решения данной задачи обращение к функции будет иметь следующий вид: =ДОВЕРИТ(0,05;С3;С1). Ввести в таблицу указанные формулы и сравнить полученные результаты.

Еще проще воспользоваться описательной статистикой Пакета Анализа. В строке Уровень надежности(95,0%) 0,117948826 показана полуширина доверительного интервала для среднего. Округляя полученные значе-

ния, можно установить границы 95% доверительного интервала для среднего выборки – от 1,26 до 1,48 мм.

Для того чтобы определить доверительный интервал для «выпадающего» значения выборки, нужно умножить полученное выше значение ширины доверительного интервала для среднего на \sqrt{n} , где $n=15$ – количество вариантов: $0,109 * \sqrt{15} = 0,421187$. Таким образом, варианту можно отнести к данной статистической совокупности, если она попадает в интервал от 0,95 до 1,79. Этот метод предполагает нормальность распределения, когда в пределах от -2σ до 2σ лежат 95,5% всех вариантов.

Если распределение признака не является нормальным, либо вид распределения неизвестен, для описания выборки используют не среднее значение, а медиану и, соответственно, требуется определить доверительный интервал для медианы. Для этого нужно выполнить следующее: по таблице (см. приложение) с учетом объема выборки и доверительной вероятности найти ранги, значения которых соответствуют доверительному интервалу. Далее ранжировать значения признака и определить, которые из значений признака соответствуют табличным рангам.

Задание 2.

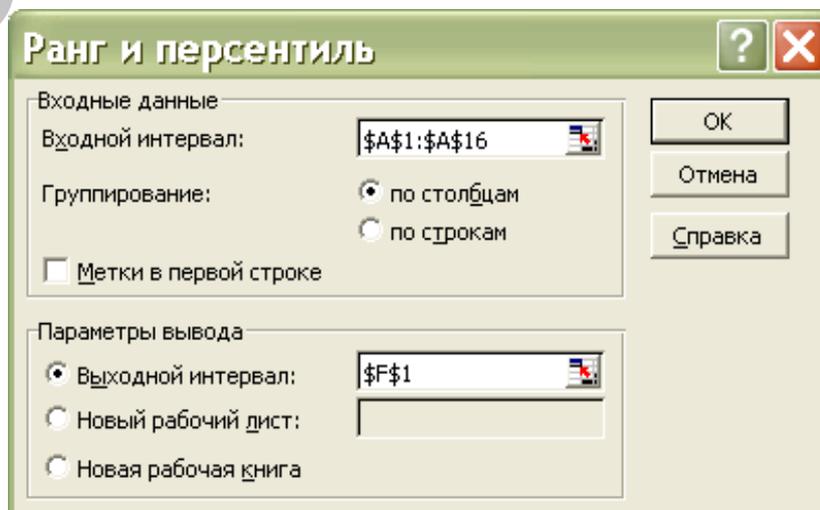
Найти для данных из задания 1 медиану и доверительный интервал для медианы с уровнем значимости $\alpha=0,05$.

Для нахождения медианы можно воспользоваться функцией МЕДИАНА(A1:A16) или процедурой **Описательная статистика** Пакета Анализа. Полученное значение равно 1,33.

Для определения рангов значений признака применяется Пакет Анализа: пункт меню **Сервис** и далее в раскрывающемся списке **Анализ данных**. Для ранжирования используется процедура **Ранг и перцентиль**.

В появившемся диалоговом окне необходимо выполнить следующие действия:

- задать *Входной интервал*, то есть ввести ссылку на диапазон анализируемых данных;
- указать *выходной диапазон*, то есть ввести ссылку на ячейки, в которые будут выведены результаты анализа (указать адрес левой верхней ячейки выходного диапазона).



После нажатия кнопки ОК будут получены следующие результаты: в столбце *Точка* находятся порядковые номера наблюдений; *Столбец1* – значения наблюдений, отсортированные в порядке убывания; *Ранг* – порядковые ранги наблюдений; *Процент* – процентные ранги.

Для заданного количества наблюдений, равного шестнадцати и уровня значимости $\alpha=0,05$ 4 и 13 ранги определяют нижнюю и верхнюю границы доверительного интервала для медианы. Этим рангам соответствуют значения наблюдений 1,54 и 1,2. Таким образом, доверительный интервал для медианы от 1,2 до 1,54.

F	G	H	I
Точка	Столбец1	Ранг	Процент
14	1,75	1	100,00%
9	1,65	2	93,30%
15	1,62	3	86,60%
3	1,54	4	73,30%
4	1,54	4	73,30%
6	1,45	6	66,60%
10	1,42	7	60,00%
11	1,36	8	53,30%
1	1,33	9	40,00%
7	1,33	9	40,00%
8	1,25	11	33,30%
16	1,24	12	26,60%
12	1,2	13	20,00%
13	1,17	14	13,30%
5	1,1	15	6,60%
2	1	16	,00%

Построение доверительных интервалов используется для сравнения выборки с генеральной совокупностью. Пусть известно среднее значение изучаемого признака генеральной совокупности. Необходимо сопоставить с ним среднее значение выборки. Одним из способов решения данной задачи является оценка изучаемого признака с помощью 95% доверительного интервала для среднего значения (в случае нормального закона распределения изучаемого признака) или медианы (если вид распределения не является нормальным или неизвестен).

Задание 3. Пусть имеются данные по росту детей в возрасте 10 лет (в см): 138, 139, 134, 128, 130, 145, 128, 129, 132, 133. Известно из исследований, что средний рост детей такого возраста составляет 140 см. Определить, не отстают ли в росте дети исследуемой группы.

Для решения задачи необходимо ввести в таблицу данные о росте детей. Предположим, выборка имеет нормальное распределение. Далее необходимо определить среднее значение и доверительный интервал для среднего выборки; рассчитать значения верхней и нижней границ доверительного интервала. Получаются следующие результаты:

среднее значение выборки	133,6
полуширина доверительного интервала	4,45
нижняя граница доверительного интервала	130
верхняя граница доверительного интервала	137

Если рассчитанный доверительный интервал не включает среднее значение генеральной совокупности, то с определенной доверительной вероятностью можно утверждать, что выборка статистически отличается от генеральной совокупности. В данном случае, так как известное среднее генеральной совокупности 140 см не входит в доверительный интервал от

130 до 137 см, можно утверждать с доверительной вероятностью 95%, что в исследуемой группе дети отстают по росту от сверстников.

Если выборка имеет распределение, отличное от нормального, необходимо найти медиану выборки и доверительный интервал для медианы. Медиану можно найти с помощью соответствующей функции или используя процедуру **Описательная статистика** Пакета Анализа. Для данной выборки медиана равна 132,5 см.

По таблице (см. приложение к лабораторной работе № 3) определяем, что доверительный интервал для 10 измерений и $\alpha=0,05$ определяется 2 и 9 рангами. С помощью процедуры **Ранг и перцентиль** Пакета Анализа находим ранги и соответствующие им значения выборки, которые составляют 139 и 128 см.

Рост	145	139	138	134	133	132	130	129	128	128
Ранг	1	2	3	4	5	6	7	8	9	9

Известное среднее генеральной совокупности 140 см не входит в доверительный интервал для данной выборки от 128 до 139 см, следовательно, можно утверждать с доверительной вероятностью 95%, что в исследуемой группе дети отстают по росту от сверстников.

Задание 4. Пусть имеются данные по результатам измерений в выборке и значение среднего (медианы) в генеральной совокупности. Определить с уровнем значимости $\alpha=0,05$, отличается ли выборка от генеральной совокупности. Рассмотреть два случая: данные распределены по нормальному закону и закон распределения данных неизвестен.

Вариант 1. Данные: 12, 9, 10, 10, 2, 7, 16, 11, 14, 8, 4, 18, 12, 9, 13, 2, 17, 0, 8, 27, 12, 5. Среднее (медиана) = 14.

Вариант 2. Данные: 16, 12, 20, 12, 13, 9, 6, 13, 15, 14, 10, 6, 10, 16, 12, 14, 11, 13, 12, 14. Среднее (медиана) = 12.

Вариант 3. Данные: 4, 11, 1, 12, 10, 13, 1, 13, 3, 7, 1, 1, 3, 2, 6, 17, 3, 1, 11, 3, 9, 12, 14, 8. Среднее (медиана) = 11.

Вариант 4. Данные: 9, 15, 1, 3, 9, 15, 14, 17, 8, 16, 13, 15, 6, 16, 9, 7, 11, 7, 11, 10, 9, 12, 1. Среднее (медиана) = 12.

Вариант 5. Данные: 18, 14, 7, 22, 12, 17, 19, 15, 12, 12, 12, 15, 15, 8, 9, 15, 16, 16, 14, 9. Среднее (медиана) = 15.

Вариант 6. Данные: 2, 9, 7, 22, 13, 5, 7, 10, 9, 13, 7, 6, 12, 7, 10, 10, 21, 15, 11, 10, 4, 5, 8. Среднее (медиана) = 10.

Вариант 7. Данные: 19, 11, 10, 12, 13, 17, 23, 14, 14, 10, 7, 24, 11, 15, 12, 5, 4, 0, 18, 11, 1. Среднее (медиана) = 17.

Вариант 8. Данные: 8, 6, 14, 12, 3, 10, 10, 6, 10, 19, 14, 7, 10, 16, 12, 12, 13, 12, 17, 13, 5. Среднее (медиана) = 11.

Вариант 9. Данные: 12, 11, 5, 20, 11, 12, 16, 15, 9, 16, 9, 15, 14, 9, 13, 7, 7, 11, 10, 14, 5. Среднее (медиана) = 10.

Вариант 10. Данные: 14, 8, 12, 9, 7, 18, 5, 3, 9, 14, 16, 6, 21, 17, 8, 11, 12, 8, 9, 13, 10, 11. Среднее (медиана) = 12.

Приложение к лабораторной работе № 3

Ранги, с помощью которых вычисляется доверительный интервал для медианы распределения

Объем выборки	Уровень значимости (доверительная вероятность)		
	$\alpha=0,1$ (90%)	$\alpha=0,05$ (95%)	$\alpha=0,01$ (99%)
10	2; 9	2; 9	1; 10
11	3; 9	2; 10	1; 11
12	3; 10	3; 10	2; 11
13	4; 10	3; 11	2; 12
14	4; 11	3; 12	2; 13
15	4; 12	4; 12	3; 13
16	5; 12	4; 13	3; 14
17	5; 13	5; 13	3; 15
18	6; 13	5; 14	4; 15
19	6; 14	5; 15	4; 16
20	6; 15	6; 15	4; 17
21	7; 15	6; 16	5; 17
22	7; 16	6; 17	5; 18
23	8; 16	7; 17	5; 19
24	8; 17	7; 18	6; 19
25	8; 18	8; 18	6; 20
26	9; 18	8; 19	7; 20
27	9; 19	8; 20	7; 21
28	10; 19	9; 20	7; 22
29	10; 20	9; 21	8; 22
30	11; 20	10; 21	8; 23
35	13; 23	12; 24	10; 26
40	15; 26	14; 27	12; 29
45	17; 29	16; 30	14; 32
50	19; 32	18; 33	16; 35
55	21; 35	20; 36	18; 38
60	24; 37	22; 39	20; 41
65	26; 40	25; 41	22; 44
70	28; 43	27; 44	24; 47
75	30; 46	29; 47	26; 50
80	33; 58	31; 50	29; 52
85	35; 51	33; 53	31; 55
90	37; 54	36; 55	33; 58
95	39; 57	38; 58	35; 61
100	42; 59	40; 61	37; 64

Лабораторная работа № 4

Тема: Корреляционный анализ

Корреляционный анализ служит для выявления взаимосвязей между рядами наблюдений. В качестве меры связи используется коэффициент корреляции R – параметр, характеризующий степень взаимосвязи между выборками. Наибольшее распространение получил коэффициент линейной корреляции (Пирсона), предполагающий нормальный закон распределения наблюдений. Пределы изменения коэффициента корреляции от -1 (обратная зависимость) до 1 (прямая зависимость). При значении, равном нулю, зависимость между двумя выборками отсутствует. Для оценки степени взаимосвязи существуют следующие эмпирические правила. При $|R| > 0,95$ (без учета знака), то принято считать, что между выборками существует практически полная линейная корреляционная связь; $0,7 < |R| < 0,95$ – сильная корреляционная связь; $0,3 < |R| < 0,7$ – связь средней силы; $0 < |R| < 0,3$ – слабая корреляционная связь.

