



Česká hematologická
společnost ČLS JEP

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátorech

Zpracoval: L. Bourková, M. Matýšková, J. Kratochvíla

Revize: R. Jelínek, S. Vytisková

Recenzent: Členové laboratorní sekce ČHS ČLS JEP

Schváleno Laboratorní sekcí ČHS ČLS JEP: 8.4.2016

Schváleno výborem ČHS ČLS JEP: 4.5.2016

Verze: 4

Platnost od: 13.6.2016

Přechodné období (platí i nahrazovaný dokument) do: 31.8.2016

Poznámky:

Tento dokument nahrazuje doporučení České hematologické společnosti ČLS JEP *Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátorech*, platné od 1.3.2013).

Všechny v textu použité zkratky i metrologické termíny a jejich definice jsou dostupné „on line“ v publikaci *Metrologická terminologie 2*, která je k dispozici na webu: <http://www.eqa.cz/terminologie> [1].

Změny v novém vydání jsou vyznačeny modrým písmem se stylem písma kurzíva

*Tento dokument nahrazuje dokument *Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátorech 2013**

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

Obsah:

1.	ÚVOD	3
2.	ZAJIŠTĚNÍ KONTROLY KVALITY	4
2.1	Typy zajištění kontroly kvality	4
2.1.1	Vnitřní kontrola kvality	4
2.1.2	Zkoušení způsobilosti – Externí kontrola kvality	5
2.2	Kontrolní materiál (referenční materiál)	5
2.3	Řazení kontrolních vzorků do procesu měření.....	5
3.	PROVÁDĚNÍ KONTROL KVALITY.....	6
3.1	Preventivní činnosti související s kontrolou kvality	6
3.1.1	Validace/verifikace přístroje (v souladu s normou ISO 15189).....	6
3.1.2	Kontrola pozadí (background).....	6
3.1.3	Záznamy do provozního deníku.....	6
3.1.4	Kvalita diagnostik	6
3.1.5	Míra pravdivosti (bias).....	7
3.1.6	Porovnání měření referenčního materiálu vzhledem k vztažené hodnotě a mezilehlá preciznost (kontrolní/referenční materiál)	7
3.1.7	Preciznost měření analyzátoru v sérii – opakovatelnost (kontrolní materiál - nativní krev).....	8
3.1.8	Preciznost měření analyzátoru v čase – mezilehlá preciznost (kontrolní materiál - nativní krev).....	8
3.1.9	Reprodukovatelnost stejných parametrů měřených různými metodami a na různých analyzátorech (mezipřístrojová kontrola, kontrolní materiál – nativní krev)	9
3.1.10	X-B analýza jednotlivých analyzátorů (klouzavý průměr)	9
3.1.11	Externí hodnocení kvality.....	10
3.2	Kontrolní měření po změnách na hematologickém analyzátoru	10
4.	HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ KONTROLNÍCH MĚŘENÍ	11
4.1	Základní doporučení	11
4.2.	VLASTNÍ HODNOCENÍ.....	11
4.2.1.	Možné typy chyb.....	11
4.2.2.	Možné příčiny chyb	12
5.	VALIDACE A VERIFIKACE	13
6.	LEGISLATIVA	13
7.	WEBOVÉ ADRESY SOUVISEJÍCÍ S KONTROLOU KVALITY	13
8.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	14
9.	LITERATURA	15

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

1. Úvod

Toto doporučení se týká stanovení počtu leukocytů, erytrocytů, krevních destiček, měření hemoglobinu, stanovení hematokritu a parametrů MCV, RDW, MCH, MCHC na hematologických analyzátořech. Nezabývá se stanovením retikulocytů, NRBC a diferenciálního rozpočtu leukocytů.

Diagnostika patologických stavů je založena na výsledcích laboratorního vyšetření, které se sestává většinou z řady měření/analýz. V zájmu bezpečnosti pacientů jsou na jejich kvalitu kladeny vysoké požadavky. Spolehlivost výsledků měření a vyšetření může zajistit pouze pravidelná dlouhodobá systematická kontrola kvality přímo na hematologickém pracovišti. Provádění pravidelných kontrolních postupů v hematologické laboratoři zajišťuje nejen požadovanou spolehlivost vyšetření a záruku jejich kvality, ale i potřebnou jistotu pro zaměstnance laboratoře, vyšetřované pacienty a ordinující lékaře.

Základem správně prováděných kontrolních procesů v hematologické laboratoři je důsledné dodržování nastavených jednoznačných pravidel vnitřní/interní kontroly kvality (VKK), která laboratoři dávají integritu, zabezpečují shodu a spolehlivost, minimalizují chyby a jsou odrazem politiky kvality dané laboratoře.

