

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**KONTROLA KVALITY V HEMATOLOGICKÉ
LABORATOŘI**

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Ilona Fátorová

Konzultant: Ing. Eliška Pešková

HRADEC KRÁLOVÉ, 2016

Zuzana Hadysová

Poděkování

Ráda bych poděkovala konzultantce mé bakalářské práce Ing. Elišce Peškové za cenné rady, připomínky, ochotu a výbornou spolupráci. Poděkování patří taktéž vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Iloně Fátorové, která mi umožnila vypracování této bakalářské práce a rovněž za její cenné rady a připomínky.

Dále bych chtěla poděkovat celému kolektivu z laboratoře IV. Interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové a také své rodině, která mi studium umožnila a po celou dobu jeho trvání mě podporovala.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 29.8.2016

Obsah

1.	ABSTRAKT	6
2.	ABSTRACT	7
3.	ÚVOD	8
4.	ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE	9
5.	TEORETICKÁ ČÁST	10
5.1	Rozdělení a typy kontroly kvality	10
5.1.1	Eliminace neanalytických chyb	10
5.1.2	Vnitřní kontrola kvality	11
5.1.3	Externí kontrola kvality	12
5.2	Kontrolní materiál	13
5.3	Preventivní a kontrolní činnosti	13
5.3.1	Validace	14
5.3.2	Verifikace	14
5.3.3	Background (pozadí)	14
5.3.4	Nejistota měření	15
5.3.5	Preciznost	16
5.3.6	Pravdivost	16
5.3.7	X-B analýza	18
5.3.8	Porovnatelnost vyšetřovacích metod	18
5.3.9	Provozní deník	18
5.4	Statistické hodnocení	19
5.4.1	Regulační diagramy	19
5.4.2	Metody skórování	19
5.5	Hodnocení	21
5.5.1	Základní doporučení	22
5.5.2	Hodnocení EHK	22
5.5.3	Hodnocení VKK	23
6.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
6.1	Úsek krevních obrazů	25

6.1.1	Kontrolní materiál	25
6.1.2	Kontrolní postupy.....	26
6.1.3	Opatření v případě neshod ve VKK	31
6.1.4	EHK	31
6.2	Úsek koagulace.....	32
6.2.1	Kontrolní materiál	33
6.2.2	Kontrolní postupy.....	33
6.2.3	Opatření v případě neshod ve VKK	35
6.2.4	EHK	35
6.3	Úsek morfologie	37
6.3.1	Kontrola panopticky obarveného nátěru.....	37
6.3.2	Kontrola nátěru obarveného cytochemicky.....	38
6.3.3	Kontrola hodnocení nátěrů.....	38
6.3.4	Opatření vedoucí k nápravě.....	40
7.	DISKUSE A ZÁVĚR	41
8.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	42
9.	SEZNAM TABULEK	44
10.	SEZNAM GRAFŮ.....	44
11.	POUŽITÁ LETERATURA.....	45

1. ABSTRAKT

Cíl: V teoretické části bylo mým úkolem provést rešerši o interní a externí kontrole kvality v hematologické laboratoři. V experimentální části práce jsem se zaměřila na popis systému kontroly kvality laboratoře IV. Interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Hlavní poznatky: Součástí kontroly kvality v hematologické laboratoři je mnoho preventivních a kontrolních činností sloužících k odhalení případných chyb a poruch a k hodnocení systému kontroly kvality. Každá laboratoř (malá či velká) má vypracované zásady pro kontrolu kvality, jimiž se musí řídit.

Závěry: Kontrola kvality je důležitou součástí každé laboratoře, pomáhá odhalit a eliminovat analytické i neanalytické chyby v procesu získání správných laboratorních výsledků. Je potřeba neustále pracovat na jejím vylepšení, neboť zvyšuje důvěru pacientů, zdravotníků a také laboratorních pracovníků ve správnost výsledků vydávaných laboratoří.

Klíčová slova: interní kontrola kvality, externí kontrola kvality, hematologická laboratoř

2. ABSTRACT

Background: In the theoretical part there was my task to carry out a search of internal and external quality control in hematology laboratory. In the experimental part of the work I focused on the description of quality control of laboratory IV. Internal Hematology Clinic of the University Hospital Hradec Kralove.

Main findings: Many prevention and control activities serving to detect any errors and failures and to evaluate quality control system are part of quality control in hematology laboratory. Every laboratory (small or large) has developed principles for quality control which must be followed.

Conclusions: Quality control is important part of every laboratory, it helps to identify and eliminate analytical and non-analytical errors in the process of obtaining correct laboratory results. It is necessary to constantly work on the improvement because it increases the confidence of patients, medical staff and also laboratory workers in the accuracy of the results issued by the laboratory.

Keywords: internal quality control, external quality control, hematology laboratory

3. ÚVOD

Povinností každé laboratoře je zajistit spolehlivost laboratorních výsledků vyšetření. K dosažení takových výsledků měření přispívá systém kontroly kvality, který se sestává z interní a externí kontroly kvality, kontroly kvality preanalytické a postanalytické fáze analýzy a další kroky vedoucí k co nejvyšší spolehlivosti výsledků vyšetření. Cílem každé laboratoře je dosáhnout srovnatelných výsledků s ostatními laboratořemi, tzn. s laboratořemi v ČR, ale i s laboratořemi v jiných zemích.

Každá laboratoř má vypracované zásady pro kontrolu kvality, jimiž se musí řídit. Tyto zásady se uplatňují jak v malých laboratořích, tak i ve velkých centrálních laboratořích.

4. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem této práce je získání znalostí týkajících se problematiky kontroly kvality v hematologické laboratoři, a to jak kontroly interní, tak externí. Preventivní a kontrolní činnosti s ní související jsem popsala v teoretické části. Experimentální část je zaměřena na popis systému kontroly kvality v konkrétní laboratoři, a to v laboratoři IV. interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové, kde je systém kontroly kvality rozdělen podle jednotlivých úseků, a to na úsek krevních obrazů, úsek koagulace a úsek morfologie.

5. TEORETICKÁ ČÁST

5.1 Rozdělení a typy kontroly kvality

Vlastní kontrolu kvality rozdělujeme do tří částí:

1. Eliminace neanalytických chyb
2. Vnitřní kontrola kvality
3. Externí kontrola kvality (Pecka & kol., 2010)

V roce 1980 vznikla technická komise (TC) ISO neboli Mezinárodní normalizační organizace, ve které je více než sto států. Tato organizace zpracovala normy pro řízení kvality ve vymezené oblasti s cílem zabezpečit tvorbu těchto norem. Ty byly schváleny v roce 1987 jako normy řady 9000. Může se jimi řídit kterákoliv organizace po celém světě. Normy jsou vydávány národním normalizačním orgánem v jednotlivých zemích. U nás jsou tyto normy označené prefixem ČSN. (Madar & kol., 2004; Fabián & Dobiáš, 2007)

5.1.1 Eliminace neanalytických chyb

Do neanalytických chyb řadíme chyby provedené v preanalytické fázi a postanalytické fázi.

Chyby provedené v preanalytické fázi může ovlivnit biologická proměnlivost, pohlaví, věk, rasa, gravidita, fyzická zátěž, dieta a léky. Jako příklad uvádíme nadmořskou výšku, místo odběru, čas odběru a polohu pacienta při něm či vliv protisrážlivých činidel, dále kontaminaci ať už dezinfekčními prostředky nebo infuzí. Tyto chyby mohou nastat před anebo při odběru biologického materiálu. Do preanalytické fáze řadíme i chyby vzniklé po odběru, ale ještě před vlastní analýzou. Jako příklad uvádíme hemolýzu, chylozitu, vliv srážení, kvalita provedených nátěrů, ale i uložení vzorků při transportu a samotný transport a délka jeho trvání.

Chybná interpretace výsledků způsobená chybnou jednotkou měření, desetinnou čárkou nebo záměnou výsledků patří do chyb provedených v postanalytické fázi. Souvisí to i s transportem výsledků na klinická oddělení a komunikací mezi nimi a laboratořemi. (Pecka & kol., 2010)

Byla vytvořena světová pracovní skupina zabývající se laboratorními chybami a bezpečností pacientů při vyšetření. Dále jsou důležité indikátory kvality, které vyjadřují procentuální výskyt specifické chyby v laboratoři. Umožňují tak kontrolované procesy podle určitého měřítka srovnávat a zlepšovat. (Pecka & kol., 2010; Friedecký, 2007)

Příklady některých indikátorů kvality:

- chybná identifikace vzorku pacienta
- chybné označení oddělení nebo ambulance
- chybná specifikace požadavku (rutinní/statim)
- nevhodný objem vzorku nebo odběrová nádoba
- srážlivost
- hemolýza
- skladování vzorku (Friedecký, 2007)

5.1.2 Vnitřní kontrola kvality

Vnitřní kontrola kvality (VKK) je soubor různých operativních technik a činností prováděných personálem laboratoře přímo v místě prováděných služeb. Tyto operativní techniky a činnosti vedou ke splnění požadavků na danou kvalitu služeb a snaží se detekovat a případně eliminovat chyby, které jsou příčinami nedostatečné spolehlivosti.