В ходе корреляционного анализа решаются следующие задачи: установление направления (прямая или обратная) корреляционная связь и оценка тесноты (силы, плотности) связи. Расчет коэффициента корреляции (Пирсона) производится по следующей формуле:

$$R = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right) \left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right)}}$$

где x и y – ряды наблюдения, между которыми нужно установить связь, а n – число наблюдений в каждом ряду:

Задание 1. Требуется определить, имеется ли связь между количеством ошибок, допускаемых при работе с компьютерным текстом, от длительности работы на компьютере. Для выполнения задания необходимо ввести в таблицу исходные данные: число ошибок (x) и время работы (y) и выполнить вычисления промежуточных величин следующим образом:

	A	B	C	D	E
1	x	y	x^2	y^2	x*y
2	6	1	=A2^2	=B2^2	=A2*B2
3	8	1	=A3^2	=B3^2	=A3*B3
4	7	2	=A4^2	=B4^2	=A4*B4
5	6	3	=A5^2	=B5^2	=A5*B5
6	6	3	=A6^2	=B6^2	=A6*B6
7	5	4	=A7^2	=B7^2	=A7*B7
8	8	5	=A8^2	=B8^2	=A8*B8
9	6	5	=A9^2	=B9^2	=A9*B9
10	9	6	=A10^2	=B10^2	=A10*B10
11	9	6	=A11^2	=B11^2	=A11*B11
12	=СУММ(A2:A11)	=СУММ(B2:B11)	=СУММ(C2:C11)	=СУММ(D2:D11)	=СУММ(E2:E11)

Для расчета коэффициента корреляции необходимо ввести в одну из ячеек таблицы, например, в ячейку B14 следующую формулу:

$$=(E12-A12*B12/10)/КОРЕНЬ((C12-A12^2/10)*(D12-B12^2/10)).$$

В результате расчетов будет получена таблица следующего вида:

	A	B	C	D	E
1	x	y	x^2	y^2	x*y
2	6	1	36	1	6
3	8	1	64	1	8
4	7	2	49	4	14
5	6	3	36	9	18
6	6	3	36	9	18
7	5	4	25	16	20
8	8	5	64	25	40
9	6	5	36	25	30
10	9	6	81	36	54
11	9	6	81	36	54
12	70	36	508	162	262
13					
14	R=	0,41409			

Как видно из полученного результата, между числом ошибок и длительностью работы есть прямая корреляционная связь средней силы. В данном случае, по-видимому, можно говорить о причинно-следственной связи между этими факторами.

Однако утверждать, что утомляемость связана только с длительностью работы нельзя.

С помощью коэффициента детерминации R^2 можно определить долю влияния анализируемого признака на результативный признак. Если учесть, что длительность рабочего дня является не единственным фактором, способствующим развитию усталости, то R^2 показывает долю тех изменений, которые обусловлены анализируемым фактором. В данном случае $R^2 = 0,41409^2 \approx 0,17$, то есть доля влияния продолжительности дня на усталость – 17%. Следовательно, на долю других факторов развития усталости приходится 83% влияния.

Расчет коэффициента корреляции можно также выполнить с помощью статистической функции КОРРЕЛ(массив1;массив2), в данном случае в ячейку вводится следующая формула: =КОРРЕЛ(A2:A11;B2:B11).

Для оценки достоверности корреляционной связи вычисляется ошибка коэффициента корреляции m_R по формуле: $m_R = \frac{1-R^2}{\sqrt{n-2}}$, где n –

число наблюдений. Для того, чтобы результат можно было признать статистически достоверным, необходимо, чтобы абсолютное значение коэффициента корреляции R превышало ошибку m_R не менее чем в два раза.

В данном примере $m_R=0,29293$ (провести вычисления самостоятельно).

Если рядов наблюдений больше двух, получаемые коэффициенты сводят в корреляционную матрицу. Корреляционная матрица – это таблица, в которой на пересечении соответствующих строки и столбца находится коэффициент корреляции между соответствующими параметрами. В Excel для получения корреляционной матрицы используется процедура Пакета анализа *Корреляция*.

Задание 2. Имеются результаты ежемесячных наблюдений за состоянием погоды и посещаемостью кинотеатра, парка и бассейна. Необхо-

можно определить, существует ли связь между состоянием погоды и посещаемостью кинотеатра, парка и бассейна. Данные представлены в следующей таблице:

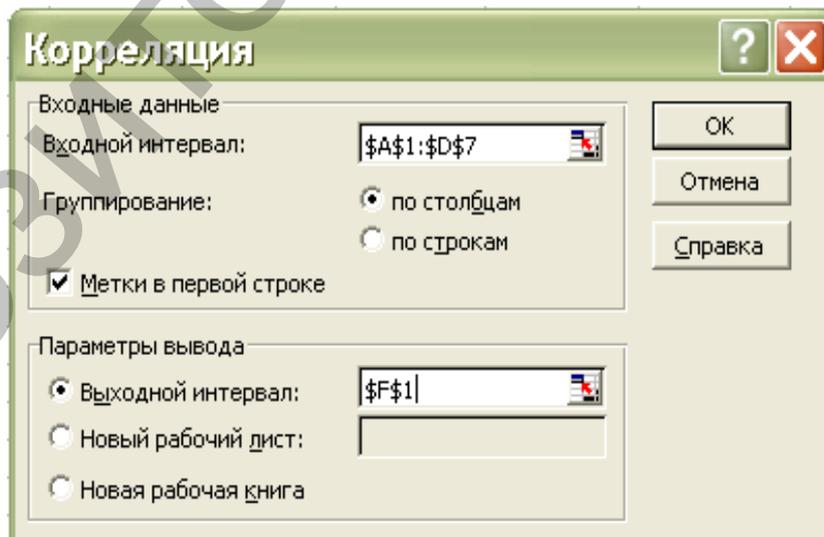
Число ясных дней	Количество посетителей кинотеатров	Количество посетителей парков	Количество посетителей бассейнов
8	495	132	164
14	503	348	182
20	380	643	153
25	305	865	203
20	348	743	169
15	465	541	199

Выполнение задания: ввести данные в таблицу в диапазон ячеек A1:D7 (в первой строке расположить заголовки столбцов данных).

Для использования Пакета Анализа выбрать пункт меню **Сервис** и далее в раскрывающемся списке команду **Анализ данных**. Для проведения регрессионного анализа используется процедура **Корреляция**.

В появившемся диалоговом окне необходимо выполнить следующие действия:

- задать *Входной интервал*, то есть ввести ссылку на диапазон анализируемых данных;
- указать выходной диапазон, то есть ввести ссылку на ячейки, в которые будут выведены результаты анализа (указать адрес левой верхней ячейки выходного диапазона).



После нажатия кнопки ОК будут получены следующие результаты:

	<i>ясн.дни</i>	<i>кинотеатры</i>	<i>парки</i>	<i>бассейны</i>
<i>ясн.дни</i>	1			
<i>кинотеатры</i>	-0,9218543	1		
<i>парки</i>	0,9745756	-0,919375244	1	
<i>бассейны</i>	0,2877364	-0,120007005	0,3244702	1

Интерпретация результатов: из таблицы видно, что корреляция между состоянием погоды и посещаемостью кинотеатра равна $-0,922$ (сильная отрицательная связь); между состоянием погоды и посещаемостью парка $0,975$ (практически полная положительная корреляционная связь); между состоянием погоды и посещаемостью бассейна $0,288$ (слабая положительная корреляционная связь). Также можно определить, что между посещаемостью кинотеатра и парка имеется сильная отрицательная связь ($R = -0,919$), а связь между посещаемостью кинотеатра и бассейна практически отсутствует ($R = -0,12$).

Задание 3.

Вариант 1. Определить, имеется ли связь между систолическим и диастолическим артериальным давлением:

АД систолическое	120	130	160	145	130	120	170	130	110	140
АД диастолическое	80	90	100	95	90	80	100	90	80	100

Вариант 2. Определить, имеется ли связь между массой листьев и массой стебля растения (кг):

Масса листьев	0,03	0,21	0,03	0,10	0,07	0,17	0,03	0,28	0,03	0,22
Масса стебля	0,01	0,87	0,01	0,06	0,04	0,13	0,01	0,68	0,01	0,14

Вариант 3. Определить, имеется ли связь между форсированной жизненной емкостью легких % (X) и объемом форсированного выдоха % (Y):

X	123,8	127,5	119,6	122,3	126,4	120,2	125,6	121,5	119,8	127,4
Y	111,8	115,4	108,2	111,4	115,5	109,5	111,2	110,4	110,5	111,9

Вариант 4. Определить, имеется ли связь между высотой главного стебля и количеством листьев растения:

Высота стебля	9	67	7	23	21	37	8	67	10	38
Количество листьев	28	60	20	46	53	68	24	101	25	68

Вариант 5. Определить, имеется ли связь между длиной надземной части и длиной корней сеянцев сосны обыкновенной:

Длина надз. части	3,6	2,3	2,9	2,6	3,1	3,2	3,5	4,2	5,1	3,2
Длина корней	20,5	19,5	14,2	14,9	14,5	15,8	11,4	17,6	19,4	21,5

Вариант 6. Определить, имеется ли связь между протромбиновым индексом и фибриногеном:

Протромбиновый индекс	82	75	66	72	78	70	67	81	64	77
Фибриноген	3,3	3,8	4,2	3,2	3,8	3,4	3,9	3,4	4,5	3,2

Вариант 7. Определить, имеется ли связь между высотой дерева (дуб) и длиной его кроны:

Высота дерева	9,8	10	12,8	14	15	17	16,5	10,4	13,7	5,9
Длина кроны	6	7	10,5	7,2	7	13	10	8,4	4,5	4,4

Вариант 8. Определить, имеется ли связь между возрастом и индексом массы тела:

Возраст	16	19	14	20	18	16	18	20	19	20
ИМТ	21	28	21	33	24	22	19	20	24	27

Вариант 9. Определить, имеется ли связь между массой стебля и площадью листьев растения:

Масса стебля	0,01	0,87	0,01	0,06	0,04	0,13	0,01	0,68	0,01	0,14
Площадь листьев	11,27	55,7	11,15	41,5	25,0	46,86	7,79	112,1	10,35	62,77

Вариант 10. Определить, имеется ли связь между диаметром у корневой шейки и длиной хвои сеянцев сосны обыкновенной:

Диаметр у корневой шейки	1,33	1,1	1,54	1,1	1,45	1,33	1,25	1,65	1,42	1,36
Длина хвои	3,1	2,5	2,6	2,5	2,6	2,5	2,8	3,3	2,6	2,7

Задание 4. Для 20 работников предприятия были проанализированы следующие показатели:

- квалификация (разряд);
- трудовой стаж;
- оценка работника с точки зрения руководителя (по 5-балльной шкале);
- количество нарушений трудовой дисциплины в течение года;
- количество пропущенных по болезни дней;
- средняя заработная плата;
- процент брака.

Определить, имеется ли связь между средней заработной платой и процентом брака с квалификацией, стажем, оценкой, количеством нарушений и количеством пропущенных по болезни дней. Использовать процедуру *Корреляция* Пакета Анализа.