Základní zásady programu kontroly kvality musí být použitelné pro všechny typy klinických laboratoří od malých, přidružených k ordinaci lékařů, až k velkým centrálním klinickým laboratořím, avšak v jednotlivostech se programy VKK samozřejmě liší. Pracovní nároky spojené s touto činností, vztažené na vlastní vyšetření a jeho cenu, musí být v únosných ekonomických mezích. V zásadě lze rozdělit vlastní kontrolu kvality v hematologické laboratoři do tří oblastí:

- neanalytické chyby a vlivy a jejich sledování a eliminace
- vnitřní kontrola kvality
- externí kontrola kvality (zkoušení způsobilosti).

Vlastní kontrolu kvality laboratorní analytické práce tedy dělíme na:

- a) vnitřní/interní (kontrola práce vlastní laboratoře)
- b) vnější/externí (celosvětová, evropská, národní, regionální)

Programy vnitřní kontroly kvality klinických laboratoří mají sice svá obecná pravidla, ale je nutné je individuálně přizpůsobovat pro každou laboratoř. Kontrolní procesy mají plnit požadavky legislativy a akreditace, ale současně musí být přiměřené typu laboratoře, typu a počtu hematologických analyzátořů, a počtu vlastních měření a vyšetření. Proto nelze obecně aplikovat proces řízení kvality jedné laboratoře na podmínky laboratoře druhé. V zásadě platí, že každá klinická laboratoř musí provádět a dodržovat „minimální kontrolní program“, jehož zásady se snažíme uvést v tomto textu.

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

2. Zajištění kontroly kvality

Kontrolní procesy zajišťují pro měřené parametry:

- pravdivost
- preciznost (opakovatelnost, mezilehlá preciznost a reprodukovatelnost)
- (TNI 01 0115 bod 2.15 používá pojem preciznost, 2.21 opakovatelnost, 2.23 mezilehlá preciznost, 2.24 reprodukovatelnost měření)
- selektivita měřicího systému (př. rozlišit RBC x PLT) – součást pravdivého a precizního měření (TNI 01 0115 bod 4.13)
- metrologickou srovnatelnost (TNI 01 0115 bod 2.46) a slučitelnost výsledků měření (TNI 01 0115 bod 2.47)

Kontrolní procesy porovnávají:

- metody měření a měřené veličiny
- měřicí přístroje (samostatně otevřený i uzavřený náběrový systém pokud jsou možné odlišné aspirace vzorku) a jejich preanalytické systémy
- jednotlivé laboratoře.

2.1 Typy zajištění kontroly kvality

2.1.1 Vnitřní kontrola kvality

- ✓ vnitřní řízení kvality – je soubor postupů, prováděných personálem laboratoře při stálém monitorování její činnosti tak, aby bylo možné rozhodnout, zda jsou výsledky této činnosti natolik spolehlivé, aby mohly být vydány. Tento soubor postupů musí také zaručovat eliminaci příčin nedostatečné spolehlivosti výsledků měření (prevence chyb). Operativní vnitřní řízení kvality zahrnuje všechna stadia laboratorní činnosti v celé její šíři, tj. v preanalytické, analytické a postanalytické fázi laboratorního procesu.
- ✓ kontrola kvality se často provádí pouze ve své základní, redukované podobě jako sledování spolehlivosti analytických a jiných měření pomocí kontrolních materiálů (patří do skupiny referenčních materiálů) zařazených do jednotlivých sérií měření a jako kontrola kalibrační funkce přístroje pomocí kalibrátorů. To pak lze nazvat vlastní vnitřní kontrolou kvality (VKK).
- ✓ vhodně nastavený systém řízení kvality vždy zahrnuje indikativní složku, tj. včasné odhalení neshody, kurativní složku, tj. analýzu a odstranění příčin, a zpětnou vazbu, tj. úpravu systému tak, aby se zamezil další výskyt podobné neshody.
- ✓ neanalytickými chybami a vlivy, jejich sledováním a eliminací se stejně jako zkoušením způsobilosti tento text nezabývá.

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

2.1.2 Zkoušení způsobilosti – Externí kontrola kvality

- ✓ mezinárodní označení – External Quality Assurance (EQA)
- ✓ externí hodnocení kvality (EHK) – je systém objektivního hodnocení laboratorních výsledků externí nezávislou organizací k tomu pověřenou. Provádí se většinou pravidelným porovnáváním výsledků měření hodnocených klinických laboratoří a klinických jednotek navzájem a, dle možnosti, porovnáním s referenčními/vztažnými hodnotami kontrolních/referenčních vzorků.