Díky této kontrole získáváme denní informace o používaných metodách a také zda jsou výsledky reprodukovatelné. Je to systém, který zvyšuje pravděpodobnost, že výsledek bude validní a lékař jej bude moci použít při rozhodování diagnostického a terapeutického procesu. Kontrola však nezajišťuje správnost výsledků. Hodnocení provádí sama laboratoř. VKK zahrnuje jak fázi preanalytickou, tak analytickou a postanalytickou. (Matýšková & kol., 2002; Pecka & kol., 2010; Plzák & kol., 2009)

VKK by měla splňovat určitá kritéria: jednoduchost, přehlednost, účinnost, ekonomicky co nejmenší náročnost, soulad s normami, legislativou a odbornými poznatky. (Pecka & kol., 2010)

Je důležité kvalitu řídit systémově a na všech úrovních. Hovoříme tedy o kvalitě výrobku, služby, procesů, zdrojů a systému managementu. Ten zahrnuje činnosti vedení, jenž má zodpovědnost za politiku a cíle kvality a za jejich realizaci. To vše musí být v souladu s normami ČSN ISO 9001:2000. Systém kvality musí být zdokumentován do příručky kvality. Za ni je zodpovědné vedení laboratoře. (Madar & kol., 2004; Pešek, 2003)

5.1.3 Externí kontrola kvality

Externí hodnocení kvality (EHK) je doplňkem vnitřní kontroly kvality, validace, verifikace, atd. Zajišťuje metrologickou návaznost výsledků měření, což umožní dané laboratoři detekovat případné chyby a usnadní jejich odstranění. Dále vede ke zlepšování kvality a určení odhadu nejistot. Účast v EHK je povinná. (Pecka & kol., 2010)

Pomocí EHK hodnotíme výsledky měření prováděných v jedné laboratoři a porovnáváme je s výsledky měření z jiných laboratoří. Používáme k tomu stejný materiál, který distribuuje jedna nezávislá organizace. Ta pak ze získaných výsledků provádí statistické zpracování dat. (Matýšková & kol., 2002)

Hematologická laboratoř se EHK účastní pravidelně, minimálně 2x za rok. Kontrola se týká všech metod, které laboratoř provádí, a kontrolní materiál musí být dostupný v rámci České republiky. Pro certifikované metody musí mít platný certifikát. Úspěšnost v EHK musí být vyšší nebo rovna 60 procentům pro každou dostupnou metodu, a to v posledních 2 letech.

V případě používání více přístrojů v jedné laboratoři (na stejném místě) může být jeden z přístrojů použit jako referenční. Ten se poté účastní EHK. Ostatní přístroje jsou kontrolovány mezipřístrojovou kontrolou v návaznosti na EHK, a to podle pravidel VKK. (Pecka & Matýšková, 2012)

EHK nás informuje o tom, zda správně provádíme vnitřní kontrolu kvality. Vyhodnocení EHK neprovádí sama laboratoř, ale nezávislé externí pracoviště. To pak poskytne laboratoři výsledky, zda byla v EHK úspěšná či ne. V případě neúspěchu to znamená, že výsledné hodnoty byly mimo toleranční rozpětí. Toleranční rozpětí představuje interval, ve kterém by se měly výsledné hodnoty pohybovat. Pro kontrolu

může být použit certifikovaný referenční materiál o známé referenční hodnotě, která je pro EHK použita jako cílová hodnota. (Matýšková & kol., 2002; Beránek & kol., 2013)

Mezi prvky vnějšího řízení kvality řadíme:

- účast v EHK
- externí audity
- porovnávací a certifikační studie (Plzák & kol., 2009)

V České republice se EHK zabývá akreditovaná firma SEKK s.r.o. sídlící v Pardubicích. Tato firma se řídí požadavky normy ISO 17043. Podrobněji je systém EHK popsán v kapitole 5.5 Hodnocení. (Budina, 2016)

5.2 Kontrolní materiál

Kontrolní materiál je materiál používaný pro VKK a EHK. Stejně jako analyzovaný vzorek je i tento kontrolní materiál podroben stejnému měřicímu postupu. Úkolem je účinné monitorování analytického procesu. Mezi kontrolní materiály řadíme kalibrátory, certifikované referenční materiály nebo jiné standardizované materiály. (Plzák & kol., 2009; Pecka & kol., 2010)

Kontrolními vzorky by měly být nejlépe vzorky na bázi lidské matrice a měly by se co nejvíce podobat složení analyzovaných vzorků pacientů. Ne vždy je tomu ale možné vyhovět. Používá se materiál s cílovými hodnotami nebo bez nich. Nejvhodnější jsou kapalně materiály, které jsou buď stabilizované (např. upravená lidská krev) nebo nativní (čerstvě odebraný biologický materiál). Poslední možností je kontrolní materiál, který je připravený výrobcí analyzátorů přímo pro určitý druh VKK. V poslední době se vyskytuje i materiál připravený přímo v laboratoři. Tak je tomu ale zatím pouze výjimečně.

Kontrolní měření by se mělo provádět alespoň na dvou hladinách kontrolního materiálu. Lepší je však použití více hladin. Kontrolní materiál by měl být nejlépe od jednoho výrobce nebo dodavatele. Při práci s těmito materiály je nutné se řídit pokyny výrobce. (Pecka & kol., 2010; Pecka & Matýšková, 2012)

5.3 Preventivní a kontrolní činnosti

5.3.1 Validace

Validace analytické metody je proces, který ověřuje, že metoda je vhodná k určenému účelu. Odchylky vzniklé během procesu musí splňovat požadovaná kritéria. Mezi validované parametry řadíme nejistotu měření, preciznost, pravdivost, citlivost, linearitu, mez detekce, mez srovnatelnosti, specifickou, výtěžnost, porovnatelnost a proveditelnost vyšetření. Spolehlivost neboli validace musí dlouhodobě vyhovovat kontrole kvality. Validace potvrzuje, že měřicí postup/měřicí systém/výrobek IVD MD (In vitro diagnostic – medical device) je schopen plnit požadavky na ně kladené. Jinak řečeno, že úroveň měření je dostatečná, postupy měření korektní a s řádně provedenou kalibrací. Validaci diagnostické soupravy provádí výrobce a označí ji příslušnou značkou IVD nebo CE. Pokud však metodu vyvinula sama laboratoř, provádí validaci přímo laboratoř. (Huber, 2010; Friedecký & kol., 2009; Beránek & kol., 2013; Bourková & kol., 2016)

5.3.2 Verifikace

Tento pojem úzce souvisí s validací. Jedná se o ověření platnosti validace metody v průběhu jejího používání. Soupravy opatřené certifikátem IVD (in vitro diagnostik) nebo CE pouze verifikujeme, jejich validaci provedl již výrobce. Verifikace prokazuje, že laboranti a přístroje v laboratořích jsou způsobilí k provádění daného měřicího postupu. To znamená, že měřicí postup či systém je v dané laboratoři plně funkční. Cílem je tedy průkaz o deklarované výkonnosti, kterou uvádí výrobce. Výkonnostními parametry verifikace jsou opakovatelnost, mezilehlá preciznost a bias. Laboratoř verifikuje všechny metody, i ty, které sama validovala. (Beránek & kol., 2013; Friedecký & kol., 2011; Friedecký & kol., 2004)

5.3.3 Background (pozadí)

Background je kontrolní proces čistoty pozadí analyzátoru, při kterém se sledují hodnoty určitých naměřených parametrů. Tyto parametry se nesmí pohybovat mimo rozmezí, které je pro daný parametr a analyzátor pevně dané, specifické. Kontrola pozadí se provádí při každém spuštění analyzátoru, tedy každý den. (Bourková & kol., 2016)

5.3.4 Nejistota měření

„Parametr přidružený k výsledku měření, který charakterizuje míru rozptýlení hodnot, které by mohly být důvodně přisuzovány měřené veličině.“ „Nezáporný parametr charakterizující rozptýlení hodnot veličiny přiřazených k měřené veličině na základě použité informace.“ (Plzák & kol., 2009, VIM3, článek 2.26)

Nejistota měření znamená pochybnost o platnosti výsledku měření. Skládá se z více dílčích složek, proto ji nazýváme kombinovanou nejistotou. Některé složky jsou získány statistickým zpracováním dat získaných měřeními (typ vyhodnocování A) pomocí směrodatné odchytky. Jiné využívají data z dokumentace a literatury (typ vyhodnocování B), tedy bez použití měření.