Исходные данные:

№	Квалификация	Разряд	Оценка	Количество нарушений	Кол-во дней по болезни	Средняя заработная плата	Процент брака
1	4	10	3	3	18	225	6,2
2	3	6	3	11	6	220	4,3
3	3	10	3	4	0	211	5,3
4	5	18	3	0	3	243	5,2
5	6	26	5	1	4	322	4,4
6	4	8	3	0	4	277	4,3
7	4	21	3	0	0	300	3,3
8	3	13	4	3	4	225	4,2
9	5	8	3	0	0	327	3,6
10	3	15	3	0	0	231	5,4
11	4	11	3	3	0	272	5,2
12	6	18	3	0	12	353	5,3
13	3	8	3	2	4	199	6,3
14	3	10	4	2	0	221	5,2
15	3	8	3	3	4	202	6,2
16	2	13	3	7	5	207	5,3
17	4	18	3	0	0	218	5,4
18	3	8	3	0	0	203	6,2
19	3	10	4	2	4	196	6,3
20	3	8	3	3	5	198	6,1

Лабораторная работа № 5

Тема: Регрессионный анализ

В регрессионном анализе рассматривается связь между одной переменной, называемой зависимой переменной, и несколькими другими, называемыми независимыми переменными. Эта связь представляется с помощью математической модели, т.е. уравнения, которое связывает зависимую переменную с независимыми с помощью функции регрессии.

В линейном регрессионном анализе связь между случайными величинами предполагается линейной. В этом случае в линейной регрессионной модели имеются две переменные x и y . Требуется по n парам наблюдений $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$ построить прямую линию, называемую линией регрессии, которая наилучшим образом приближает наблюдаемые значения. Уравнение этой линии $y=ax+b$. С помощью уравнения регрессии

можно предсказать ожидаемое значение зависимой величины y , соответствующее заданному значению независимой переменной x .

Математическое решение уравнения линейной регрессии сводится к вычислению параметров a и b таким образом, чтобы точки исходных данных как можно ближе лежали к линии регрессии. Для этого вычисляют параметры по формулам, которые обеспечивают наименьший квадрат отклонений этих точек от линии регрессии (метод наименьших квадратов):

$$a = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}; \quad b = \frac{\sum x^2 \sum y - \sum x \sum xy}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}.$$

Задание 1. Найти уравнение регрессии по данным пяти наблюдений ($n=5$) зависимой и независимой переменных y и x .

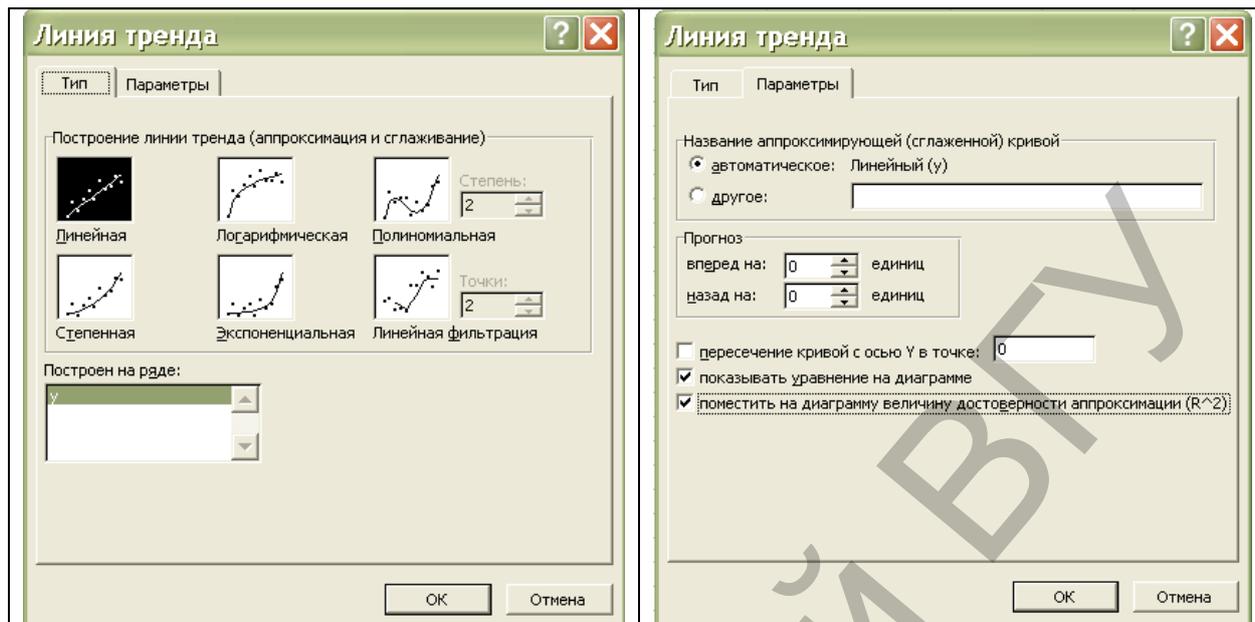
Для выполнения задания заполнить расчетную таблицу следующим образом: в диапазон ячеек A2:A5 ввести номер наблюдения; B2:B5 – значения переменной x ; C2:C5 – значения переменной y ; в столбец D – формулы для расчета x^2 ; в столбец E – формулы для расчета произведения xy . В ячейках седьмой строки с помощью функции СУММ() рассчитываются суммы по каждому столбцу. В ячейки F1 и F2 вводится текст «a» и «b», а в ячейки G1 и G2 – формулы для расчета параметров a и b .

	A	B	C	D	E	F	G
1	i	x	y	x^2	x*y	a	= (5*E7-B7*C7)/(5*D7-B7^2)
2	1	2	2,6	=B2^2	=B2*C2	b	= (D7*C7-B7*E7)/(5*D7-B7^2)
3	2	3	2,4	=B3^2	=B3*C3		
4	3	4	1,8	=B4^2	=B4*C4		
5	4	5	1,1	=B5^2	=B5*C5		
6	5	7	1,3	=B6^2	=B6*C6		
7		=СУММ(B2:B6)	=СУММ(C2:C6)	=СУММ(D2:D6)	=СУММ(E2:E6)		

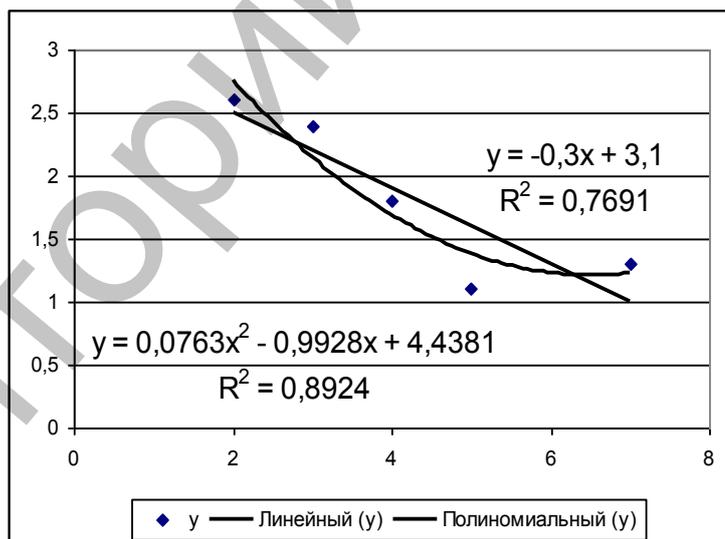
В итоге получаются следующие результаты: $a = -0,3$ и $b = 3,1$. Искомое уравнение регрессии $y = -0,3x + 3,1$.

Одним из самых удобных и практичных способов регрессионного анализа в Excel – использование мастера диаграмм (**Вставка/Диаграмма**). В окне мастера диаграмм необходимо выбрать точечный тип диаграммы и ее вид соединений без точек; на следующем шаге указать диапазон ячеек с исходными данными B1:C6 и отметить, что ряды данных находятся в столбцах. Для завершения построения диаграммы необходимо указать ее название и место размещения (текущий или новый лист).

Для получения линии регрессии на появившейся диаграмме нужно выделить щелчком левой клавиши мыши ряд полученных точек, а затем щелчком правой клавиши мыши вызвать контекстное меню и в списке команд выбрать **Добавить линию тренда**. В окне «Линия тренда» нужно установить тип «Линейная», затем перейти во вкладку **Параметры** и выделить поля «показывать уравнение на диаграмме» и «поместить на диаграмму величину достоверности аппроксимации»:



На диаграмме появится окно с автоматически вычисленным уравнением линейной регрессии, а также значение коэффициента детерминации R -квадрат, который является мерой эффективности регрессионной модели. Коэффициент детерминации определяет, с какой степенью точности полученное регрессионное уравнение описывает (аппроксимирует) исходные данные.



Максимально возможное значение R -квадрат равно 1. Если R -квадрат больше 0,95, говорят о высокой степени аппроксимации. Если R -квадрат лежит в диапазоне от 0,8 до 0,95, говорят об удовлетворительной аппроксимации. Если R -квадрат меньше 0,6, принято считать, что точность аппроксимации недостаточна и модель требует улучшения. С помощью этого коэффициента можно путем подбора выбрать уравнение регрессии наиболее полно аппроксимирующее ту или иную взаимосвязь. В данном примере полиномиальное уравнение линии тренда лучше приближает исходные данные, нежели линейное.

В случае если исследуется зависимость между одной зависимой переменной и несколькими независимыми, строят уравнение множественной линейной регрессии: $y = a_0 + a_1x_1 + \dots + a_nx_n$. Более глубоко регрессионный анализ позволяет проводить процедура **Регрессия** надстройки «Пакет ана-

лиза», в котором экспериментальные данные аппроксимируются линейным уравнением 16 порядка ($n=16$).

Задание 2.

Имеются следующие данные:

x_1 – масса листьев одного растения, г;

x_2 – масса стебля одного растения, г;

x_3 – площадь листьев одного растения, см кв;

x_4 – высота главного стебля;

y – масса всего растения, г.

Требуется построить регрессионное уравнение вида

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4,$$

определив значения коэффициентов a_0, a_1, a_2, a_3, a_4 .

Выполнение задания:

ввести данные в таблицу в диапазон ячеек A1:E22 (в первой строке расположить заголовки столбцов данных).

Для использования Пакета Анализа нужно выбрать пункт меню **Сервис** и далее в раскрывающемся списке команду **Анализ данных**. Для проведения регрессионного анализа используется процедура **Регрессия**.

В появившемся диалоговом окне необходимо выполнить следующие действия:

- задать *Входной интервал Y*, то есть ввести ссылку на диапазон анализируемых зависимых данных, содержащих один столбец данных;
- задать *Входной интервал X*, то есть ввести ссылку на диапазон анализируемых независимых данных, содержащих один или несколько столбцов данных (до 16 столбцов, в данном задании используется 4 столбца);
- указать выходной диапазон, то есть ввести ссылку на ячейки, в которые будут выведены результаты анализа (указать адрес левой верхней ячейки выходного диапазона);
- если необходимо визуально проверить отличие экспериментальных точек от предсказанных по регрессионной модели, следует установить флажок в поле *График подбора*;
- нажать кнопку ОК.

Пример заполнения диалогового окна:

x_1	x_2	x_3	x_4	y
0,032	0,009	11,270	9	0,041
0,029	0,008	11,150	7	0,038
0,025	0,007	7,785	8	0,033
0,031	0,011	10,350	10	0,042
0,070	0,035	25,000	19	0,106
0,070	0,035	25,000	21	0,105
0,064	0,029	26,165	15	0,095
0,046	0,024	16,335	14	0,070
0,079	0,030	25,950	18	0,108
0,167	0,134	46,860	33	0,301
0,167	0,134	46,860	37	0,301
0,127	0,102	39,145	34	0,229
0,127	0,102	39,145	30	0,229
0,150	0,119	42,580	28	0,268
0,150	0,119	42,580	38	0,268
0,140	0,098	39,310	29	0,238
0,217	0,042	31,590	40	0,258
0,280	0,796	106,890	64	1,542
0,280	0,796	106,900	59	1,541
0,276	0,677	112,040	67	1,068
0,276	0,677	112,050	64	1,068

Выходной диапазон будет включать в себя результаты дисперсионного анализа, коэффициенты регрессии, стандартную погрешность вычисления y , среднеквадратичные отклонения, число наблюдений, стандартные погрешности для коэффициентов.