2.2 Kontrolní materiál (referenční materiál)

Typy kontrolních/referenčních materiálů mohou být následující:

- ✓ stabilizovaný kontrolní materiál – stabilizovaná a upravená lidská krev (může zahrnovat některé nehumánní elementy, např. zvířecí krevní destičky) s *deklarovanou hodnotou či rozmezím vztažných* hodnot pro jednotlivé parametry.
 - dodává externí organizace,
 - tam, kde je to možné, by měla být zajištěna metrologická návaznost na mezinárodně certifikovaný referenční materiál typu ERM, CRM či SRM či jiný v souladu s normou ISO 17511 a Pokyny ISO Guide
- ✓ čerstvě odebraný biologický materiál – zajišťuje si pracoviště samo; tam kde to lze, nahrazuje stabilizovaný kontrolní materiál
- ✓ kontrolní materiály připravené přímo pro účely dané vnitřní kontroly kvality (tzv. tailor made či home made) ať už firemně či místně – jsou v našich laboratořích zatím poměrně výjimečné. Nově se touto problematikou zabývá ISO Guide 80 (2010).

Pozn. V současné době je situace taková, že firmy poskytující kontrolní materiál pro multiparametrickou analýzu KO nemají v příbalové dokumentaci uvedenu metrologickou návaznost ani odhad kombinované nejistoty měření. Přitom existují referenční instituce (např. Physikalisch-Technische Bundesanstalt Berlin), které provádí určující referenční měření pro stanovení počtu leukocytů, erytrocytů, trombocytů, dále určení hematokritu a stanovení hemoglobinu. Tyto referenční hodnoty pak používají některé organizace EHK (INSTAND e. V., RfB DGKL Bonn, aj.) jako cílové hodnoty pro kontrolní cykly KO. Také firma SEKK s.r.o tyto materiály občas zařazuje do kontrolních cyklů EHK. Přetrvávajícím problémem však zůstává nekomutabilita a nedostatečná stabilita těchto materiálů.

2.3 Řazení kontrolních vzorků do procesu měření

Kontrolní vzorky (VKK a EHK) mají být zařazeny v rutinním provozu klinické laboratoře mezi běžné denní vzorky nemocných, aby mohly odkrýt případné problémy celého analytického procesu.

Pokud jsou programově prováděny mimo běžný rutinní cyklus (po technických úpravách, údržbě nebo po kalibraci aj.), ztrácí takto provedená kontrola kvality svůj význam.

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

Pozn. Toto se však netýká kontroly, která je nezbytná po technickém zásahu do měřicí části přístroje nebo po kalibraci aj., kdy je naopak nutné zařadit kontrolní vzorky cíleně a výsledky této činnosti dokumentovat.

3. Provádění kontrol kvality

3.1 Preventivní činnosti související s kontrolou kvality

3.1.1 Validace/verifikace přístroje (v souladu s normou ISO 15189)

- ✓ 1x ročně (minimálně; nutné vždy po servisním zásahu s podstatným vlivem na měřicí systém)
- ✓ provádí: pověřený firemní technik
- ✓ dokumentace: validační protokol – platnost 1 rok

3.1.2 Kontrola pozadí (background)

- ✓ minimálně 1x denně (při uvedení analyzátoru do chodu; pro kontrolu funkce přístroje nebo po určité době při jeho případném odstavení)
- ✓ sledují se hodnoty určitých měřených parametrů, které nesmí překročit limity specifické pro daný parametr a daný typ hematologického analyzátoru
- ✓ dokumentace: provozní deník.

3.1.3 Záznamy do provozního deníku

Záznamy se provádějí denně a je nutné je autorizovat. Zaznamenávat by se mělo se například:

- ✓ zahájení a ukončení činnosti na měřicím přístroji
- ✓ výměna reagensů, či jiných jednorázových prostředků
- ✓ provedení kalibrace, nastavení/korekce (faktory)
- ✓ závady, opravy, zásahy servisního technika a jejich řešení

3.1.4 Kvalita diagnostik

- ✓ používají se pouze diagnostika se značkou „CE“ (označení shody – „marking of conformity“ – s požadavky direktivy IVD MD (Directive 98/79/EC))
- ✓ firmy musí dodávat vlastní certifikáty a dokladovat provedenou validací podle platných mezinárodních norem.

Pozn. 1. Diagnostika splňující směrnici IVD MD a s označením "CE" jsou zároveň výrobcem validovaná.

Pozn. 2. Všechna diagnostika a měřicí přístroje, používané v ČR ve zdravotnictví, musí splňovat směrnici IDV MD s označením "CE". Diagnostika a měřicí přístroje, které výše uvedené nespĺňují, nelze v ČR používat!