Směrodatná odchytky se nazývá standardní nejistota měření. Je to polovina šířky intervalu, v jehož středu leží cílová hodnota. Přesný výsledek měření neexistuje, neboť nejistota měření nikdy nedosahuje nulové hodnoty. Výsledkem měření je interval, ve kterém se výsledek měření nachází s určitou pravděpodobností. (Bartoš & kol., 2014; Friedecký & kol., 2009)

Standardní nejistota (**u**), jež je dílčí složkou nejistoty, je vyjádřena ve formě směrodatné odchytky (**SD**). Sloučením jednotlivých standardních nejistot získáme nejistotu kombinovanou (**u_c**). Tu vynásobíme koeficientem rozšíření (**k**) a získáme tak kombinovanou rozšířenou nejistotu (**U_c**), jejíž vzorec vypadá takto:

$$U_c = k * u_c$$

Koeficient rozšíření $k = 2$ se používá nejčastěji. Odpovídá přibližně 95% hladině spolehlivosti. Pokud je rozšířená kombinovaná nejistota součástí výsledku měření, znamená to, že výsledné hodnoty měření se nacházejí v intervalu s pravděpodobností 95 %. Pokud nejistotu vyjadřujeme v jednotkách měření, pak hovoříme o absolutní nejistotě. Pokud vyjadříme nejistotu v procentech, hovoříme o nejistotě relativní. Ta se v praxi používá častěji.

Příklad zápisu výsledku včetně nejistoty vypadá takto: stanovení fibrinogenu v krvi je $(2,6 \pm 0,3) \text{ g l}^{-1}$. Musíme zde uvést, že se jedná o rozšířenou nejistotu měření a že byl pro výpočet použit koeficient 2, který odpovídá 95% hladině spolehlivosti. (Pecka & kol., 2010; Bartoš & kol., 2014)

5.3.5 Preciznost

„Těsnost shody mezi indikacemi nebo naměřenými hodnotami veličiny získanými opakovaným měřením na stejném objektu nebo na podobných objektech za specifikovaných podmínek.“ (Plzák & kol., 2009, VIM3, článek 2.15)

Preciznost je nový český ekvivalent pro přesnost. Závisí pouze na rozdělení náhodných chyb. Preciznost měření bývá vyjádřena matematicky, a to směrodatnou odchylkou. Může být vyjádřena i variačním koeficientem (**CV**), a to v případě porovnávání preciznosti více metod, které se liší svými jednotkami. Hodnotu CV získáme:

$$CV = 100 * \frac{SD}{x}$$

kde **x** představuje průměr jednotlivých měření. Výsledek CV je v procentech. Čím nižší je hodnota CV, tím je metoda preciznější. Vyjádření CV probíhá za specifických podmínek měření. Jsou jimi opakovatelnost, mezilehlá preciznost a reprodukovatelnost. (Pecka & kol., 2010; ISO 3534-2:2006, 2006; Beránek & kol., 2013; Friedecký & kol., 2009)

O **opakovatelnosti** hovoříme, když testujeme preciznost metody v jedné analytické sérii. Testování probíhá za shodných analytických podmínek, tedy v krátkém čase, na stejném vybavení, po stejné kalibraci, stejnou osobou a použitím reagensů od jednoho výrobce se stejnou šarží. (EURACHEM/CITAC Guide, 2012)

Pokud preciznost určujeme za různých laboratorních podmínek, mluvíme o **mezilehlé preciznosti (CV_p)**. Ta může probíhat v rámci několika sérií měření – laboratorní preciznost mezi sériemi vyšetření během jednoho dne nebo v rámci několika dní. (Beránek & kol., 2013)

Pojem **reprodukovatelnost** zahrnuje měření preciznosti za různých laboratorních podmínek – různá místa, měřicí systémy, personál, atd. Jejich změnou se zvyšuje rozptyl měření a hodnota CV. Preciznost v tomto případě zjišťujeme porovnávacími zkouškami mezi laboratoři. (Pecka & kol., 2010)

5.3.6 Pravdivost

„Těsnost shody mezi aritmetickým průměrem nekonečného počtu opakovaných naměřených hodnot veličiny a referenční hodnoty veličiny.“ (Plzák & kol., 2009, VIM3, článek 2.14)

Míru pravdivosti vyjadřuje bias (vychýlení). Pravdivost měření je nepřímo vztažena pouze k systematické chybě měření a nemůžeme ji číselně vyjádřit, protože není veličinou. Míry pro těsnost shody jsou uvedeny v ČSN ISO 5725:1997. Součástí pravdivého výsledku je systematická chyba. (Pecka & kol., 2010; Plzák & kol., 2009)

Systematická chyba může být způsobena absencí referenční metody. To znamená, že chybí referenční hodnota analytu a nejsme tedy schopni zkontrolovat, jak moc je rutinní vyšetřovací metoda nesprávná. Referenční metoda má nízkou náhodnou složku nejistoty měření a nulovou složku systematické chyby. Rutinní metoda slouží k přípravě certifikovaných referenčních materiálů, které se používají ke kontrole kvality a ke kalibraci metod. Pravdivost určuje návaznost rutinní metody na referenční. Jak již bylo řečeno výše, pravdivost se tedy určuje pomocí certifikovaných referenčních materiálů o známé hodnotě daného analytu. (Beránek & kol., 2013)

Bias (b) je rozdíl mezi naměřenou hodnotou a hodnotou referenční, který nás upozorňuje na pravdivost dané metody. Je vyjádřen stejnými jednotkami, v jakých je udávaná měřená veličina. Odhaluje systematické chyby měření, a to tak, že je použit dostatečný počet opakování měření analytu. Bias je dán vztahem:

$$b = \text{střední hodnota naměřených hodnot} - \text{referenční hodnota}$$

Vyčíslení systematické chyby bude opatřeno znaménkem plus anebo mínus. V případě kladného znaménka se jedná o falešnou pozitivitu výsledků. Záporné znaménko představuje falešnou negativitu výsledků. V praxi se využívá relativní bias (**b_r**), který je vyjádřen v procentech:

$$b_r = 100 * \left(\frac{b}{\text{referenční hodnota} * \sqrt{3}} \right)$$

(Beránek & kol., 2013; Friedecký & kol., 2004)

K určení pravdivosti se používají referenční materiály nejvyššího stupně. Tyto materiály mají hodnoty charakterizované pomocí referenčních materiálů a mají uvedené kombinované nejistoty. Kontrolu pravdivosti provádíme podle potřeby. Používáme při

tom různé referenční materiály v různém pořadí tak, aby byl pokryt celý klinický rozsah. Hodnota bias nesmí být překročena. Pokud se tak stane, musíme najít příčinu a vše opakovat. Záznamy se uchovávají po dobu 5 let. (Pecka & kol., 2010)

5.3.7 X-B analýza

X-B analýza neboli klouzavý průměr je nepřetržitá kontrola kvality prováděná nezávisle a kontinuálně přístrojem. Výhodou je rychlé odhalení systematické chyby. Do analýzy jsou zahrnuty všechny změřené vzorky.

Výpočet průměrné hodnoty provádí automaticky analyzátor, a to z minimálně 20 po sobě jdoucích vzorků. Průměr se počítá pro každý parametr, ale většinou se sledují pouze stabilní parametry MCV, MCH a MCHC. Výsledné hodnoty jsou vyjádřeny numericky anebo pomocí grafů a vyhodnocení probíhá podle Westgardových pravidel. To znamená, že všechny tyto hodnoty musí ležet v intervalu $\pm 2SD$ od dlouhodobého průměru. (Bourková & kol., 2016)

5.3.8 Porovnatelnost vyšetřovacích metod

Výsledky vyšetření se porovnávají proti referenční metodě, a to graficky nebo matematicky jako součást validace. Využíváme k tomu rovnici regresní křivky, kterou získáme z grafu, do něž vyneseme na osu x výsledky získané validovanou metodou a na osu y výsledky referenční metody. Výsledné hodnoty nemusejí být shodné, ale vykazují stejnou tendenci. Jejich těsnost vztahu vyjadřuje korelační koeficient (**r**), který se blíží hodnotě 1. V praxi se za dobrou korelaci považuje, když je hodnota $r > 0,9$. (Beránek & kol., 2013)

5.3.9 Provozní deník

Do provozního deníku zaznamenáváme všechny činnosti související s daným přístrojem. Příkladem je zahájení a ukončení činnosti na daném přístroji, výměna reagensů, závady, opravy, atd. Záznamy se provádějí každý den. U jednotlivých záznamů musí vždy být datum, popis problému, jméno a podpis pracovníka, který danou problematiku řešil. (Bourková & kol., 2016)