Интерпретация результатов.

В таблице *Регрессионная статистика* приводится значение коэффициента детерминации R -квадрат, которое определяет, с какой точностью полученное регрессионное уравнение аппроксимирует исходные данные. Поскольку R -квадрат больше 0,95, можно говорить о высокой точности аппроксимации.

	G	H	I	J	K	L
ВЫВОД ИТОГОВ						
<i>Регрессионная статистика</i>						
Множественный R		0,996103077				
R-квадрат		0,99222134				
Нормированный R-квадрат		0,990276675				
Стандартная ошибка		0,047451487				
Наблюдения		21				
<i>Дисперсионный анализ</i>						
		<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Значимость F</i>
Регрессия		4	4,595401242	1,14885031	510,2274084	1,19803E-16
Остаток		16	0,036026299	0,002251644		
Итого		20	4,631427541			
		<i>Коэффициенты</i>		<i>стандартная ошл</i>	<i>t-статистика</i>	<i>P-Значение</i>
						<i>Нижние 95%</i>
Y-пересечение		0,100595805	0,029885087	3,366087096	0,003931621	0,037242265
Переменная X 1		2,246256057	0,644988378	3,482630283	0,003074282	0,878942086
Переменная X 2		2,300566919	0,185377341	12,41018405	1,26239E-09	1,9075846
Переменная X 3		-0,008506267	0,002395328	-3,551190366	0,002659814	-0,013584135
Переменная X 4		-0,00272858	0,00405599	-0,672728319	0,510720003	-0,011326893

В таблице *Дисперсионный анализ* оценивается общее качество полученной модели. В данном случае основной результат дисперсионного ана-

лиза состоит в том, что уравнение линейной регрессии является значимым, полученная значимость определяется с помощью критерия Фишера – p , который должен быть меньше, чем 0,05 (строка *Регрессия*, столбец *Значимость F*, в данном примере – $1,19803 \cdot 10^{-16}$). Значения коэффициентов регрессии находятся в столбце *Коэффициенты* и соответствуют: Y – пересечение – a_0 ; переменная X_1 – a_1 ; X_2 – a_2 и т.д.

В столбце *P-значение* приводится достоверность отличия соответствующих коэффициентов от нуля. В случаях, когда $P > 0,05$, коэффициент может считаться нулевым. Это означает, что соответствующая независимая переменная практически не влияет на зависимую переменную. В данном примере для переменной x_4 значение $P > 0,05$, следовательно, эту переменную нужно исключить и повторить расчеты для оставшихся переменных x_1, x_2, x_3 . Результаты повторных расчетов:

Дисперсионный анализ					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Значимость F</i>
Регрессия	3	4,594382231	1,531460744	702,7834988	5,12509E-18
Остаток	17	0,03704531	0,002179136		
Итого	20	4,631427541			
	<i>Коэффициенты</i>	<i>стандартная ошибка</i>	<i>t-статистика</i>	<i>P-Значение</i>	<i>Нижние 95%</i>
Y-пересечение	0,095990678	0,028618297	3,35417159	0,00376291	0,035611265
Переменная X 1	1,895874242	0,374269824	5,06552792	9,55608E-05	1,106232834
Переменная X 2	2,335402218	0,175108816	13,33686256	1,96762E-10	1,965954394
Переменная X 3	-0,009389773	0,001970679	-4,764740641	0,000179774	-0,013547547

Окончательное уравнение множественной линейной регрессии имеет вид:

$$y = 0,096 + 1,8959 x_1 + 2,3354 x_2 - 0,0094 x_3.$$

Имея данное уравнение, можно определить значение зависимой переменной для любых значений независимых. Например, для $x_1=0,14$ г; $x_2=0,5$ г и $x_3=30$ см.кв. искомое значение массы растения будет:

$$y = 0,096 + 1,8959 \cdot 0,14 + 2,3354 \cdot 0,5 - 0,0094 \cdot 30 = 1,247 \text{ г.}$$

Задание 3. Построить линейное регрессионное уравнение по экспериментальным данным. Найти значение зависимой переменной y для заданного значения независимой переменной x .

Построить точечный график по заданным экспериментальным данным. Найти уравнение линии тренда, наиболее точно отражающее экспериментальную зависимость (проверить различные типы линии тренда).

Вариант 1.

<i>x</i>	2	4	5	7	9	12	15	18	19	23
<i>y</i>	0,11	0,09	0,12	1,1	0,15	0,18	0,24	0,51	0,64	0,92

$x=10$

Вариант 2.

<i>x</i>	11	13	16	23	28	29	33	35	39	43
<i>y</i>	1	2	8	15	15	18	18	19	20	21

$x=25$

Вариант 3.

x	25	28	29	31	33	34	35	38	39	45
y	101	110	127	128	162	160	177	187	192	192

$x=30$

Вариант 4.

x	1	2	5	6	7	9	11	14	18	19
y	0,11	0,14	0,12	0,14	0,15	0,18	0,29	0,3	0,64	0,92

$x=15$

Вариант 5.

x	10	15	19	22	35	38	45	50	56	60
y	1	9	11	17	18	20	21	19	22	21

$x=40$

Вариант 6.

x	22	28	29	31	33	34	35	38	39	45
y	45	43	45	50	56	61	68	70	85	133

$x=25$

Вариант 7.

x	10	12	15	22	28	30	33	37	39	42
y	1	2	11	17	18	18	21	19	22	21

$x=15$

Вариант 8.

x	10	15	19	22	35	38	45	50	56	60
y	0,21	0,19	0,21	0,18	0,29	0,35	0,35	0,48	0,61	0,9

$x=30$

Вариант 9.

x	45	46	48	49	51	52	55	58	60	65
y	15	43	58	69	68	75	82	99	101	103

$x=50$

Вариант 10.

x	1	4	6	7	9	10	12	14	15	17
y	2,1	6,3	4,3	5,2	5,8	9,3	14,2	15,1	18,6	28,9

$x=5$

Лабораторная работа № 6

Тема: Проверка гипотез. Выявление достоверности различий между двумя выборками с помощью t -критерия Стьюдента

Статистическая гипотеза – это предположение о виде или отдельных параметрах распределения вероятностей, которое подлежит проверке на основе анализа имеющихся данных. Проверка статистических гипотез позволяет проверить или отвергнуть некоторое утверждение.

Нулевая гипотеза (H_0) – предположение о том, что события произошли случайно; альтернативная (H_1) – предположение о закономерности событий, о том, что имеет место воздействие какого-либо фактора. Нулевая гипотеза формируется таким образом, чтобы на основании статистических данных ее можно было отвергнуть с заранее заданной вероятностью ошибки α , которая называется уровнем значимости.

Выдвинутая гипотеза может быть правильной или неправильной, поэтому она проверяется статистическими методами. Как правило, для совместного анализа двух выборок проводят проверку статистических гипотез о принадлежности обеих выборок одной генеральной совокупности или о равенстве двух средних. Для решения задач такого типа используются так называемые критерии согласия. Критерии согласия могут быть параметрические, которые служат для проверки гипотез о параметрах нормально распределенной генеральной совокупности, и непараметрические, которые не требуют знания параметров распределения. Из параметрических критериев для проверки гипотез о равенстве генеральных средних наиболее часто используется t -критерий Стьюдента.

При использовании этого критерия нулевая гипотеза H_0 формулируется так: «Средние двух выборок относятся к одной и той же совокупности» или «Различия между средними выборок несущественны». Соответственно, альтернативная гипотеза H_1 – «различия между средними двух выборок неслучайны, статистически значимы».

Существует два варианта использования t -критерия для проверки гипотезы об отсутствии различий между выборками: если выборки независимы, несвязанны (двухвыборочный t -критерий) и парный t -критерий для связанных (зависимых) групп.

Задание 1. Имеются данные об итоговой успеваемости (по 10-балльной системе) студентов, посещавших факультативные занятия по данному предмету и не посещавших.

Посещавшие	8	8	7	9	8	6	7	8	6	5	8	10	6	8	9
Не посещавшие	5	6	7	6	8	7	7	5	8	6	5	9	6	7	5

Для оценки достоверности различий можно использовать функцию ТТЕСТ и процедуры Пакета Анализа. ТТЕСТ возвращает вероятность, соответствующую критерию Стьюдента и имеет следующий синтаксис:

ТТЕСТ(массив1; массив2; хвосты; тип)

Массив1 – первое множество данных.

Массив2 – второе множество данных.

Хвосты – число хвостов распределения. Если хвосты = 1, то функция ТТЕСТ использует одностороннее распределение. Если хвосты = 2, то функция ТТЕСТ использует двустороннее распределение. Обычно число хвостов – 2.

Тип – вид исполняемого t-теста. Возможны три варианта выбора: 1 – парный тест; 2 – двухвыборочный тест с равными дисперсиями; 3 – двухвыборочный тест с неравными дисперсиями.

Для решения задачи нужно ввести исходные данные в диапазон ячеек A1:B15. Далее установить курсор в свободную ячейку B16 и ввести в нее формулу =ТТЕСТ(A1:A15;B1:B15;2;3). В данном случае массив 1 задается в диапазоне ячеек A1:A15; массив 2 – в диапазоне B1:B15; число хвостов распределения 2; а в поле тип – 3, так как имеется две несвязанные выборки и говорить о равенстве дисперсий затруднительно.

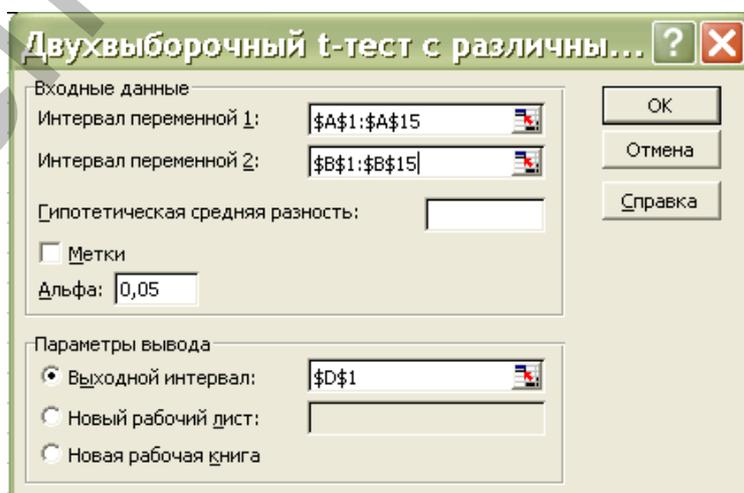
Результат: t-критерий равен 0,033011. Поскольку величина вероятности случайного различия между выборками меньше уровня значимости $\alpha=0,05$, то нулевая гипотеза отвергается. Следовательно, различия между выборками неслучайны и выборки считаются достоверно отличающимися друг от друга.

Для использования Пакета Анализа нужно выбрать пункт меню *Сервис* и далее в раскрывающемся списке команду *Анализ данных*. Для сравнения двух независимых групп используется процедура *Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями*.

В появившемся диалоговом окне необходимо выполнить следующие действия:

- задать *Интервал переменной 1*, то есть ввести ссылку на первый диапазон анализируемых данных;
- задать *Интервал переменной 2*, то есть ввести ссылку на второй диапазон анализируемых данных;
- указать уровень значимости $\alpha=0,05$;
- указать выходной диапазон, то есть ввести ссылку на ячейки, в которые будут выведены результаты анализа (указать адрес левой верхней ячейки выходного диапазона);
- нажать кнопку ОК.

Пример заполнения диалогового окна:



Результаты анализа:

D	E	F
Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями		
	<i>Переменная 1</i>	<i>Переменная 2</i>
Среднее	7,533333333	6,466666667
Дисперсия	1,838095238	1,552380952
Наблюдения	15	15
Гипотетическая разность средних	0	
df	28	
t-статистика	2,243592625	
P(T<=t) одностороннее	0,016475744	
t критическое одностороннее	1,701130259	
P(T<=t) двухстороннее	0,032951487	
t критическое двухстороннее	2,048409442	

Если величина вероятности случайного появления анализируемых выборок $P(t)$ -двухстороннее меньше уровня значимости $\alpha=0,05$, считается что различия между выборками неслучайные. То есть, несмотря на малую разницу между средними баллами в группах (всего в один балл), различия достоверные.