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátozech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

Pozn. 3. Pravidelně se provádí v rutinní hematologické laboratoři pouze Ověřování/Verifikace, protože validaci již provedl/provádí pravidelně dle platných norem výrobce.

Pozn. 4. Často nelze u automatických hematologických měřicích systémů oddělit od sebe diagnostika, testovací soupravy/kity, kalibrátory, měřicí systém a vše je dohromady organickou součástí jednoho automatického analytického měřicího systému.

Vlastní provádění kontrolních měření

Standardní operační postup pro systém vnitřní kontroly kvality musí mít u každého typu kontrolních analýz uvedeno:

- a) jak často se měření provádí
- b) kolik měření se provádí
- c) s jakým kontrolním materiálem se pracuje
- d) co se daným měřením sleduje
- e) jak se výsledky měření hodnotí
- f) jak se kontrolní procesy dokumentují.

3.1.5 Míra pravdivosti (bias)

Účel: Sledování systematické chyby měření, číselně vyjádřeno jako vychýlení (BIAS)

Z důvodu současné nedostupnosti certifikovaného referenčního materiálu, který by byl dostatečně komutabilní a stabilní, nelze v rutinní laboratoři dodržet podmínky metrologické návaznosti, a tudíž nelze zatím u parametrů KO stanovit BIAS (s výjimkou hemoglobinu).

3.1.6 Porovnání měření referenčního materiálu vzhledem k vztažené hodnotě a mezilehlá preciznost (kontrolní/referenční materiál)

Účel: Sledování hodnot ze dne na den (určení SD, CV) a sledování rozdílu naměřených hodnot oproti hodnotám deklarovaných výrobcem („firemní“ BIAS)

- a) před začátkem rutinního provozu nebo během provozu; dle odhadu počtu měřených vzorků 1x denně, minimálně však 2x týdně
- b) 1 měření od každého typu kontrolního materiálu: L (low – nízká), N (normal), H (high – vysoká)
- c) stabilizovaný kontrolní/referenční materiál pro daný měřicí systém
- d) sledovat pro každý hematologický analyzátor samostatně (samostatně i otevřený/uzavřený náběrový systém pokud jsou možné odlišné aspirace vzorku)

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátorech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- e) hodnocení „firemního BIAS“, provádí se srovnáním vlastních výsledků měření kontrolního/referenčního materiálu se vztažnými/referenčními hodnotami použitého materiálu pro jednotlivé hematologické parametry
- f) lze dokladovat originálem atestu vztažných/referenčních hodnot a autorizovanými výsledky z hematologického analyzátoru s naměřenými hodnotami měřené veličiny, hodnotami variačního koeficientu, směrodatné odchylky a průměrnými hodnotami pro jednotlivé parametry

3.1.7 Preciznost měření analyzátoru v sérii – opakovatelnost (kontrolní materiál - nativní krev)

Účel: Sledování preciznosti v sérii (SD, CV) pro kontrolu limitů stanovenými výrobcem

- a) četnost provádění závisí na využití analyzátoru – minimálně 1x měsíčně, optimálně 1x týdně
- b) měřit stejný materiál opakovaně po sobě *minimálně* 5x (záleží na množství kontrolního vzorku) – v sérii
- c) čerstvý vzorek s hodnotami nejlépe v rozsahu referenčního intervalu, na každý analyzátor může být použit jiný vzorek
- d) sledovat každý analyzátor samostatně (i pro otevřený či uzavřený náběrový systém, pokud jsou možné odlišné aspirace vzorku)
- e) požadovaná hodnota preciznosti v sérii je daná pro každý měřený parametr a pro každý typ přístroje zvlášť v pracovní dokumentaci přístroje (výrobce)
- f) dokladovat autorizovanými výsledky s naměřenými hodnotami, výslednými hodnotami variačního koeficientu, směrodatnou odchylkou a střední hodnotou, uvádět vždy počet měření.

3.1.8 Preciznost měření analyzátoru v čase – mezilehlá preciznost (kontrolní materiál - nativní krev)

Účel: Sledování preciznosti v čase (SD, CV) během pracovní směny

- a) četnost provádění dle využití analyzátoru, 2x – 3x denně
- b) vybrat 1 až 3 vzorky, které je nutné opakovaně (*2x - 3x*) změřit během provozu, s různými rutinními sériemi vzorků pacientů, *nejlépe* po určitých časových intervalech
- c) čerstvý vzorek s hodnotami v mezích referenčního intervalu nebo patologickém rozmezí (časový interval mezi prvním a posledním měřením téhož vzorku by neměl být delší než je deklarovaná stabilita odebraného vzorku do EDTA, tj. 5 hodin; na každý analyzátor může být použit jiný vzorek), *event. lze k měření využít i firemní kontrolní krve*
- d) sledovat každý analyzátor samostatně (otevřený i uzavřený náběrový systém, pokud jsou možné odlišné aspirace vzorku)

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátorech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- e) požadovanou hodnotu mezilehlé preciznosti si laboratoř určí dle vlastních zkušeností, variační koeficienty by se však měly blížit hodnotám uvedeným v dokumentaci přístroje a neměly by přesahovat doporučené hodnoty WHO (viz bod 3.1.9)
- f) dokladovat autorizovanými výsledky s naměřenými hodnotami, výslednými hodnotami variačního koeficientu, směrodatnou odchylkou a střední hodnotou.