5.4 Statistické hodnocení

5.4.1 Regulační diagramy

Regulační diagram je graf, který pomáhá při VKK. Je to statistická diagnostická pomůcka. Slouží nám k posouzení sledovaného procesu, který představuje jakoukoliv měřenou veličinu, zda se nachází ve stavu statistické regulace. Tzn., že nedošlo k žádným změnám a proces probíhá tak, jak jsme to od něj očekávali. Graf obsahuje dvě meze – horní a dolní. Mezi těmito limity se zobrazují hodnoty sledovaných měř kontrolních vzorků v po sobě jdoucím časovém úseku. Graf nám umožní pozorovat tendenci hodnot měření a určit bias. (Pecka & kol., 2010)

Pozn. „*Graf má obvykle vynesenu centrální přímkou a přímkou vymezující varovné a regulační (kontrolní) oblasti.*“ (Plzák & kol., 2009)

5.4.1.1 Regulační diagram průměru

Tento druh diagramu je ve VKK používán nejčastěji. Základem je centrální linie (μ , \bar{x} a další) a čtyři meze. Každá z nich má spodní a horní hranici. Příkladem varovné meze může být $\bar{x} \pm 2SD$, u regulační je to $\bar{x} \pm 3SD$. Meze určujeme pomocí percentilů, směrodatných odchylek nebo variačního koeficientu. Pro výpočet mezí a průměru můžeme využít i jiné statistiky. (Pecka & kol., 2010)

5.4.2 Metody skórování

Řadíme sem více typů, např. p-skóre, E_n skóre, Zeta skóre a Z-skóre.

5.4.2.1 P-skóre

Toto statistické hodnocení používáme nejčastěji. Ukazuje vzdálenost výsledku, který je od vztažné hodnoty v násobcích D_{\max} (přijatelných rozdílů v procentech). Čím menší je P-skóre, tím lépe. $|PI|$ blížící se nule znamená, že je výsledek blíže ke vztažné hodnotě. Pokud se $|PI| = 0$, výsledek se úplně shoduje se vztažnou hodnotou. Je-li $|PI| \leq 1$, výsledek je přijatelný, jedná se o úspěšné stanovení pro daný vzorek. Je-li však $|PI| > 1$, výsledek je nepřijatelný a stanovení pro daný vzorek je neúspěšné. Vztah pro výpočet P-skóre vyjadřuje následující vzorec:

$$P = \frac{D_{\%}}{D_{max}} = \frac{100}{D_{max}} * \frac{VU - AV}{AV}$$

Zároveň však platí:

$$LL = AV * \left(1 - \frac{D_{max}}{100}\right) \text{ a } UL = AV * \left(1 + \frac{D_{max}}{100}\right)$$

AV – vztažná hodnota

D% - rozdíl výsledku naměřené hodnoty a vztažné hodnoty vyjádřený v procentech

D_{max} – přijatelný rozdíl vyjádřený v procentech

LL – dolní mez přijatelných výsledků

P – P-skóre

UL – horní mez přijatelných výsledků

VU – výsledek naměřené hodnoty (SEKK, 2011)

5.4.2.2 E_n skóre

Čím menší je E_n skóre, tím lépe. Pokud je |E_n| = 1, laboratorní výsledek se shoduje s referenční hodnotou s 95% pravděpodobností. Proto je |E_n| = 1 považováno za hraniční hodnotu. To znamená, že laboratoř dosahuje ideálních výsledků, je-li |E_n| ≤ 1.

$$E_n = \frac{x_{lab} - X_{ref}}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}}$$

X_{lab} – výsledek měření laboratoře

X_{ref} – referenční hodnota

U_{lab} – rozšířená nejistota výsledku měřeným laboratoří

U_{ref} – rozšířená nejistota referenční hodnoty (použití koeficientu rozšíření k = 2)

(Bartoš & kol., 2008)

5.4.2.3 Zeta (ζ) skóre

Nevyužívá koeficient rozšíření. Platí pro něj stejně jako pro E_n, že čím je hodnota menší, tím lépe. Ideální je pokud |ζ| ≤ 2. Je-li |ζ| = 2, jde o hraniční hodnotu. Výpočet ζ skóre funguje na stejném principu jako pro E_n skóre. (Pecka & kol., 2010)

5.4.2.4 Z-skóre

Tento postup se používá dlouhou dobu, ale v současnosti čím dál méně, protože není dostatečně objektivním kritériem. Je totiž velice citlivý na výsledky naměřených hodnot a jejich změny. Je používán především kvůli jednoduchosti a přehlednosti. Využívají ho některé systémy EHK, např. nezisková organizace v Holandsku - ECAT (Foundation International External Quality Assessment Programme in Haemostasis and Thrombosis).

Vztah pro výpočet je: $Z = \frac{x - \bar{x}}{s}$; kde x je výsledek účastníka, \bar{x} značí aritmetický průměr všech výsledků (kromě odlehlých) a s je směrodatná odchylka všech výsledků. Podle tohoto skóre se často hodnotí výsledky v rámci EHK. Interpretace Z-skóre je uvedena v následující tabulce.

Tabulka č. 1: Interpretace Z-skóre

$ Z \leq 1$	vynikající výsledek
$1 < Z \leq 2$	dobrá, přijatelný výsledek
$2 < Z \leq 3$	pochybný výsledek, který by měl být prověřen
$ Z > 3$	významná a vážná chyba ve stanovení

Zdroj: (SEKK, 2011)

Přístup pomocí Z-skóre není jednotný ve všech případech, jelikož kritéria se mohou v praxi nepatrně měnit.

Někdy se používá přístup zvaný Fitness for Purpose (**FFP**), který se počítá podobně jako Z-skóre. Změna je pouze v nahrazení s rozšířenou nejistotou měření U_{lab} :

$skóre_{FFP} = \frac{x - \bar{x}}{U_{lab}}$. Tento přístup lze uplatnit pouze v rámci jedné laboratoře, jelikož je ve vzorci uveden odhad její vlastní nejistoty. Za přijatelné považujeme, když $|skóre_{FFP}| \leq 1$. (Bartoš & kol., 2008)

5.5 Hodnocení

5.5.1 Základní doporučení

V laboratoři je důležité provádět průběžnou kontrolu, tzn. sledovat a pravidelně vyhodnocovat výsledky kontrolních měření. Závěry z těchto kontrol využíváme k eliminaci poruch a ke zkvalitnění práce. (Bourková & kol., 2016)

Mezi hlavní parametry sledování rutinních vyšetření patří variační koeficient a směrodatné odchylky. Vyhodnocení krátkodobé provádíme pomocí regulačních diagramů a grafů, Westgardových pravidel a statistických programů. Jiné statistické metody a různé indexy spolehlivosti využíváme pro hodnocení dlouhodobé. Kvalitu vyjadřujeme prostřednictvím celkové povolené chyby nebo celkové povolené nejistoty. Jejich hodnoty jsou určeny odbornými společnostmi nebo jsou to hodnoty získané z pokynů ISO Guide. (Pecka & kol., 2010)

Pro kontrolní vzorky využíváme stejný postup měření jako pro vzorky pacientů. Není to však možné vždy. Získané výsledky ihned vyhodnocujeme. Výsledky získané z VKK můžeme použít i k validaci či verifikaci metody nebo k určení odhadu nejistoty. (Pecka & kol., 2010)

Pro EHK je nutné dodržovat několik zásad. První zásadou je, že vzorek vždy testujeme v sérii se vzorky reálných hematologických vzorků. Stejně tak ho i analyzujeme, a to ve stejném počtu. Organizátor EHK musí zaručit nedostupnost individuálních výsledků měření. Z toho vyplývá, že vzorky analyzované výhradně v dané laboratoři neposkytujeme a nekonzultujeme s jinými laboratořemi. Každý přístroj má vlastní výsledek. (Friedecký & kol., 2009)

Při VKK a EHK je nutné pracovat s kontrolním vzorkem stejně jako s patientským a testovat ho vždy v sérii s reálnými vzorky. Jedná-li se o stabilizovaný materiál, je nutné se před analýzou řídit doporučením výrobce. (Budina, 2016)

5.5.2 Hodnocení EHK

Hodnocení v rámci EHK rozdělujeme na dva typy, a to krátkodobé a dlouhodobé. Krátkodobé hodnocení zahrnuje jeden cyklus EHK, dlouhodobé hodnocení probíhá za standardních podmínek každé dva roky. Zahrnuje přitom změny v nastavení systému,

verifikaci, validaci a hodnocení analytických parametrů. (Pecka & kol., 2010; Budina, 2016)