Задание 2. Пусть имеются данные о результатах группы студентов по скоростному чтению до и после специального курса по быстрому чтению. Определить, произошли ли статистически значимые изменения скорости чтения у студентов.

Задача решается аналогично заданию 2, но при вводе функции ТТЕСТ указывается тип 1, так как выборки зависимые (опыт проводился с одной и той же группой студентов). При использовании Пакета Анализа выбирается процедура **Парный двухвыборочный t-тест для средних**:

Заполнение диалогового окна парного двухвыборочного t-теста для средних:

Результирующая таблица будет иметь следующий вид:

	A	B	C	D	E	F
1	До курса	После курса		Парный двухвыборочный t-тест для средних		
2	86	82				
3	83	79			До курса	После курса
4	86	91		Среднее	79,9	83,3
5	70	77		Дисперсия	71,87777778	58,67777778
6	66	68		Наблюдения	10	10
7	90	86		Корреляция Пирсона	0,761861515	
8	70	81		Гипотетическая разность средних	0	
9	85	90		df	9	
10	77	85		t-статистика	-1,912649432	
11	86	94		P(T<=t) одностороннее	0,044043629	
12				t критическое одностороннее	1,833113856	
13	t-критерий = 0,088087258			P(T<=t) двухстороннее	0,088087258	
14				t критическое двухстороннее	2,262158887	

Интерпретация результатов: средняя скорость чтения в группах различается значительно, но $P(t)$ -двухстороннее больше уровня значимости $\alpha=0,05$, следовательно, нулевую гипотезу отвергнуть нельзя. Различия между выборками могут быть случайными и средние выборок не считаются достоверно отличающимися друг от друга.

Задание 3. В результате измерений изучаемого признака получены две выборки x и y . Определить, есть ли статистические различия между выборками, или они принадлежат к одной генеральной совокупности. Рассмотреть два случая: выборки независимы; выборки зависимы.

Вариант 1.

x	14	11	15	4	7	15	12	12	13	8	13	18	9	13	6
y	7	14	22	16	16	17	13	17	16	12	16	19	2	18	12

Вариант 2.

x	3	6	17	11	9	5	12	6	7	13	8	9	4	19	11
y	2	9	16	2	17	16	9	19	12	11	17	22	3	25	19

Вариант 3.

x	8	1	4	11	6	22	11	11	16	1	19	1	17	5	14
y	21	14	14	20	17	22	17	21	15	7	22	10	11	6	1

Вариант 4.

x	5	9	4	12	10	12	10	4	5	12	9	11	24	13	5
y	19	17	13	10	15	12	12	6	11	12	17	11	10	18	13

Вариант 5.

x	8	11	16	1	15	7	1	6	7	11	8	17	9	20	22
y	3	14	16	8	4	2	4	1	7	7	7	9	6	12	6

Вариант 6.

x	11	22	16	10	8	12	10	7	12	16	0	10	11	13	4
y	6	5	8	3	7	5	6	7	15	15	3	3	3	21	2

Вариант 7.

x	12	14	17	13	10	12	13	8	7	11	11	12	6	1	4
y	5	6	10	7	6	7	4	10	9	12	6	6	7	9	7

Вариант 8.

x	12	5	24	8	13	1	13	7	5	13	11	5	7	22	20
y	4	7	9	10	4	11	10	10	5	1	10	8	6	8	5

Вариант 9.

x	10	8	7	15	13	8	16	9	9	13	13	11	14	1	18
y	19	4	2	4	12	6	11	7	13	9	11	4	7	1	6

Вариант 10.

x	5	8	7	6	11	3	2	5	4	11	21	8	9	12	9
y	13	16	15	14	8	10	16	14	7	11	13	7	5	14	7

Лабораторная работа № 7

Тема: Проверка гипотез. Выявление достоверности различий между двумя выборками с помощью критерия хи-квадрат

К непараметрическим критериям проверки статистических гипотез относится критерий хи-квадрат, который можно использовать с различными формами распределений совокупностей. Функция ХИ2ТЕСТ позволяет вычислить совпадения наблюдаемых (фактических) значений и теоретических (гипотетических) значений. Если вычисленная вероятность ниже уровня значимости $\alpha=0,05$, то нулевая гипотеза о принадлежности наблюдаемых и ожидаемых значений к одной генеральной совокупности отвергается, и утверждается, что наблюдаемые значения не соответствуют теоретическим значениям. Условием применения этого метода является наличие не менее 5 наблюдений в каждой группе вариант.

Задание 1. В ходе социологического опроса на вопрос о перенесенном в детстве заболевании ответы распределились следующим образом:

	А	В	С	Д
1	Фактическое распределение			
2		Да	Нет	Не помню
3	Мужчины	58	11	10
4	Женщины	35	25	23

Определить, имеются ли достоверные отличия в ответах женщин и мужчин?

Решение задачи. Выдвигается нулевая гипотеза H_0 : влияния пола на наличие перенесенных в детстве заболеваний нет. Альтернативная гипотеза – имеется влияние пола на наличие перенесенных заболеваний. Далее необходимо вычислить ожидаемые (теоретические) численности наблюдений по каждой ячейке. Для этого сначала находятся суммы по строкам и столбцам, например, в ячейку E3 нужно ввести формулу =СУММ(B3:D3), а в ячейку B5 – формулу =СУММ(B3:B4). Результат вычислений:

	А	В	С	Д	Е
1	Фактическое распределение				
2		Да	Нет	Не помню	Сумма
3	Мужчины	58	11	10	79
4	Женщины	35	25	23	83
5	Всего	93	36	33	162

Ожидаемые численности наблюдений вычисляются исходя из следующего соотношения:

Ожидаемое число наблюдений	=	Сумма по столбцу	×	Сумма по строке
		Общий итог		

Например, ожидаемое количество мужчин, которые дали ответ «Да» составляет $93 \times 79 / 162 \approx 45$. Для расчета ожидаемых значений следует заполнить диапазон A8:D9 формулами следующим образом:

	A	B	C	D	E
1	Фактическое распределение				
2		Да	Нет	Не помню	Сумма
3	Мужчины	58	11	10	=СУММ(B3:D3)
4	Женщины	35	25	23	=СУММ(B4:D4)
5	Всего	=СУММ(B3:B4)	=СУММ(C3:C4)	=СУММ(D3:D4)	=СУММ(B5:D5)
6					
7	Ожидаемое распределение				
8	Мужчины	=B5*\$E\$3/\$E\$5	=C5*\$E\$3/\$E\$5	=D5*\$E\$3/\$E\$5	
9	Женщины	=B5*\$E\$4/\$E\$5	=C5*\$E\$4/\$E\$5	=D5*\$E\$4/\$E\$5	

Результирующая таблица будет иметь вид:

	A	B	C	D	E
1	Фактическое распределение				
2		Да	Нет	Не помню	Сумма
3	Мужчины	58	11	10	79
4	Женщины	35	25	23	83
5	Всего	93	36	33	162
6					
7	Ожидаемое распределение				
8	Мужчины	45,3519	17,556	16,092593	
9	Женщины	47,6481	18,444	16,907407	

Для вычисления значения критерия хи-квадрат нужно установить курсор в свободную ячейку таблицы, например, в ячейку A11 и ввести формулу: =ХИ2ТЕСТ(B3:D4;B8:D9). В результате будет получена вероятность нулевой гипотезы, равная 0,00031, что значительно меньше уровня значимости $\alpha=0,05$. Следовательно, нулевая гипотеза отвергается, то есть можно утверждать, что имеются достоверные отличия в ответах мужчин и женщин.

Задание 2. Пусть имеются повозрастные данные о заболеваемости группы работников предприятия. Определить, имеются ли достоверные различия в числе случаев заболевания в разных возрастных группах.

	A	B	C	D	E
1	Зависимость числа заболеваний от возраста (лет)				
2	Вычисляемые данные	до 30	30-39	40-49	50 и старше
3	Число работников	55	60	120	47
4	Фактическое число случаев заболеваний	11	18	48	6

Нулевая гипотеза H_0 : выборки принадлежат к одной генеральной совокупности. Альтернативная – имеются существенные различия между выборками.

Для использования критерия хи-квадрат необходимо определить ожидаемое значение рассматриваемого показателя. В данном случае будем исходить из предположения, что если бы заболеваемость в отдельной возрастной группе была такая, как в целом по всем обследованным, то ожидаемая численность заболевших составила бы:

<i>Ожидаемая численность заболевших</i>	=	<i>Численность работников в данной возрастной группе</i>	×	<i>Общая численность заболевших</i>
		<i>Общая численность работников</i>		

Далее необходимо дополнить таблицу формулами для расчета ожидаемой численности.

В ячейки F3:F4 вводятся формулы для вычисления общего количества числа работников и общего числа случаев заболеваний; в ячейку F5 вводится формула для расчета процентного отношения общего количества заболевших к общему числу работников.

В диапазон ячеек B5:E5 вводятся формулы для расчета ожидаемого числа случаев заболеваний.

	A	B	C	D	E	F
1	<i>Зависимость числа заболеваний от возраста (лет)</i>					
2	Вычисляемые данные	до 30	30-39	40-49	50 и старше	Сумма
3	Число работников	55	60	120	47	=СУММ(B3:E3)
4	Фактическое число случаев заболеваний	11	18	48	6	=СУММ(B4:E4)
5	Ожидаемое число случаев заболеваний	=B3*\$F\$5	=C3*\$F\$5	=D3*\$F\$5	=E3*\$F\$5	=F4/F3

В результате расчетов будут получены следующие данные:

	A	B	C	D	E	F
1	<i>Зависимость числа заболеваний от возраста (лет)</i>					
2	Вычисляемые данные	до 30	30-39	40-49	50 и старше	Сумма
3	Число работников	55	60	120	47	282
4	Фактическое число случаев заболеваний	11	18	48	6	83
5	Ожидаемое число случаев заболеваний	16	18	35	14	0,294

Затем вычисляется значение вероятности того, что события (число фактически заболевших работников в разных возрастных группах) произошли случайным образом. Для этого в свободную ячейку таблицы, например в А7, нужно ввести формулу: =ХИ2ТЕСТ(В4:Е4;В5:Е5). Полученное значение равно 0,01373. Поскольку величина вероятности случайного появления анализируемых выборок меньше уровня значимости $\alpha=0,05$, то нулевая гипотеза отвергается. Следовательно, различия между выборками не могут быть случайными и выборки считаются достоверно отличающимися друг от друга. Поэтому на основании применения критерия хи-квадрат можно сделать вывод о том, что в возрастных группах выявлены достоверные отличия по количеству заболеваний.

Задание 3.

Вариант 1. Имеются данные о результатах действия лекарства в зависимости от способа его применения. Определить, зависит ли результат от способа применения лекарства.

Результат	Способ применения лекарства		
	I	II	III
Неблагоприятный	11	17	16
Благоприятный	20	23	19

Вариант 2. Имеются данные об отношении телезрителей к одной из телепередач. Есть ли отличия в отношении мужчин и женщин к данной телепередаче, если принять уровень значимости равным 0,1?

Пол	Количество телезрителей, высказавших мнение о передаче		
	Положительное	Безразличное	Отрицательное
Мужчины	14	24	5
Женщины	29	36	30

Вариант 3. Имеются данные о трудоустройстве по специальности выпускников трех вузов. Определить, зависит ли от вуза успешность трудоустройства выпускника?

Данные	Вуз 1	Вуз 2	Вуз 3
Общее количество выпускников	200	100	300
Количество выпускников, трудоустроившихся по специальности	175	62	220

Вариант 4. Имеется распределение рабочих по кратности заболеваний за текущий период. Определить, зависит ли заболеваемость обследованных рабочих от пола?