3.1.9 Reprodukovatelnost *stejných parametrů měřených různými metodami a na různých analyzátorech (mezipřístrojová kontrola, kontrolní materiál – nativní krev)*

Účel: Sledování reprodukovatelnosti mezi *všemi* analyzátory v jedné laboratoři (CV) *anebo mezi daným analyzátořem a zvoleným referenčním analyzátořem (D%)*

- a) dle využití přístroje, cca 1x denně
- b) čerstvý vzorek - je vhodné vybrat dle možností současně 3 vzorky (1x L, 1x N a 1x H) a ty použít pro všechny hematologické analyzátory (případně otevřený i uzavřený způsob analýzy)
- c) porovnat a hodnotit měření mezi všemi typy analyzátořů a mezi všemi typy měření pro daný parametr (měřenou složku) a typ (L, N, H) vzorku v příslušné laboratoři *a vyhodnocovat variační koeficient dle doporučení WHO, které uvádí pro HGB, RBC, HCT $\leq 4\%$; pro MCV, MCH, MCHC $\leq 5\%$; pro WBC $\leq 10\%$ a pro PLT $\leq 15\%$ anebo*
- d) *porovnat a hodnotit měření mezi určitým analyzátořem a referenčním analyzátořem pro daný parametr (měřenou složku) a typ (L, N, H) vzorku v příslušné laboratoři a vyhodnocovat D% (procentuální odchylka). Laboratoř si sama stanoví maximální povolenou procentuální odchylku D_{max} od vztažné hodnoty referenčního analyzátořu, např. na základě úvodního porovnávání analyzátořů regresní analýzou nebo podle doporučení výrobce, případně podle doporučení SEKK (D_{max} , www.sekk.cz), které uvádí hodnoty pro D_{max} pro sledované parametry v dokumentu SEKK "Přehled přijatelných rozdílů v procentech pro kvantitativní zkoušky EHK", viz <http://www.sekk.cz>*
- e) dokladovat autorizovanými výsledky a naměřenými hodnotami spolu s vyhodnocením CV anebo $D\%$: výpočet dle vzorce $D\% = [(x - AV)/AV] \times 100$ (x = výsledek měření analyzátořem, AV = vztažná hodnota referenčního analyzátořem)

3.1.10 X-B analýza jednotlivých analyzátořů (klouzávý průměr)

Účel: Kontinuální kontrola kvality s rychlou odezvou odhalení chyby

- a) automatické kontinuální zpracovávání změřených hodnot, má-li hematologický analyzátoř odpovídající softwarové vybavení
- b) analýza se provádí ze všech vzorků změřených na analyzátořem nezávisle, přístroj zahrne do vyhodnocení veškerá provedená měření
- c) sledovat každý analyzátoř samostatně; XB analýza sleduje stabilní parametry: MCV, MCH, MCHC

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- d) analyzátor automaticky vypočítává průměrnou hodnotu ze souboru *minimálně 20 po sobě jdoucích* vzorků pro každý parametr a výsledky zaznamenává *číselně nebo* do Levey – Jenningsových grafů.
- e) Výsledky se sledují pomocí Westgardových pravidel a vyhodnocuje se důvod jejich porušení. Odchylka měření by neměla být větší než 2SD nebo $\pm 3\%$ od průměrné hodnoty. Sleduje se průběžně systematická chyba přístroje (trvale rostoucí či klesající trend některého parametru) 1 – 2x měsíčně/týdně (podle počtu měřených vzorků).
- f) dokladovat autorizovanými výsledky z analyzátoru.