Kontrolní cyklus probíhá podle časového plánu, který je laboratořím znám měsíce dopředu. Nejprve zúčastněná laboratoř obdrží neznámé kontrolní vzorky od organizátora, které změří a výsledky pošle zpět organizátorovi k vyhodnocení. (Pecka & kol., 2010)

Při účasti v cyklu EHK laboratoř obdrží osvědčení o účasti, certifikát (pokud je metoda certifikovaná a laboratoř v EHK uspěje), histogramy, celkovou statistiku a výsledkový list. Celková statistika zahrnuje kvantitativní výsledky a historii P-skóre. Součástí výsledkového listu je hodnocení aktuálních výsledků, dále úspěšnost za poslední dva roky pro každou zkoušku a pro daný program, který zahrnuje více zkoušek. (Budina, 2016)

Organizátor EHK musí zaručit nedostupnost individuálních výsledků měření před oficiálním vyhodnocením daného cyklu. Z toho vyplývá, že vzorky EHK se analyzují výhradně v dané laboratoři a výsledky se neposkytují ani nekonzultují s jinými laboratořemi. (Friedecký & kol., 2009)

5.5.3 Hodnocení VKK

5.5.3.1 Typy chyb

Laboratorní chyby jsou dvojího typu – náhodné a systematické. Z VKK je lze sledovat podle Westgardových pravidel. Pokud je jeden výsledek mimo 2SD, znamená to nahodilou chybu nebo varující signál pro systémovou chybu. V případě jednoho výsledku mimo 3SD se jedná o závažnou nahodilou chybu nebo varující signál pro systémovou chybu. Dva po sobě jdoucí výsledky mimo 2SD představují systémovou chybu, jejíž příčinu je potřeba odstranit. Čtyři po sobě jdoucí výsledky mimo 1SD značí systémovou chybu, jejíž příčinu je třeba odstranit. Pokud je více po sobě jdoucích výsledků na jedné straně od střední hodnoty, je to varující signál pro systémovou chybu. Když bude mezi dvěma po sobě jdoucími výsledky rozdíl větší než 4SD, jedná se o varující signál.

V případě neuspokojivých výsledků měření musíme měření opakovat, a to se stejným vzorkem. Pokud jsou výsledky stále chybné, měření provedeme s jiným kontrolním materiálem. Jestliže však chybné výsledky přetrvávají, jedná se zřejmě o technickou nebo přístrojovou chybu. (Bourková & kol., 2016)

5.5.3.2 Příčiny chyb

Příčinami můžou být technické závady přístroje, špatné odběry, záměny vzorků, apod. Všechny tyto příčiny je třeba znát, aby hodnocení bylo správné a my mohli včas reagovat a opravit chybné výstupy. Chyby mohou nastat v laboratoři a/nebo přímo při odběru vzorku.

Příkladem chyb v laboratoři může být špatné skladování vzorků, jejich nesprávné promíchání, ředění, atd. Dále pak chyby související s přístroji jako je nesprávná aspirace vzorku analyzátozem nebo přístrojové závady (vypouštění roztoků, elektrické interference, kolísání napětí, ucpání atd.).

Za chybami mohou být špatné odběry materiálu (nesprávná zkumavka, nesprávné množství materiálu), interference přímo ve vzorku (chylózní, ikterický nebo hemolytický vzorek), starý vzorek (doručení do laboratoře po uplynutí doby stability vzorku pro daný test) nebo jeho kontaminace či rozbité buňky. (Bourková & kol., 2016)

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Tato část práce je zaměřena na kontrolu kvality laboratoře IV. interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Systém kontroly kvality je rozdělen podle jednotlivých úseků, a to na úsek krevních obrazů (KO), úsek koagulace a úsek morfologie.

6.1 Úsek krevních obrazů

Na tomto úseku se v rámci VKK sledují jak přímo měřené parametry krevního obrazu: WBC (leukocyty), RBC (erytrocyty), HGB (hemoglobin), HTC (hematokrit), MCV (střední objem erytrocytů), PLT (trombocyty) a MPV (střední objem trombocytů), tak parametry výpočtové jako je MCH (střední obsah hemoglobinu v erytrocytu) a MCHC (koncentrace hemoglobinu v erytrocytární mase). Dále zde probíhá kontrola analýzy diferenciálního počtu leukocytů a počtu retikulocytů. Měření se provádí na analyzátorech Sysmex XE-5000 a Sysmex XN-10. (Pešková, 2015)

6.1.1 Kontrolní materiál

Materiálem pro kontrolu může být krev firemní, ale také krev čerstvá, stabilizovaná či nativní.

Jako firemní krev se používá XN-Check pro analyzátor Sysmex XN-10 a e-Check (XE) pro analyzátor Sysmex XE-5000. Obě tyto krve jsou stabilizované a jsou trojího typu – krev s nízkými, normálními a vysokými hodnotami parametrů krevního obrazu. Kontrolní krve se uchovávají v lednici. Po otevření je krev stabilní minimálně 7 dní. Hodnoty získané měřením se porovnávají s deklarovaným rozmezím hodnot.

Vzorek čerstvé krve se volí s normálními hodnotami KO, ale může se použít i krev s patologickými hodnotami. Jedná se o vzorky periferní krve odebrané do zkumavky s K₃EDTA (sůl kyseliny etylendiamintetraoctové). Stabilita takto odebraného materiálu je 5 hodin při laboratorní teplotě. Vzorky čerstvé krve se používají pro mezipřístrojovou kontrolu, reprodukovatelnost, opakovatelnost a kontrolu uzavřeného a otevřeného aspiračního systému.

V rámci EHK se používá neznámý vzorek stabilizované krve dodávané firmou SEKK. Může se jednat o krev s normálními hodnotami KO, ale i s hodnotami

patologickými. Materiál se uchovává v lednici a zachází se s ním dle pokynů zaslaných firmou SEKK.

Firmou SEKK je zasílán také neznámý vzorek nativní krve pro kontrolu diferenciálního počtu leukocytů. Po jeho obdržení je nutné jej ihned zpracovat. Do té doby se uchovává při laboratorní teplotě. (Pešková, 2015)

6.1.2 Kontrolní postupy

6.1.2.1 Shutdown

Jedná se o čisticí proces, který se provádí v pravidelných intervalech na všech analyzátorech, jež jsou v provozu. Promytí se provádí čisticím prostředkem jakým je savo či Cellclean. (Pešková, 2015)

6.1.2.2 Background (pozadí)

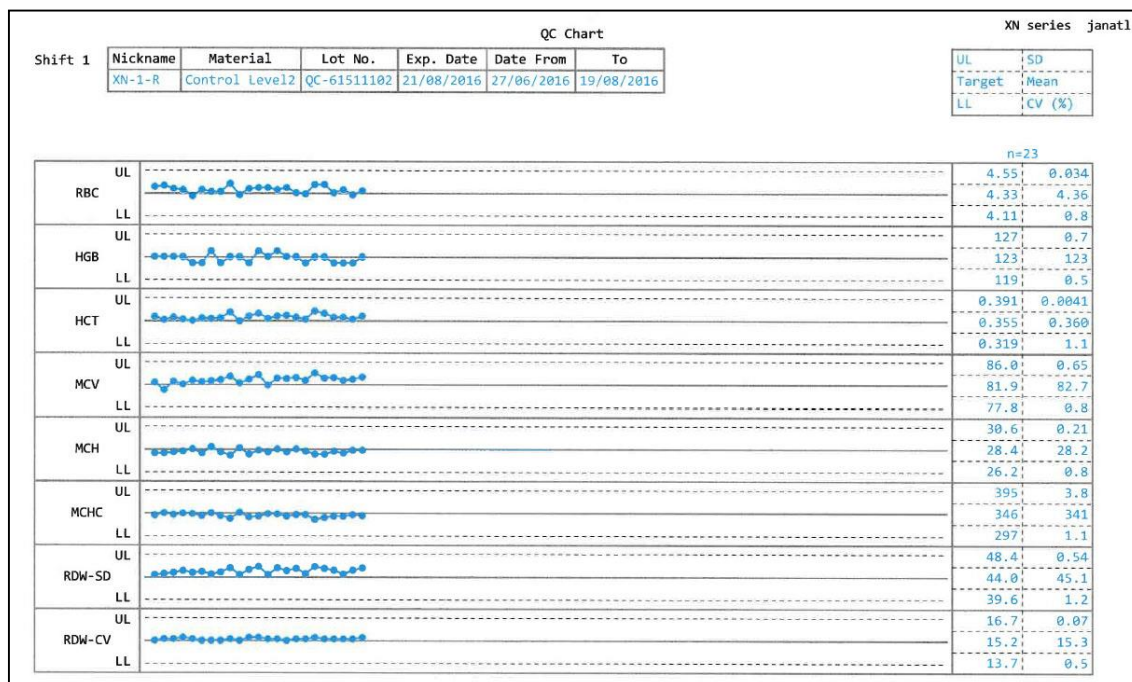
Je to kontrola pozadí přístroje, která se provádí automaticky každý den. Tato kontrola se provádí při spuštění daného analyzátoru nebo po jeho promytí. Hodnoty sledovaných měřených parametrů musí vyhovět limitům výrobce a měly by se blížit nule. Tuto činnost vykonává pověřený laborant, který výsledné hodnoty denně tiskne. Vytisknuté protokoly jsou pak vysokoškolským (VŠ) pracovníkem kontrolovány a archivovány po dobu 5 let. (Pešková, 2015)