Пол	Кратность заболеваний		
	Не болели	1–2 раза	3 раза и более
Мужчины	29	36	15
Женщины	14	24	12

Вариант 5. Для определения зависимости цвета волос жителей от их местожительства были обследованы две группы людей из районов А и В. Свидетельствуют ли полученные данные о зависимости цвета волос от местожительства?

Район	Цвет волос		
	Светлый	Рыжий	Темный
А	82	21	87
В	115	45	150

Вариант 6. Имеются данные по содержанию белков и углеводов (г) в трех видах корма для животных. Определить, имеются ли существенные различия между видами корма.

Содержание	Вид корма		
	Корм А	Корм В	Корм С
Белки	18	17	15
Углеводы	24	43	37

Вариант 7. Имеются данные по количеству сыгранных матчей и количеству забитых голов для трех футбольных команд. Определить, есть ли различия между командами по уровню мастерства.

Данные	Команда 1	Команда 2	Команда 3
Количество матчей	15	10	12
Количество голов	33	9	25

Вариант 8. На предприятии были проведены некоторые мероприятия, предположительно влияющие на производительность труда. Влияет ли вид мероприятия на производительность труда?

Вид мероприятия	Производительность труда		
	Увеличилась	Не изменилась	Уменьшилась
Мероприятие А	14	22	20
Мероприятие В	47	37	25

Вариант 9. Имеются данные об общем количестве и количестве переболевших простудными заболеваниями детей в трех дошкольных учреждениях. Определить, имеются ли различия по уровню заболеваемости между данными дошкольными учреждениями?

Данные	Д/с № 1	Д/с № 2	Д/с № 3
Всего детей	150	75	120
Количество переболевших	65	19	47

Вариант 10. Имеется три вида пищевых добавок к корму. В таблице указано количество случаев проявления ожидаемого эффекта от применения пищевой добавки. Есть ли различия в результате применения данных пищевых добавок?

Наличие ожидаемого эффекта	Пищевая добавка		
	А	В	С
Есть эффект	50	74	48
Нет эффекта	12	25	6

Лабораторная работа № 8
Тема: Планирование эксперимента.
Априорное ранжирование факторов

Эксперимент – целенаправленное воздействие на объект исследования с целью получения достоверной информации о его свойствах. Эксперимент, в котором исследователь может изменять условия его проведения, называется активным, если только регистрировать – пассивным. План эксперимента – совокупность данных, определяющих число, условия и порядок проведения опытов. Планирование эксперимента преследует две основные цели:

- 1) сокращение общего объема испытаний при соблюдении требований к достоверности и точности результатов;
- 2) повышение информативности каждого из экспериментов в отдельности.

Одной из важнейших задач методов обработки полученной в ходе эксперимента информации является построение математической модели изучаемого явления, процесса, объекта. В дальнейшем ее можно использовать для изучения и анализа явления, процесса без проведения дополнительных натуральных экспериментов.

При планировании эксперимента рассматриваются два типа переменных, которые называются факторами и откликами.

Пусть интересующее экспериментатора свойство Y объекта зависит от нескольких независимых переменных X_1, X_2, \dots, X_n и требуется выяснить характер этой зависимости $Y=F(X_1, X_2, \dots, X_n)$, о которой имеется лишь общее представление. Показатели X_1, X_2, \dots, X_n параметров изучаемого объекта называются факторами. Величина Y называется откликом, а сама зависимость $Y=F(X_1, X_2, \dots, X_n)$ – функцией отклика.

Значение фактора называется его уровнем. Каждый фактор изменяется в интервале варьирования, определяемом верхним и нижним уровнем фактора. Множество всех возможных уровней факторов называют факторным пространством. Составной частью эксперимента является опыт – воспроизведение исследуемого явления в определенных условиях при возможности измерения, регистрации и количественной оценки состояния исследуемой системы. Точка факторного пространства или фиксированный набор уровней определяет условия проведения опыта.

Большинство систем работает в соответствии с принципом Парето, который гласит, что в 20% факторов определяют 80% свойств системы, а остальные 80% факторов определяют лишь 20% ее свойств. Поэтому перед началом планирования эксперимента целесообразно провести предварительный анализ значимости факторов, то есть выделить наиболее существенные факторы и исключить малозначащие факторы. Эта операция называется априорным ранжированием факторов. С ее помощью факторы ранжируются в порядке убывания вносимого ими вклада. Вклад каждого фактора оценивается по величине ранга (веса), определяемого экспертом.

При опросе группе компетентных специалистов предлагается заполнить анкету, в которой они должны присвоить факторам порядковые номера, отражающие степень вносимого вклада.

Задание 1. Пусть группа состоит из $m=4$ экспертов, по результатам опроса которых нужно ранжировать $k=5$ факторов: x_1, x_2, x_3, x_4, x_5 . Для обработки результатов опроса нужно ввести в таблицу данные следующим образом:

	A	B	C	D	E	F
1	Факторы					
2	Эксперт	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5
3	1	6	2	3	3	2
4	2	5	2	3	4	1
5	3	7	3	3	3	2
6	4	4	3	2	4	3

Сначала определяют сумму рангов по факторам. Для этого в диапазон ячеек B7:F7 нужно ввести формулы, суммирующие значения рангов по столбцам. Например, в ячейку B7 вводится формула =СУММ(B3:B6), остальные ячейки диапазона заполняются аналогично.

Полученные значения позволяют построить среднюю априорную диаграмму рангов, но предварительно необходимо оценить степень согласованности мнений всех экспертов с помощью коэффициента конкордации ω . Для вычисления коэффициента конкордации нужно вычислить ряд промежуточных величин. Сначала находится среднее значение суммы рангов (ячейка D13). Далее нужно вычислить разность между суммой каждого фактора и средней суммой рангов (отклонение от среднего значения вы-

числяется в строке 8), затем найти квадрат отклонения для каждого фактора (строка 9), и, наконец, сумму квадратов отклонений (ячейка D14). Вид расчетной таблицы:

	А	В	С	Д	Е	Ф
1				Факторы		
2	Эксперт	x1	x2	x3	x4	x5
3	1	6	2	3	3	2
4	2	5	2	3	4	1
5	3	7	3	3	3	2
6	4	4	3	2	4	3
7	Сумма рангов	=СУММ(В3:В6)	=СУММ(С3:С6)	=СУММ(Д3:Д6)	=СУММ(Е3:Е6)	=СУММ(Ф3:Ф6)
8	Отклонение	=В7-Д\$13	=С7-Д\$13	=Д7-Д\$13	=Е7-Д\$13	=Ф7-Д\$13
9	Квадрат отклонения	=В8^2	=С8^2	=Д8^2	=Е8^2	=Ф8^2
10						
11	Количество экспертов m=			4		
12	Количество факторов k=			5		
13	Среднее значение суммы рангов			=СРЗНАЧ(В7:Ф7)		
14	Сумма квадратов отклонения			=СУММ(В9:Ф9)		

Далее нужно вычислить еще ряд величин: $T_i = \sum(t_i^3 - t_i)$; где t_i – число одинаковых рангов в i -м ранжировании. Покажем на примере: первый эксперт присвоил факторам x_2 и x_5 одинаковые ранги 2, а факторам x_3 и x_4 одинаковые ранги 3. Само значение ранга нас не интересует, только количество повторяющихся рангов. Ранг 2 повторяется два раза и ранг 3 повторяется два раза, следовательно, $T_1 = (2^3 - 2) + (2^3 - 2) = (8 - 2) + (8 - 2) = 12$. $T_2 = 0$, так как второй эксперт присвоил факторам различные ранги; третий эксперт присвоил одинаковый ранг трем факторам, значит $T_3 = 3^3 - 3 = 27 - 3 = 24$; T_4 вычисляется аналогично T_2 . Эти данные нужно внести в таблицу, которая примет вид:

	А	В	С	Д	Е	Ф	Г	Н
1				Факторы				T
2	Эксперт	x1	x2	x3	x4	x5	T1=	12
3	1	6	2	3	3	2	T2=	0
4	2	5	2	3	4	1	T3=	24
5	3	7	3	3	3	2	T4=	12
6	4	4	3	2	4	3	Сумма	48
7	Сумма рангов	22	10	11	14	8		
8	Отклонение	9	-3	-2	1	-5		
9	Квадрат отклонения	81	9	4	1	25		
10								
11	Количество экспертов m=			4				
12	Количество факторов k=			5				
13	Среднее значение суммы рангов			13				
14	Сумма квадратов отклонения			120				

Обозначив через S сумму квадратов отклонений, а через $\sum_{i=1}^m T_i$ сумму величин T_i по всем экспертам, можно вычислить коэффициент конкордации:

$$\omega = \frac{12 \cdot S}{m^2(k^3 - k) - m \sum_{i=1}^m T_i}.$$

В свободную ячейку таблицы (D15) вводится формула для вычисления коэффициента конкордации:

$$=12*D14/(D11^2*(D12^3-D12)-D11*H6).$$

Полученное значение $\omega=0,833$. Так как величина коэффициента конкордации существенно отличается от нуля, можно считать, что между мнениями экспертов имеется существенная связь. Тем не менее, эксперты неодинаково ранжируют факторы (найденное значение заметно отличается от 1).

Использовать коэффициент конкордации можно после оценки его значимости, которая возможна по вычисленному значению критерия хи-квадрат:

$$\chi^2 = \frac{12 \cdot S}{m \cdot k(k+1) - \frac{1}{k-1} \sum_{i=1}^m T_i}.$$

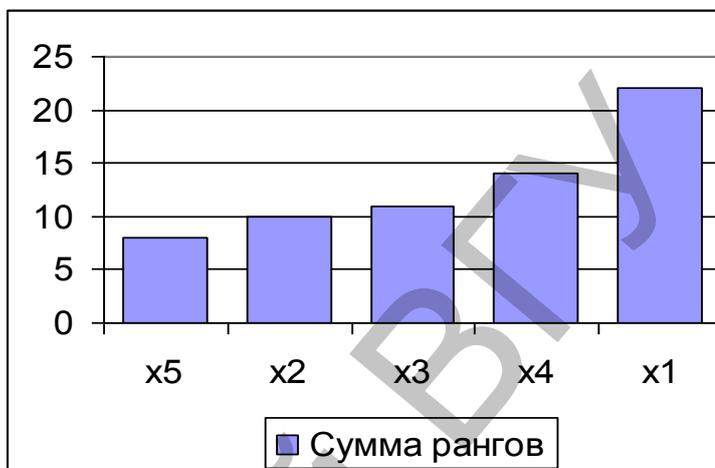
Для его вычисления в ячейку D16 вводится формула для вычисления χ^2 : $=12*D14/(D11*D12*(D12+1)-1/(D12-1)*H6)$. Полученное значение $\chi^2=13,333$.

Гипотеза о наличии согласия может быть принята, если при заданном числе степеней свободы табличное значение χ^2 меньше расчетного для уровня значимости $\alpha=0,05$. Табличное значение можно определить с помощью функции ХИ2ОБР(уровень значимости; степени_свободы). Количество степеней свободы определяется как $k - 1$. В данном случае для вычисления табличного значения используется формула: $=ХИ2ОБР(0,05;4)$. Вычисленное значение равно 9,48. В связи с тем, что табличное значение критерия меньше расчетного, можно с 95% доверительной вероятностью утверждать, что мнение исследователей относительно степени влияния факторов является согласованным.

Также можно воспользоваться функцией ХИ2РАСП(проверяемое значение; степени_свободы). Эта функция возвращает вероятность того, что проверяемое значение меньше табличного, то есть вероятность нулевой гипотезы. Введем в свободную ячейку таблицы формулу $=ХИ2РАСП(D16;4)$. Вычисленное значение будет равно 0,00976. Так как эта величина меньше уровня значимости $\alpha=0,05$, нулевую гипотезу о несогласованности мнений экспертов можно отвергнуть.