3.1.11 Externí hodnocení kvality

viz doporučení ČHS:

http://www.hematology.cz/doporuzeni/laboratorni_sekce/files/k_cinnostem/Doporuzeni_LS_CHS_CLS_JEP-EHK_v02.pdf

3.2 Kontrolní měření po změnách na hematologickém analyzátoru

Kdy provádět:

- ✓ po změně kalibrace (*pomocí kontrolního/referenčního materiálu*)
- ✓ po změně kalibračních faktorů (pomocí kontrolního/referenčního materiálu, *či nativní krve dle potřeb laboratoře*)
- ✓ po změně šarží dílčích diagnostik (*měření background, či dle doporučení výrobce analyzátoru*)
- ✓ po technickém zásahu do systému (pokud ovlivňuje měření) – dle úvahy: preciznost / opakovatelnost/*porovnatelnost*

Jak kontrolovat:

- ✓ viz předchozí kapitoly

Hodnocení:

- ✓ výsledky je nutné porovnat s výsledky změřenými
 - na stejném analyzátoru před zásahem nebo
 - na jiném analyzátoru
- ✓ počet a typ kontrolních měření nutno zvážit dle závažnosti příslušného zásahu
- ✓ hodnocení výsledků je třeba dokladovat autorizovanými výsledky příslušných měření.

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátorech

4. Hodnocení výsledků kontrolních měření

4.1 Základní doporučení

Aby výsledky kontrolních měření mohly plně sloužit svému účelu, tj. vnitřní kontrole kvality, je nutné tyto výsledky a jejich trendy průběžně sledovat a pravidelně vyhodnocovat a závěry využívat k odstraňování poruch a ke zlepšování každodenní práce.

K rutinnímu vyhodnocení patří minimálně sledování

- ✓ variačních koeficientů a směrodatných odchylek u měřených parametrů (nemusí být vždy vyhodnocované počítané parametry)

Vyhodnocování lze provádět buďto pomocí

- ✓ jednoduchých statistických programů
- ✓ Westgardových pravidel
- ✓ hematologických analyzátorů, které mají dnes již zabudované vlastní programy pro statistické vyhodnocování výsledků VKK většinou s výstupem na Levey – Jenningsovy grafy
- ✓ vlastní tvorby regulačních diagramů a grafů

Nejkratší analytická série se skládá z jednoho vzorku, nejdelší analytickou sérií je jedna pracovní směna, pokud je při ní garantována stabilita analytického měřicího systému.

4.2. Vlastní hodnocení

4.2.1. Možné typy chyb

Při vyhodnocování nutno rozlišovat systematické a náhodné chyby (vychází se s Westgardových pravidel):

- ✓ jeden výsledek je mimo 2 SD: nahodilá chyba nebo varující signál pro systémovou chybu
- ✓ jeden výsledek je mimo 3 SD: závažná nahodilá chyba nebo varující signál pro systémovou chybu
- ✓ dva výsledky po sobě jsou mimo 2 SD: systémová chyba, odstranit příčiny
- ✓ čtyři výsledky po sobě jsou mimo 1 SD: systémová chyba, odstranit příčiny
- ✓ více výsledků po sobě je na jedné straně od střední hodnoty: varující signál pro systémovou chybu
- ✓ rozdíl mezi dvěma po sobě následujícími výsledky je větší než 4 SD (např. od +2 SD do – 2 SD): varující signál

Pokud dostaneme neuspokojivé výsledky měření:

- ✓ je nutné měření opakovat se stejným vzorkem

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátoch

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- ✓ jestliže chybné výsledky přetrvávají, provést měření s jiným kontrolním materiálem
- ✓ při opakovaně stejných chybných výsledcích je nutné pomýšlet na technickou nebo přístrojovou chybu.

4.2.2. Možné příčiny chyb

Ke správnému hodnocení je nezbytné znát všechna hlediska, která stanovení mohou ovlivnit (technické závady přístroje, špatné odběry, záměny vzorků, stav samotného vzorku, klinické aspekty, chyby mimo laboratoř, atd.), aby se včas mohlo reagovat na nesprávný výstup z hodnocení kontrolních procesů.

Některé možné typy chyb v laboratoři:

- ✓ nesprávné skladování vzorků (event. i diagnostik)
- ✓ nesprávné promíchání vzorku (*nutné dodržovat v dané laboratoři zavedené způsoby míchání vzorků před analýzou – doba míchání by však neměla přesáhnout 10 minut; promíchání je nezbytné při manuálním náběru vzorku analyzátořem*)
- ✓ nesprávný náběr vzorku analyzátořem, narušení vakua
- ✓ nesprávné ředění vzorku
- ✓ změny objemových relací používaných roztoků a vyšetřovaného materiálu v *měřicí jednotce analyzátořu*
- ✓ závady při vypouštění roztoků z měřicích jednotek analyzátořu
- ✓ elektrické interference nebo kolísání napětí uvnitř přístroje
- ✓ kontaminace externím šumem z okolních elektrických zařízení (např. interference magnetických a elektrických polí)
- ✓ ucpání měřicí *jednotky analyzátořu*
- ✓ kontaminace používaných roztoků (vysoké pozadí)
- ✓ vzduchové bublinky z prudkého míchání nebo vznikající v apertuře
- ✓ posunutí mezí nebo elektrická chyba při rozdělování a zařazování buněk
- ✓ zbytky lyzačního nebo čistícího roztoku, které mohou způsobit hemolýzu.