6.1.2.3 Správnost

K této kontrole se používá stabilizovaná krev (dodávaná výrobcem analyzátorů) s deklarovaným rozmezím hodnot. Kontrola se provádí podle rozpisu, který vyhotoví odpovědný VŠ pracovník na dané období. Úsekový laborant provede analýzu kontrolní krve a další činnosti s tím spojené (např. tisk a založení Levey-Jenningsových grafů). Vše pak kontroluje odpovědný VŠ pracovník, který v případě problému provede nápravu. Vše je nutné zaznamenat do provozního deníku u každého analyzátoru (hematologické linky).

Výsledné hodnoty měření jsou tištěny ve formě Levey-Jenningsových grafů v den, kdy končí expirace dané šarže kontrolní krve. Archivují se po dobu 5 let. Zároveň jsou

využívány pro mezipřístrojové srovnání. Pro dlouhodobé sledování mezilehlé přesnosti se využívají vypočítané hodnoty CV. (Pešková, 2015)



Graf č. 1: Příklad záznamu kontroly správnosti – úsek KO (zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK)

6.1.2.4 Mezipřístrojová kontrola

Jak je již z názvu patrné, tato kontrola slouží k porovnávání a sledování reprodukovatelnosti mezi jednotlivými analyzátoři v laboratoři. Provádí se každý den s použitím čerstvého vzorku periferní krve. V pondělí, ve středu a v pátek se používá krev s normálními hodnotami KO. V úterý a ve čtvrtek se měří vzorky s patologickými hodnotami. Jednou týdně se provádí kontrola diferenciálního počtu leukocytů. V tomto případě se používá pouze krev s normálními hodnotami KO.

Z naměřených hodnot na analyzátoru Sysmex XE-5000 se vypočítává procentuální odchylka vůči zvolenému analyzátoru Sysmex XN-10 (XN-1-R) a hodnoty SD a CV. Pro jednodušší a rychlejší postup se hodnoty vkládají do tabulky v Excelu, který spočítá procentuální odchylky, SD a CV automaticky a zároveň zvýrazní hodnoty, jež jsou mimo limit. Tuto činnost má na starost úsekový laborant. VŠ pracovník zpracovává data z diferenciálního počtu leukocytů, dále pak všechna data každý měsíc kontroluje a vyhodnocuje. Dokumenty jsou archivovány po dobu 5 let. (Pešková, 2015)

Tabulka č. 2: Příklad záznamu mezipřístrojové kontroly – úsek KO

Parametry KO	XN-1 R	XN-1 L	XN-2 R	XN-2 L	XE 5000	SD	CV	Průměr
Leukocyty	5,09	5,18	4,96	5,10	5,08	0,08	1,55	5,08
Erytrocyty	4,66	4,74	4,71	4,69	4,68	0,03	0,65	4,70
Hemoglobin	133	133	132	133	134	0,71	0,53	133
Hematokrit	0,411	0,412	0,413	0,408	0,404	0,00	0,89	0,410
MCV	88,2	86,9	87,7	87,0	86,3	0,74	0,85	87,2
MCHC	0,324	0,323	0,320	0,326	0,332	0,00	1,38	0,325
Trombocyty	234	237	247	244	239	5,26	2,19	240
MPV	12,2	11,9	12,4	12,1	11,7	0,27	2,24	12

Identifikační č.: 77

Datum: 1.8.2016

Provedl:

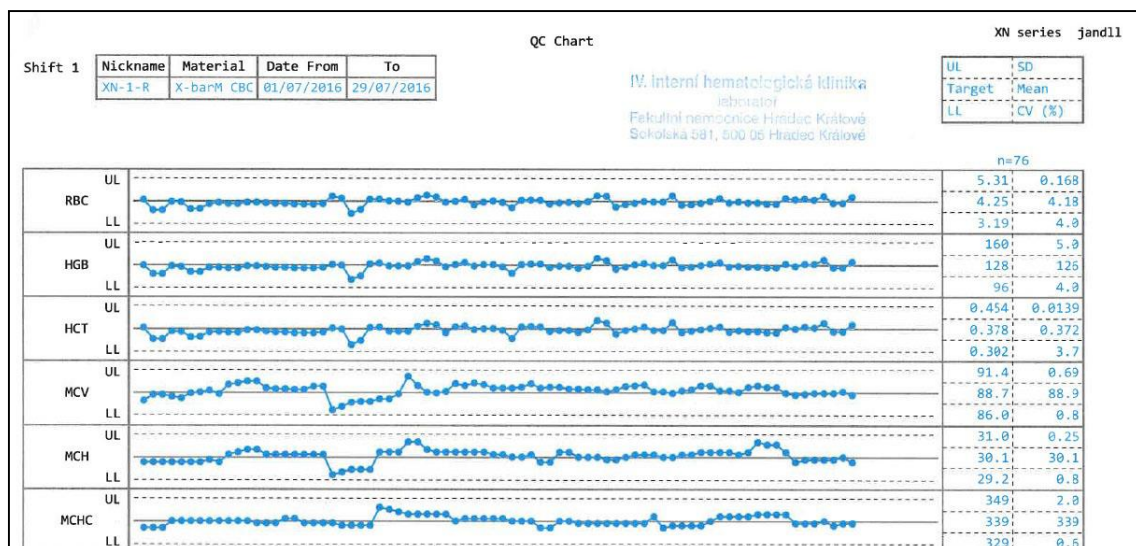
Limity - HGB, MCV: CV ≤ 2 %, RBC, HCT, MCHC: CV ≤ 3 %, WBC, MPV: CV ≤ 4 %, PLT: CV ≤ 5 %

Zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK

6.1.2.5 X-B analýza

Jedná se o kontrolu analyzátoru, která se provádí průběžně. Slouží k tomu stabilní parametry KO, jakými jsou MCV (střední objem erytrocytu), MCH (střední obsah HGB v erytrocytu) a MCHC (střední obsah HGB v erytrocytární mase). Hodnoty těchto parametrů se musí nacházet v rozmezí $\pm 2SD$ od průměrných hodnot, jež jsou získány dlouhodobým měřením. K výpočtu průměrů se používají pouze hodnoty ve fyziologických mezích. Software v IPU jednotce analyzátoru spočítá z každých dvaceti po sobě jdoucích vzorků průměrné hodnoty a zanesou je do grafu.

Kontrola grafických výstupů X-B analýzy probíhá každý den. Na starost ji má VŠ pracovník. Ten také data zpracovává a vyhodnocuje. Úsekový laborant grafy každý měsíc tiskne a po kontrole archivuje po dobu 5 let. Sledování průměrných hodnot je součástí VKK. (Pešková, 2015)



Graf č. 2: Příklad záznamu X-B analýzy – úsek KO (zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK)

6.1.2.6 Reprodukovatelnost v čase

Tento proces slouží ke kontrole přesnosti měření. Aplikuje se pro každý analyzátor zvlášť a každý den. Sledují se při něm parametry KO jednoho vzorku, který se měří celkem 3x (v 7 hodin ráno a pak po každých 2 hodinách). Materiálem je čerstvě odebraný vzorek periferní krve (stabilita krve v K₃EDTA je 5 hodin při laboratorní teplotě). Krev může být normální i patologická.