Так как мнение экспертов согласовано, можно построить диаграмму рангов для рассматриваемых факторов, откладывая по одной оси факторы, а по другой – соответствующие суммы рангов. Чем меньше сумма рангов данного фактора, тем выше его значимость. По результатам ранжирования часть факторов можно исключить из дальнейшего рассмотрения. Получаем:

Для дальнейшего исследования будут отобраны факторы, занимающие первые три места (с наименьшей суммой рангов) – x_5 , x_2 , x_3 .



Задание 2.

Предлагается оценить значимость факторов, влияющих на успешность учебы в вузе. Заполнить анкету, привлекая в качестве экспертов студентов данной группы и выполнить априорное ранжирование факторов. Факторы, подлежащие ранжированию:

- увлечение спортом;
- желание работать в будущем по избранной специальности;
- свободный доступ к Интернету;
- наличие дружественной обстановки в группе;
- проживание в общежитии;
- наличие вредных привычек: курение, употребление спиртных напитков;
- вступление в брак;
- научная деятельность под руководством преподавателя;
- лень;
- наличие контроля за учебным процессом со стороны родителей и старших родственников.

Лабораторная работа № 9

Тема: Планирование эксперимента. Построение регрессионной модели

После того, как определены наиболее значимые факторы, приступают к построению плана эксперимента. План эксперимента обычно записывается в виде матрицы плана – прямоугольной таблицы, строки которой отвечают отдельным опытам, а столбцы – факторам. Элементами матрицы плана обычно являются уровни факторов. Матрица плана может иметь совпадающие строки (то есть опыты повторяются).

Существуют различные виды планов эксперимента.

В случае, когда количество факторов, а также количество уровней невелико, могут быть использованы полные факторные планы. Эксперимент, в котором реализуются все возможные сочетания уровней факторов, называется **полным факторным экспериментом (ПФЭ)**. Общее число различных комбинаций уровней в ПФЭ для k факторов можно вычислить так: $N=p_1 \times p_2 \times p_3 \times \dots \times p_k$. Здесь p_i – число уровней i -го фактора.

Если число уровней для всех факторов одинаково, то $N=p^k$, p – число уровней. Недостаток ПФЭ – большие временные затраты на подготовку и проведение. Например, если в модели отражены 3 фактора, влияющие на значение выбранного отклика, каждый из которых имеет 4 возможных уровня (значения), то план проведения ПФЭ будет включать 64 экспериментов ($n=4^3$). Поэтому использование ПФЭ целесообразно только в том случае, если в ходе эксперимента исследуется взаимное влияние всех факторов, влияющих на отклик.

Если такие взаимодействия считают отсутствующими или их эффектом пренебрегают, проводят частичный факторный эксперимент (ЧФЭ).

Рандомизированный план – предполагает выбор сочетания уровней для каждого опыта случайным образом. Чаще всего рандомизированный план используется на стадии «отсеивающего эксперимента» (экранирующая стадия). Целью этих экспериментов является выделение из огромного числа первоначально задуманных факторов лишь важных. Альтернативой проведения отсеивающего эксперимента является априорное ранжирование факторов, рассмотренное ранее.

Латинский план (или «латинский квадрат») – используется в том случае, когда проводится эксперимент с одним первичным фактором и несколькими вторичными. Суть такого планирования состоит в следующем. Если первичный фактор A имеет p уровней, то для каждого вторичного фактора также выбирается p уровней. Выбор комбинации уровней факторов выполняется на основе специальной процедуры сдвига.

Пусть в эксперименте используется первичный фактор A и два вторичных фактора – B и C , число уровней факторов $p=4$. Соответствующий план можно представить в виде квадратной таблицы размером $p \times p$, относительно уровней фактора A . При этом матрица плана строится таким образом, чтобы в каждой строке и в каждом столбце данный уровень фактора A встречался только один раз:

Факторы В, С	С1	С2	С3	С4
В1	A1	A2	A3	A4
В2	A2	A3	A4	A1
В3	A3	A4	A1	A2
В4	A4	A1	A2	A3

В результате имеется план, требующий выполнения $4 \times 4 = 16$ опытов, в отличие от ПФЭ, для которого нужно $4^3 = 64$ опыта.

Эксперимент с изменением факторов по одному. Суть его состоит в том, что один из факторов «пробегает» все p уровней, а остальные $k-1$ факторов поддерживаются постоянными. Такой план обеспечивает исследование эффектов каждого фактора в отдельности. Он требует проведения всего $N=p_1+p_2+p_3+\dots+p_n$ опытов (p_i – число уровней i -го фактора). Для рассмотренного выше примера (3 фактора, имеющие по 4 уровня) $N=4+4+4=12$.

Построение модели отклика. Первый этап планирования эксперимента основан на варьировании на двух уровнях. Каждый фактор имеет два уровня – нижний и верхний, поэтому общее число вариантов эксперимента $N=2^k$, где k – число факторов. Если обозначить верхний уровень фактора «+», а нижний «-», то матрица плана эксперимента для двух факторов будет выглядеть так:

Здесь x_1 и x_2 – факторы. В каждой строке, соответствующей номеру опыта, указывается их уровень (верхний или нижний). Если в модели предполагается учитывать взаимное влияние факторов, то строится расширенная матрица планирования, в которую добавляются столбцы для двойных взаимодействий факторов. В данном примере для двух факторов добавляется столбец x_1x_2 . Клетки столбца заполняются произведениями соответствующих значений уровней факторов.

Номер опыта	x_1	x_2	x_1x_2	y
1	+	+	+	y_1
2	-	+	-	y_2
3	+	-	-	y_3
4	-	-	+	y_4

Построив матрицу планирования, осуществляют эксперимент, то есть проводят необходимое количество опытов и для каждого сочетания уровней факторов определяют значение отклика. Получив экспериментальные данные, рассчитывают значения коэффициентов модели отклика.

Задание 1. Рассматривается полный факторный эксперимент, где число факторов $k=3$, число уровней $p=2$, соответственно, число опытов $N=2^3=8$, число повторных наблюдений в каждом опыте $n=3$. Требуется по данным эксперимента построить многофакторную модель отклика.

Матрица планирования и значения отклика в каждом наблюдении приведены в таблице (верхний уровень фактора кодируется как «1», нижний как «-1»).

N	X_1	X_2	X_3	Y
1	1	1	-1	7,8
				8,5
				7,7
2	-1	1	-1	1,8
				2,5
				2
3	1	-1	-1	4,4
				4,8
				5,3
				4,3
				4,2
				5

N	X_1	X_2	X_3	Y
5	1	1	1	9,7
				10,4
				11,4
6	-1	1	1	4,2
				4,4
				4,5
7	1	-1	1	3,7
				3,4
				4
				3,8
				5,1
				4,8

Будем искать уравнение функции отклика в виде следующего выражения:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3,$$

где b_0 – значение свободного члена; b_1, b_2, b_3 – линейные коэффициенты; b_{12}, b_{13}, b_{23} – коэффициенты двойного взаимодействия факторов; x_1, x_2, x_3 – кодированные значения факторов.

Расчет коэффициентов модели отклика производят следующим образом: сначала вычисляют среднее значение отклика для опыта (в данном случае усредняют данные по трем наблюдениям для каждого опыта).

Значение свободного члена берут как среднее арифметическое всех значений отклика в матрице:

$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^N \bar{y}_i}{N},$$

i – номер опыта; \bar{y}_i – среднее значение отклика в i -м опыте; N – число опытов в матрице планирования.

Линейные коэффициенты рассчитываются по формуле:

$$b_k = \frac{\sum_{i=1}^N x_{ki} \bar{y}_i}{N},$$

где x_{ki} – кодированное значение фактора x_k в i -м опыте. Для расчета коэффициентов, характеризующих парные взаимодействия факторов, строится расширенная матрица планирования.

Для построения расширенной матрицы планирования в исходную матрицу добавляются столбцы для двойных взаимодействий факторов x_1x_2, x_1x_3, x_2x_3 . Клетки столбцов заполняются произведениями соответствующих значений уровней факторов.

Тогда коэффициенты парных взаимодействий рассчитываются по формулам:

$$b_{12} = \frac{\sum_{i=1}^N x_{1i}x_{2i}\bar{y}_i}{N}; \quad b_{13} = \frac{\sum_{i=1}^N x_{1i}x_{3i}\bar{y}_i}{N}; \quad b_{23} = \frac{\sum_{i=1}^N x_{2i}x_{3i}\bar{y}_i}{N}.$$

Внесем в таблицу расширенную матрицу планирования и исходные данные. Для вычисления среднего значения отклика по трем наблюдениям в опыте будем использовать функцию СРЗНАЧ(диапазон ячеек). Например, для вычисления среднего значения отклика в первом опыте введем в ячейку J2 формулу =СРЗНАЧ(Н2:Н4), во втором опыте – в ячейку J5 формулу =СРЗНАЧ(Н5:Н7) и т.д. Результирующая таблица будет иметь вид:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	N	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	Y		Усред
2	1	1	1	-1	1	-1	-1	7,8		8
3								8,5		
4								7,7		
5	2	-1	1	-1	-1	1	-1	1,8		2,1
6								2,5		
7								2		
8	3	1	-1	-1	-1	-1	1	4,4		4,83333
9								4,8		
10								5,3		
11	4	-1	-1	-1	1	1	1	4,3		4,5
12								4,2		
13								5		
14	5	1	1	1	1	1	1	9,7		10,5
15								10,4		
16								11,4		
17	6	-1	1	1	-1	-1	1	4,2		4,36667
18								4,4		
19								4,5		
20	7	1	-1	1	-1	1	-1	3,7		3,7
21								3,4		
22								4		
23	8	-1	-1	1	1	-1	-1	3,8		4,56667
24								5,1		
25								4,8		

Вычислим коэффициенты. Для расчета коэффициента b_0 достаточно просто вычислить среднее значение по столбцу J. Для вычисления остальных коэффициентов нужно найти сумму произведений факторов на средние значения отклика по всем опытам. Для выполнения этой операции можно использовать функцию СУММПРОИЗВ(массив1;массив2;...), которая перемножает соответствующие элементы заданных массивов и возвращает сумму произведений. Введем в ячейки A27:G27 названия коэффициентов:

	A	B	C	D	E	F	G
26							
27	b0	b1	b2	b3	b12	b13	b23

а строкой ниже формулы для их расчета. В ячейку A28 вводится формула для вычисления коэффициента b_0 как среднего значения откликов по всем опытам, а в ячейку B28 вводится формула для вычисления коэффициента b_1 :

	A	B
26		
27	b0	b1
28	=СРЗНАЧ(J2:J25)	=СУММПРОИЗВ(B2:B25;\$J\$2:\$J\$25)/8

Для вычисления остальных коэффициентов, включая коэффициенты двойного взаимодействия, формула из ячейки B28 копируется на диапазон ячеек C28:G28. Для того чтобы при копировании формулы не происходило настройки ссылок на ячейки, содержащие средние значения откликов, даны абсолютные адреса этих ячеек. В результате вычислений получаются следующие значения коэффициентов:

	A	B	C	D	E	F	G
26							
27	b0	b1	b2	b3	b12	b13	b23
28	5,321	1,438	0,921	0,463	1,571	-0,121	0,729

Таким образом, уравнение модели отклика будет иметь следующий вид:
 $y = 5,321 + 1,438x_1 + 0,921x_2 + 0,463x_3 + 1,571x_1x_2 - 0,121x_1x_3 + 0,729x_2x_3$.

Для того чтобы оценить качество (адекватность) модели, нужно вычислить еще две величины: дисперсию воспроизводимости S_B^2 (ДВ) и дисперсию адекватности S_{ad}^2 (ДА). Модель считается адекватной, если дисперсия адекватности меньше дисперсии воспроизводимости $S_{ad}^2 < S_B^2$.

Дисперсия воспроизводимости:

$$S_B^2 = \frac{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{N(n-1)} = \frac{\sum_{i=1}^N S^2}{N},$$

где i – номер опыта; j – номер наблюдения в опыте; y_{ij} – значение отклика в j -м наблюдении i -го опыта; \bar{y}_i – среднее значение отклика в i -м опыте; N – число опытов в матрице планирования; n – число наблюдений в каждом опыте; S^2 – дисперсия одного опыта.