Možné příčiny chyb ze strany měřeného vzorku:

- ✓ nesprávný odběr (včetně špatné odběrové zkumavky)
- ✓ chylózní, *ikterický* a/nebo hemolytický vzorek; ovlivnění měřeného vzorku léčbou
- ✓ vzorek starší než doporučená doba stability měřeného biologického materiálu (obecně pro KO < 5 hodin)
- ✓ *kryoglobuliny (chladové protilátky)*

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- ✓ obsah nebuněčných elementů (*bakterie, paraziti*)
- ✓ jinak kontaminovaný vzorek.

5. Validace a verifikace

Nedílnou součástí procesu řízení kvality je provádění validace/verifikace metod. *Postup pro tuto činnost je k dispozici na webových stránkách ČSKB nebo společnosti NASKL: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-1/dop-validace.pdf>.*

6. Legislativa

Pro orientaci jsou uvedeny příklady některých základních norem, které mají vztah ke kontrolní činnosti.

1. ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 (*015253*) Posuzování shody - Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří. UNMZ Praha 2005 (*k datu vydání doporučení v revizi*).
2. ČSN EN ISO 15189:2013 (*855101*) Zdravotnické laboratoře Požadavky na kvalitu a způsobilost. UNMZ Praha 2013.
3. ČSN EN ISO 17511:2004 (*857020*) Zdravotnické prostředky pro diagnostiku in vitro – Měření veličin v biologických vzorcích – Metrologická návaznost hodnot přiřazených kalibrátorům a kontrolním materiálům. UNMZ Praha 2004 (*k datu vydání doporučení v revizi*).
4. ČSN EN ISO/IEC 17043:2010 Posuzování shody – Obecné požadavky na zkoušení způsobilosti. UNMZ Praha 2010.

7. Webové adresy související s kontrolou kvality

V následujícím textu jsou uvedeny příklady webových adres, kde lze nalézt podrobnější informace o kontrole kvality v klinických laboratořích.

- ✓ **CAP** – College of American Pathologists; největší kontrolní program USA
http://www.cap.org/web/home/lab/catalogs-ordering-shipping?_afLoop=707014367685258#!%40%40%3F_afLoop%3D707014367685258%26_adf.ctrl-state%3Do5x4m2mkb_38
- ✓ **CEN** – Comité Européen de normalisation (European Committee for Standardization) Evropský výbor pro normalizaci. Vyhlašuje evropské normy; ty se vydávají v členských státech jako národní verze (např. ČSN EN v ČR). <http://www.cen.eu>
- ✓ **CLSI** – Clinical and laboratory standards institute (USA – Ústav pro tvorbu pokynů a norem v laboratorní medicíně) – <http://clsi.org/>

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- ✓ **EQALM** – European Committee for External Quality Assurance Programmes in Laboratory Medicine (Evropská komise řídicí programové zajištění EQAS v laboratorní medicíně – sdružuje evropské systémy EQA) – <http://www.eqalm.org>
- ✓ **ICSH** – International Council for Standardization in Haematology (Mezinárodní výbor pro standardizaci v hematologii) – <http://www.icsch.org>
- ✓ **ISO** – International Organization for Standardization. Mezinárodní organizace pro normalizaci – vydává mezinárodní normy - <http://www.iso.org>
- ✓ **International Journal of Laboratory Hematology** – laboratorní hematologie <http://www.islh.org/web/journal.php>
- ✓ **NASKL** – Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře <http://www.naskl.cz/>
- ✓ **NIBCS** – National Institute for Biological Standards and Control (UK) (Britský národní ústav pro biologické referenční a kontrolní materiály) – <http://www.nibsc.org/>
- ✓ **RfB** – Referenzinstitut für Bioanalytik DGKL Bonn Organizátor EHK pro laboratorní medicínu v Německu <https://www.rfb.bio/>
- ✓ **WHO** – World Health Organization (Světová zdravotnická organizace) <http://www.who.org/>
- ✓ Westgardova pravidla a zásady: <http://www.westgard.com>

8. Použité zkratky

CV Variační koeficient

CRM Certifikovaný referenční materiál (Certified Reference Material)

EDTA Kyselina etylendiamintetraoctová (Ethylen Diamin Tetraacetic Acid)

EHK Externí Hodnocení Kvality (zkoušení způsobilosti)

EQA External Quality Assessment (externí hodnocení kvality)