Hodnoty zapisuje úsekový laborant do tabulky v Excelu, který umožňuje automaticky spočítat procentuální odchylky, SD a CV a upozorní na hodnoty, jež jsou mimo limit. V případě neúspěchu se postup opakuje s použitím jiného vzorku. Vlastní analýzu vykonává pověřený laborant. VŠ laborant pak údaje pravidelně kontroluje a zpracovává. Dokumentace se archivuje 5 let. (Pešková, 2015)

Tabulka č. 3: Příklad záznamu kontroly reprodukovatelnosti v čase – úsek KO

Parametry KO	1. měření	2. měření	3. měření	SD	CV	Průměr
Leukocyty	8,48	8,2	8,18	0,17	2,02	8,29
Erytrocyty	4,52	4,55	4,55	0,02	0,38	4,54
Hemoglobin	139	138	137	1,00	0,72	138
Hematokrit	0,393	0,397	0,4	0,00	0,89	0,397
MCV	86,9	87,3	87,9	0,50	0,58	87,4
Trombocyty	185	177	171	7,02	3,95	178
MPV	9,3	9,3	9,3	0,00	0,00	9

Analýzátor: XN-1 R Identifikační č.: 597 Datum: 24.8.2016 Provedl:

Limity - HGB, MCV, MCHC, RBC, HCT: CV ≤ 2 %, WBC: CV ≤ 5 %, PLT: CV ≤ 8 %

Zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK

6.1.2.7 Opakovatelnost

Opakovatelnost spočívá v měření 11 po sobě jdoucích vzorků u analyzátoru Sysmex XN-10 (první výsledek se pro výpočet nepoužívá) a 5 po sobě jdoucích vzorků u analyzátoru Sysmex XE-5000. Tento postup umožňuje sledovat pouze přímo měřené parametry KO.

Kontrola se provádí na obou analyzátorech každý týden. Používá se přitom čerstvý vzorek krve náhodně vybraného pacienta s hodnotami KO ve fyziologických mezích. U analyzátoru XE-5000 se uskutečňuje analýza pouze v otevřeném aspiračním systému.

Naměřené hodnoty jsou automaticky zpracovány softwarem IPU. Limity CV pro opakovatelnost jsou dány výrobcem přístroje. VŠ pracovník výsledky pravidelně kontroluje a 1x měsíčně zpracovává. Všechny výstupy se archivují po dobu 5 let. (Pešková, 2015)

Tabulka č. 4: Příklad záznamu kontroly opakovatelnosti – úsek KO

Precision Check Log						
Nickname:	XN-1-R		Execution Date: 08/07/2016 10:34:16			
	WBC-N	WBC-D	RBC	HGB	HCT	PLT
No. 2	4.15	4.28	2.96	94	0.282	116
No. 3	4.30	4.13	2.99	95	0.284	122
No. 4	4.21	4.20	2.98	94	0.283	117
No. 5	4.23	4.12	2.99	94	0.284	118
No. 6	4.23	4.26	2.96	93	0.281	121
No. 7	4.33	4.28	2.96	94	0.281	118
No. 8	4.25	4.08	2.96	94	0.281	114
No. 9	4.22	4.18	2.96	94	0.280	120
No. 10	4.26	4.28	2.98	94	0.282	114
No. 11	4.29	4.28	2.95	94	0.280	115
Mean Value	4.25	4.21	2.97	94	0.282	118
SD	0.051	0.078	0.014	0.5	0.0015	2.8
CV (%)	1.2	1.9	0.5	0.5	0.5	2.4
Limit (%)	3.0	3.0	1.5	1.0	1.5	4.0

Zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK

6.1.2.8 Otevřený a uzavřený aspirační systém analyzátoru XE-5000

Tento proces slouží k ověření preciznosti měření stejného vzorku aspirovaného v uzavřeném a otevřeném systému. Preciznost se ověřuje každý měsíc pomocí vzorku čerstvé krve s normálními hodnotami. Výběr a analýzu krve má na starost úsekový laborant. VŠ pracovník výsledky kontroluje. Archivace dokumentů je 5 let. (Pešková, 2015)

6.1.3 Opatření v případě neshod ve VKK

Chyb, které mohou nastat, je velké množství. Nejčastěji se jedná o technickou závadu přístroje. Méně často jsou chyby v analýze vzorků způsobeny prošlou či kontaminovanou reagentii nebo jejím nedostatkem. To může mít za následek překročené limity pozadí na analyzátoru. Dále mohou být překročeny limity u kontroly správnosti, limity u X-B analýzy, limity SD nebo CV u mezipřístrojové kontroly a u reprodukovatelnosti. Laborant musí vždy upozornit VŠ pracovníka, který tyto neshody řeší a rozhoduje o dalších postupech. Do provozního deníku provede odpovědná osoba záznam o řešení a potvrdí jej svým podpisem. Pokud by zjištěná neshoda klinicky významně ovlivnila výsledky vyšetření, vzorky musí být znovu vyšetřeny na jiném analyzátoru, výsledky opraveny a žádající pracoviště informováno. (Pešková, 2015)

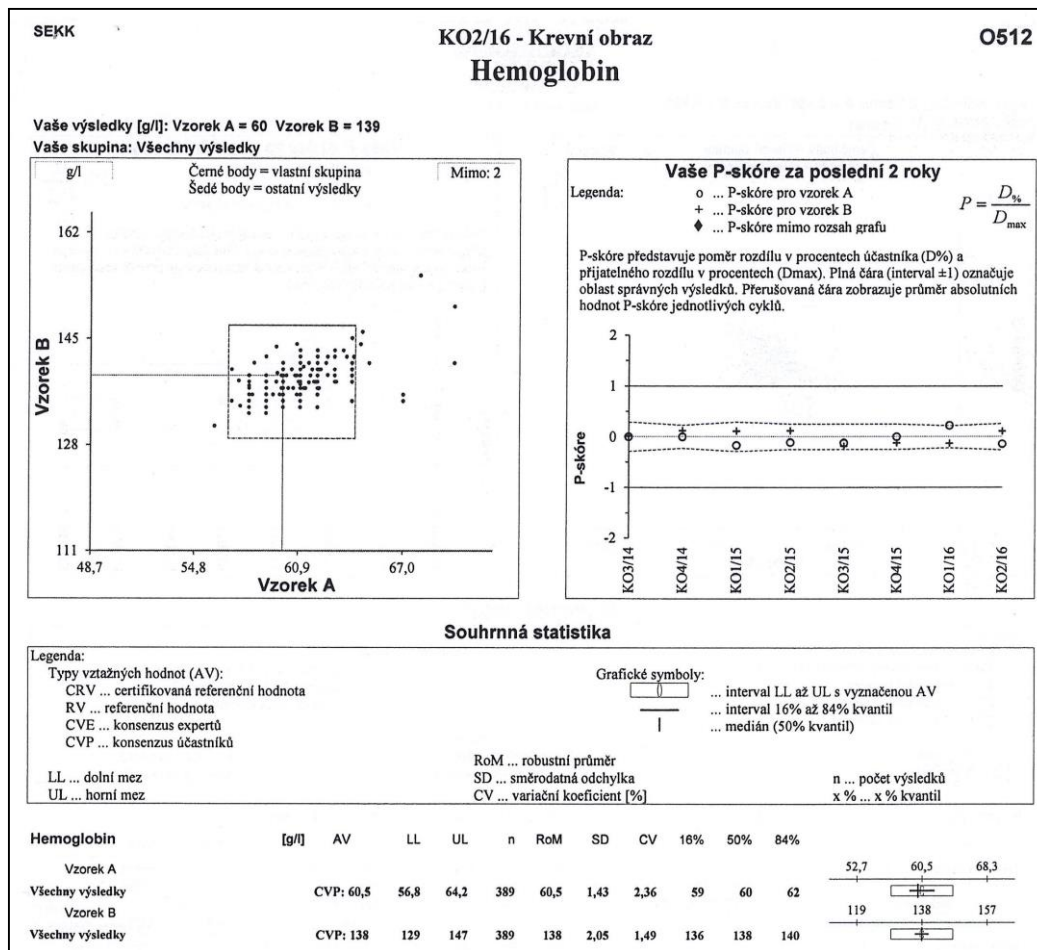
6.1.4 EHK

EHK se na tomto úseku provádí u krevního obrazu, diferenciálního počtu leukocytů a počtu retikulocytů. Slouží k vzájemnému porovnávání měření mezi laboratořemi. Materiál pro tyto kontroly zasílá firma SEKK s.r.o., která v České republice poskytuje komplexní služby v oblasti systému EHK.

Kontrolní vzorky jsou posílány čtvrtletně, vyjma retikulocytů, tato kontrola probíhá každý půlrok. Úsekový laborant provádí analýzu vzorku na analyzátoru XN-10, a to podle pokynů zaslaných s kontrolním materiálem. Odpovědný VŠ pracovník potom naměřené hodnoty zapíše do protokolu, který elektronicky odešle zpět poskytovateli EHK. Ten obdržené výsledky vyhodnotí. Pokud laboratoř splní stanovená kritéria, obdrží od firmy SEKK certifikát s platností 1 rok. Nevyhoví-li kritériím, je možné v dalším cyklu kontrolu zopakovat. Tzn., že krevní obraz a diferenciál leukocytů je možné zopakovat za 3 měsíce,

retikulyocyty za 6 měsíců. Stejně jako veškerá dokumentace VKK, tak i záznamy o EHK jsou archivovány 5 let.