Дисперсия адекватности:

$$S_{ad}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N \left(\bar{y}_i - \hat{y}_i \right)^2}{N - (k + 1)},$$

где k – количество факторов; \hat{y}_i – теоретическое значение отклика в i -м опыте, вычисленное с помощью полученного уравнения модели отклика. Для получения теоретического значения нужно подставить в уравнение известные для каждого опыта значения факторов x_1, x_2, x_3 и выполнить вычисления.

Введем в столбец К формулы для расчета дисперсии воспроизводимости. Для этого сначала с помощью функции ДИСП(диапазон) нужно рассчитать дисперсию для каждого опыта, затем найти среднее: вычислить сумму дисперсий и разделить на число опытов N.

Результат: вычисленное значение дисперсии воспроизводимости помещается в ячейке K27.

Для получения теоретических значений отклика целесообразно поступить следующим образом: ввести в ячейку L2 формулу $=\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B2:G2)$ и затем скопировать ее в ячейки столбца L, соответствующие каждому опыту.

Пояснение: в ячейке A28 находится значение коэффициента b_0 , линейные коэффициенты b_1, b_2, b_3 и коэффициенты парного взаимодействия b_{12}, b_{13}, b_{23} находятся в диапазоне ячеек B28:G28. Для того, чтобы не происходило настройки ссылок на эти ячейки при копировании формулы, ссылки даны как абсолютные. В диапазоне ячеек B2:G2 находятся значения факторов. В результате в ячейке L2 вычисляется сумма произведений коэффициентов на соответствующие значения факторов, к которой добавляется значение свободного члена.

В столбце М вычисляется дисперсия адекватности. Сначала для каждого опыта вычисляется квадрат отклонения теоретического значения, которое находится в столбце L, от экспериментального (столбец J). Затем находится сумма квадратов отклонений и делится на число $8 - (3 + 1) = 4$. Результат находится в ячейке M27.

	К	L	М
1	ДиспВосп	Утеор	ДиспАд
2	=ДИСП(H2:H4)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B2:G2)$	=(L2-J2) ²
3			
4			
5	=ДИСП(H5:H7)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B5:G5)$	=(L5-J5) ²
6			
7			
8	=ДИСП(H8:H10)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B8:G8)$	=(L8-J8) ²
9			
10			
11	=ДИСП(H11:H13)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B11:G11)$	=(L11-J11) ²
12			
13			
14	=ДИСП(H14:H16)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B14:G14)$	=(L14-J14) ²
15			
16			
17	=ДИСП(H17:H19)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B17:G17)$	=(L17-J17) ²
18			
19			
20	=ДИСП(H20:H22)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B20:G20)$	=(L20-J20) ²
21			
22			
23	=ДИСП(H23:H25)	= $\$A\$28+\text{СУММПРОИЗВ}(\$B\$28:\$G\$28;B23:G23)$	=(L23-J23) ²
24			
25			
26	ДиспВосп		ДиспАд
27	=СУММ(K2:K25)/8		=СУММ(M2:M25)/4

В окончательном виде с результатами вычислений расчетная таблица выглядит так:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	N	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	Y		Усред	ДиспВосп	Угеор	ДиспАд
2	1	1	1	-1	1	-1	-1	7,8		8,000	0,190	8,179	0,032
3								8,5					
4								7,7					
5	2	-1	1	-1	-1	1	-1	1,8		2,100	0,130	1,921	0,032
6								2,5					
7								2					
8	3	1	-1	-1	-1	-1	1	4,4		4,833	0,203	4,654	0,032
9								4,8					
10								5,3					
11	4	-1	-1	-1	1	1	1	4,3		4,500	0,190	4,679	0,032
12								4,2					
13								5					
14	5	1	1	1	1	1	1	9,7		10,500	0,730	10,321	0,032
15								10,4					
16								11,4					
17	6	-1	1	1	-1	-1	1	4,2		4,367	0,023	4,546	0,032
18								4,4					
19								4,5					
20	7	1	-1	1	-1	1	-1	3,7		3,700	0,090	3,879	0,032
21								3,4					
22								4					
23	8	-1	-1	1	1	-1	-1	3,8		4,567	0,463	4,388	0,032
24								5,1					
25								4,8					
26											ДиспВосп		ДиспАд
27	b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	b ₁₂	b ₁₃	b ₂₃				0,253		0,064
28	5,321	1,438	0,921	0,463	1,571	-0,121	0,729						

Вычисленное значение дисперсии адекватности меньше дисперсии воспроизводимости, следовательно, найденная модель адекватна.

Задание 2. Определить для данных эксперимента (задание 1), будет ли адекватной модель отклика, если не учитывать коэффициенты двойного взаимодействия факторов? В этом случае уравнение модели отклика имеет вид: $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3$.

Задание 3. Определить для данных эксперимента (задание 1), как изменится дисперсия адекватности, если помимо коэффициентов двойного взаимодействия учесть коэффициент тройного взаимодействия факторов b_{123} ? Уравнение модели отклика:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3.$$

Коэффициент тройного взаимодействия факторов вычисляется по формуле:

$$b_{123} = \frac{\sum_{i=1}^N x_{1i}x_{2i}x_{3i}\bar{y}_i}{N}.$$

Лабораторная работа № 10
Тема: Статистическая обработка
биохимических показателей сыворотки крови

Имеются данные по биохимическим показателям сыворотки крови практически здоровых мужчин различного возраста.

№ анализа	Возраст	Общий холестерол	Холестерол ли- попротеинов ВП	Триацилглицерол	Мочевина	Билирубин	Глюкоза	Общий белок	Мочевая кислота	Гамма-глутамил- трансфераз	Альбумин
	14	4,38	1,27	0,95	5,12	8,15	4,68	73,41	271,70	23,89	44,67
	15	4,24	1,25	1,00	5,42	9,26	4,65	74,77	298,25	22,71	45,24
	16	4,11	1,23	1,05	5,50	10,38	4,74	76,13	324,81	21,54	45,81
	18	4,38	1,22	1,13	5,58	10,76	4,82	76,52	337,89	25,58	45,74
	20	4,65	1,20	1,21	5,66	11,14	4,90	76,92	350,98	29,62	45,66
	23	4,84	1,21	1,30	5,78	10,83	4,87	76,14	355,82	33,73	45,76
	25	5,02	1,22	1,38	5,90	10,52	4,84	75,36	360,65	37,84	45,86
	27	5,16	1,20	1,45	5,92	10,44	4,86	75,31	354,43	37,53	45,53
	30	5,30	1,18	1,53	5,94	10,35	4,88	75,26	348,21	37,22	45,20
	31	5,31	1,18	1,52	5,99	10,37	4,90	75,22	348,22	37,52	45,20
	32	5,45	1,18	1,54	6,07	10,40	4,99	75,17	353,31	39,93	45,23
	35	5,58	1,19	1,56	6,16	10,43	5,08	75,12	358,40	42,34	45,25
	38	5,63	1,19	1,61	6,21	10,27	5,11	75,32	359,62	43,04	45,06
	40	5,67	1,19	1,65	6,27	10,11	5,14	75,53	360,85	43,74	44,86
	42	5,68	1,19	1,66	6,28	10,12	5,15	75,52	360,88	43,75	44,85
	43	5,71	1,17	1,68	6,35	10,26	5,19	75,42	361,75	43,31	44,76
	45	5,74	1,15	1,71	6,42	10,41	5,23	75,32	362,61	42,87	44,66
	45	5,71	1,16	1,68	6,49	10,30	5,25	75,19	360,84	42,97	44,39
	50	5,68	1,18	1,64	6,57	10,19	5,28	75,05	359,08	43,07	44,13
	51	5,69	1,18	1,65	6,58	10,20	5,28	75,06	359,09	43,07	44,23
	54	5,71	1,18	1,65	6,72	10,43	5,30	75,06	360,72	42,66	44,21
	55	5,73	1,17	1,65	6,87	10,66	5,32	75,07	362,35	42,26	44,18
	57	5,72	1,17	1,63	6,92	10,45	5,34	74,82	360,50	40,94	43,98
	60	5,70	1,16	1,61	6,98	10,25	5,37	74,58	358,65	39,61	43,77
	63	5,65	1,17	1,59	7,15	10,28	5,38	74,23	358,69	39,35	43,42
	65	5,60	1,19	1,57	7,33	10,30	5,39	73,88	358,74	39,09	43,06
	68	5,50	1,17	1,52	7,29	10,75	5,30	73,21	353,85	36,33	42,70
	70	5,40	1,15	1,47	7,26	11,19	5,22	72,55	348,96	33,57	42,34
	72	5,28	1,12	1,40	7,15	10,68	5,15	73,43	353,98	36,41	42,48
	75	5,16	1,14	1,32	7,04	10,17	5,09	74,32	359,01	39,24	42,61

Задание 1.

Определить основные выборочные характеристики для вариационного ряда данных (Y) по заданному варианту. Выполнить первичную обработку данных: определить, имеются ли в заданной выборке «выпадающие» значения и удалить их. Определить, соответствуют ли полученные экспериментальные данные нормальному закону распределения. Определить с уровнем значимости $\alpha=0,05$ доверительный интервал для среднего (если данные распределены нормально) или медианы (если закон распределения не является нормальным) выборки. Найти уравнение регрессии, наиболее полно аппроксимирующее зависимость заданного показателя от возраста.

Задание 2.

Определить, имеется ли корреляционная связь между рядами данных Y, X_1, X_2, X_3, X_4 по заданному варианту. Найти уравнение множественной линейной регрессии вида $Y=A_0+A_1X_1+A_2X_2+A_3X_3+A_4X_4$.

Задание 3.

Определить, есть ли статистические различия по биохимическому показателю (Y) у мужчин в возрасте до 40 лет и после 40 лет, или соответствующие выборки принадлежат к одной генеральной совокупности.

№ варианта	Y	X_1	X_2	X_3	X_4
1	ОХС	ХС ЛПВП	Мочевина	Глюкоза	Мочевая кислота
2	ХС ЛПВП	Триацил-глицерол	Билирубин	Общий белок	ГГТ
3	Триацил-глицерол	ОХС	Глюкоза	Мочевая кислота	Альбумин
4	Мочевина	ХС ЛПВП	Билирубин	Общий белок	ГГТ
5	Билирубин	Триацил-глицерол	Глюкоза	Мочевая кислота	Альбумин
6	Глюкоза	ОХС	Мочевина	Билирубин	Общий белок
7	Общий белок	ХС ЛПВП	Билирубин	Мочевая кислота	ГГТ
8	Мочевая кислота	Мочевина	Глюкоза	Общий белок	Альбумин
9	ГГТ	Триацил-глицерол	Билирубин	Глюкоза	Общий белок
10	Альбумин	ОХС	ХС ЛПВП	Мочевина	Общий белок

Учебное издание

**Данченко Елена Олеговна
Чиркина Анна Александровна**

**ПЛАНИРОВАНИЕ И ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТА
В БИОХИМИИ (Химико-лабораторный мониторинг в экологии)**

**Учебно-методический комплекс
для студентов биологического факультета**

Технический редактор	А.И. Матеюн
Корректор	А.Н. Фенченко
Компьютерный дизайн	Г.В. Разбоева

Подписано в печать 2006. Формат 60x84¹/₁₆. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 7,56. Уч.-изд. л. 6,41.
Тираж экз. Заказ .

Издатель и полиграфическое исполнение – учреждение образования
«Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»
Лицензия ЛВ № 02330/0056790 от 1.04.2004.

Отпечатано на ризографе учреждения образования
«Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»
210038, г. Витебск, Московский проспект, 33.

Е.О. Данченко, А.А. Чиркина

**ПЛАНИРОВАНИЕ И ОБРАБОТКА
ЭКСПЕРИМЕНТА В БИОХИМИИ
(Химико-лабораторный
мониторинг в экологии)**

Витебск 2006

Репозиторий ВГУ