ERM European Reference Materials (Evropské referenční materiály)

FDIS Konečný text návrhu mezinárodní normy (Final Draft International Standard)

H Kontrolní materiál s vysokou hodnotou měřené veličiny (High)

HCT Hematokrit

HGB Hemoglobin

[IQC](#) Mezinárodní označení pro VKK (Internal Quality Control)

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátoch

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

ISO Mezinárodní organizace pro normalizaci (International Organization for Standardization)

IVD MD Zdravotnické prostředky pro diagnostiku in vitro (In Vitro Diagnostic Medical Devices)

KO Krevní obraz

L Kontrolní materiál s nízkou hodnotou měřené veličiny (Low)

MCH Střední objem hemoglobinu v buňce

MCHC Střední koncentrace hemoglobinu v buňce

MCV Střední objem červených krvinek

N Kontrolní materiál s hodnotou měřené veličiny v oblasti referenčního intervalu
NRBC erythroblasty, normoblasty

PLT Krevní destičky

PT Proficiency Testing (Zkoušení způsobilosti laboratoří pomocí mezilaboratorního porovnávání zkoušek)

RBC Červené krvinky

RDW Rozsah objemové heterogenity erytrocytární populace

SD Směrodatná odchylka

SOP Standardní Operační Postup

SRM Standardní referenční materiál NIST (Standard Reference Material)

VKK Vnitřní kontrola kvality

WBC Bílé krvinky

WHO World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

9. Literatura

1. Plzák Z., Friedecký B., Kratochvíla J.: Metrologická terminologie 2. Vydal Eurachem ČR a SEKK 2009. Editoři Suchánek M. a Budina M. Volně dostupné na <http://www.sekk.cz/terminologie/index.htm>
2. Calibration and control of basic blood cell counters. WHO Document LAB/97.2 (1997)
3. Commission decision on Common Technical Specifications for *in vitro*-diagnostic medical devices. Official Journal of the European Communities 2002, L 131: 17 – 30.
4. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices. Official Journal of the European Communities 1998, Dec 7: L 331/1-L 331/37.

Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

5. VIM3:2008 - Mezinárodní metrologický slovník. Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny – ISO Guide 99. Volně dostupné na webu BIPM (verze anglická a francouzská): <http://www.bipm.org>. Mezinárodní metrologický slovník je dostupný i v české verzi na webu UNMZ bez úhrad http://www.unmz.cz/files/Sborniky%20TH/Terminologie%20v%20oblasti%20metrologie_DEF.pdf
6. *ISO CD 15195:2016 Laboratory Medicine–Requirement for the competence of calibration laboratories using reference measurement procedures. ISO Geneve 2016.*
7. ISO 15198:2004 Clinical laboratory medicine – In vitro diagnostic medical devices – Validation of user quality control procedures by the manufacturer. ISO Geneve 2004.
8. Lewis SM. Standardization and harmonization of the blood count: The role of International Committee (Council) for Standardization in Haematology (ICSH). Eur J Haematol 1990, 45 suppl. 53, 9-13
9. Nordin G. a kol.: A multicentre study of reference intervals for haemoglobin, basic blood cell count and erythrocyte indices in the adult population of the Nordic countries. Scand J Clin Lab Invest 2004, 64, 385 – 398
10. Quality assurance in haematology. WHO Document LAB/98.4 (1998)
11. EN/CEN 14136:2004. Use of External Quality Assessment Schemes in the Assessment of the Performance of in Vitro Diagnostic Procedures.
12. *Rilibäk 2014. Neufassung der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Deutsches Ärzteblatt (2014) 111/38 A1583 – A1618.*
13. *TNI Pokyn ISO 80:2015. Příručka pro vlastní přípravu materiálů pro řízení kvality (QCM). UNMZ 2015.*
14. *ISO Guide 30 až 35. Reference Materials. Committee on Reference Materials. ISO REMCO 2010 až 2016 (v ČR jako TNI Pokyny ISO 30 - 35; dostupné za úhradu na <http://www.unmz.cz/urad/csn-on-line>).*
15. Macdonald R. Quality assessment of quantitative analytical results in laboratory medicine by root square of measurement deviation. J Lab Med 2006; 30/3:111 - 117.
16. *Kolektiv: Doporučení k výpočtu nejistot kvantitativních výsledků měření v klinických laboratořích. Dostupné na: http://www.sekk.cz/infoservis/2014_nejistoty_doporuceni.pdf*
17. *B. Friedecký, J. Kratochvíla, M. Budina, T. Zima: Doporučení k externímu hodnocení kvality (EHK) 2014. Dostupné na: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni>.*
18. *ISO 13528:2016 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. ISO Geneve 2015.*