K mezilaboratornímu porovnání analyzátorů Sysmex také slouží Sysmex SNCS-IQAS ONLINE. Jedná se o webový server, na který jsou napojeny analyzátoři XE-5000 a XN-10, jejichž hodnoty naměřené v rámci kontroly správnosti jsou porovnávány s ostatními analyzátoři stejného typu po celé Evropě. (Pešková, 2015)



Graf č. 3: Příklad záznamu EHK, vyhodnocení parametru HGB: Youdenův graf a P-skóre – úsek KO (zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK)

6.2 Úsek koagulace

Na tomto úseku se kontrola kvality provádí u všech rutinních koagulačních vyšetření jako je protrombinový test (PT), aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT), fibrinogen (FBG), antitrombin (AT), D-dimery (D-DI), trombinový test (TT), APTT citlivý na LA (lupus antikoagulans), reptilázový test (RT), anti-Xa aktivita (LMWH - nízkomolekulární heparin). Stejně tak se kontrola kvality provádí také u speciálních

vyšetření. Na úseku koagulace probíhá analýza vzorků na třech koagulometrech: STA COMPACT a dva analyzátoři STA-R I a STA-R II. (Sadílek, 2015)

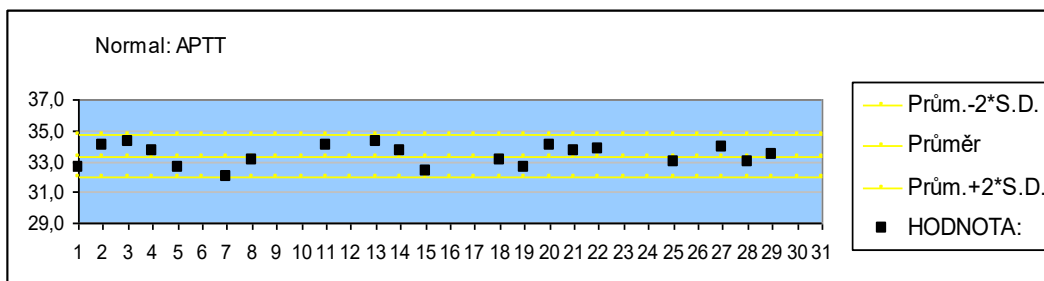
6.2.1 Kontrolní materiál

Materiál pro kontrolu kvality na úseku koagulace dodávají dvě firmy. Jsou jimi firma Diagnostica, a.s. a firma Biomedica ČS, s.r.o. Firma Diagnostica, a.s. dodává plazmu pro kontrolu přesnosti u rutinních vyšetření. Jedná se o kontrolní neatestovanou plazmu normální i abnormální (bez deklarovaných mezí). Firma Biomedica ČS, s.r.o. dodává kontrolní vzorky pro kontrolu správnosti u PT, APTT, TT, APTT-LA, FBG, AT a D-dimerů, dále pak pro speciální vyšetření prováděná v sériích. Konkrétní informace jsou vždy uvedeny v SOPV jednotlivých koagulačních vyšetření prováděných v laboratoři IV. interní hematologické kliniky FN HK. (Sadílek, 2015)

6.2.2 Kontrolní postupy

6.2.2.1 Přesnost

Kontrolu přesnosti provádí každý den úsekový laborant. Používá k tomu normální a patologický vzorek neatestované kontrolní plazmy. Kromě této činnosti má úsekový laborant na starost naměřená data zaznamenat do příslušné tabulky. Vedoucí úseku získané hodnoty zaznamenává do tabulky v Excelu, kde jsou automaticky spočítány průměry, SD a CV. Vedoucí úseku dále pravidelně upravuje rozmezí hodnot ($\pm 2SD$ od průměru). Zároveň denně kontroluje hodnoty získané v rámci kontroly kvality a veškerou dokumentaci. Vše se archivuje po dobu 5 let. (Sadílek, 2015)



Graf č. 4: Příklad záznamu kontroly přesnosti – úsek koagulace (zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK)

6.2.2.2 Správnost

Kontrola správnosti se provádí spolu s mezipřístrojovou kontrolou každý měsíc. Na starost ji má úsekový laborant. Používá k ní atestované kontroly, které mají přesně stanovené limity. 3x se změří kontrolní plazma normální, totéž platí pro plazmu patologickou. Měří se protrombinový test, APTT, fibrinogen a antitrombin. Koncentrace D-dimerů se měří taktéž 3x, ale s použitím jiné kontrolní plazmy než je tomu u předchozích měření. Naměřené hodnoty se musí pohybovat v deklarovaném rozmezí stanoveném výrobcem. Vedoucí úseku poté naměřená data vynáší do tabulky a dále zpracovává. Vše archivujeme po dobu 5 let. (Sadílek, 2015)

Tabulka č. 5: Příklad záznamu kontroly správnosti – úsek koagulace

IKK - Kontrola správnosti			
Přístroj: automatický koagulometr		Kontrolní plazma: Coag c.- N	Kontrolní plazma: Coag c.- P
Typ: STA-R I		Šarže: 114412	Šarže: 114412
Firma: Diagnostica Stago		Expirace: 07-2017	Expirace: 07-2017
Protrombinový test			
Reagencie: STA Neoplastine CI Plus 10		Firma: Stago	Šarže: 114519
			Expirace: 09 – 2017
Počet měření	Normál plazma	Abnormal plazma	
1.	13,8	24,4	
2.	13,7	24,6	
3.	13,8	24,3	
X ± S	13,8	24,4	
Deklarované hodnoty / sec.	11,5 – 15,5	19,5 – 27,5	
APTT			
Reagencie: STA PTT A 5		Firma: Stago	Šarže: 114630
			Expirace: 10 - 2017
Počet měření	Normál plazma	Abnormal plazma	
1.	33,0	63,4	
2.	32,8	62,0	
3.	32,8	61,3	
X ± S	32,9	62,2	
Deklarované hodnoty / sec.	28 – 38	49 – 65	

Zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK

6.2.2.3 Mezipřístrojová kontrola

Mezipřístrojová kontrola se provádí 1x měsíčně spolu s kontrolou správnosti. Kontrola probíhá opět na všech třech koagulometrech. Materiálem je atestovaná kontrolní plazma normální a patologická. U každé plazmy se měří 3x PT, APTT, FBG a AT. Stejná pravidla platí pro měření D-DI jen s použitím jiných speciálních kontrolních plazem. Vedoucí úseku opět zpracovává data obdržaná od úsekového laboranta a počítá průměrné hodnoty a procentuální odchylku pro dva zbývající koagulometry vůči řídicímu koagulometru STA-R II. Archivace dokumentů je 5 let. (Sadílek, 2015)

6.2.2.4 Opakovatelnost

Postup pro stanovení opakovatelnosti je takový, že se vybere jeden vzorek plazmy pacienta a s ním se provede kontrolní měření na všech třech koagulometrech. Jeden měsíc se používá plazma normální, další měsíc plazma patologická. Měří se 7x APTT a 7x AT. Opakovatelnost je prováděna každý měsíc úsekovým laborantem, který naměřená data předá vedoucímu úseku. Ten je dále zpracovává, počítá CV a kontroluje. Archivace dokumentů je 5 let. (Sadílek, 2015)

Tabulka č. 6: Příklad záznamu kontroly správnosti – úsek koagulace

INTERNÍ KONTROLA KVALITY - opakovatelnost					
Přístroj: autom.koagulometr		Reagencie: STA PTT A 5	Reagencie: Biophen AT		
Typ: STA-R I		Firma: Stago	Firma: Hyphen BioMed		
Firma: Diagnostika Stago		Šarže: 114630	Šarže: 43706 - PK:1		
Rok výroby: 2007		Exspirace: 10/2017	Exspirace: 09/2016		
Kontrolní plazma: citr. plazma					
APTT		AT			
	DATUM:	HODNOTA:			
1.	21.7.2016	60,2	1.	21.7.2016	36,0
2.	21.7.2016	60,6	2.	21.7.2016	36,0
3.	21.7.2016	61,4	3.	21.7.2016	36,0
4.	21.7.2016	60,6	4.	21.7.2016	33,0
5.	21.7.2016	60,7	5.	21.7.2016	34,0
6.	21.7.2016	60,7	6.	21.7.2016	36,0
7.	21.7.2016	59,9	7.	21.7.2016	36,0
Průměr	60,59		Průměr	35,29	
Sm.odch.	0,47		Sm.odch.	1,25	
Var.koef.	0,77%		Var.koef.	3,55%	

Zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK

6.2.3 Opatření v případě neshod ve VKK

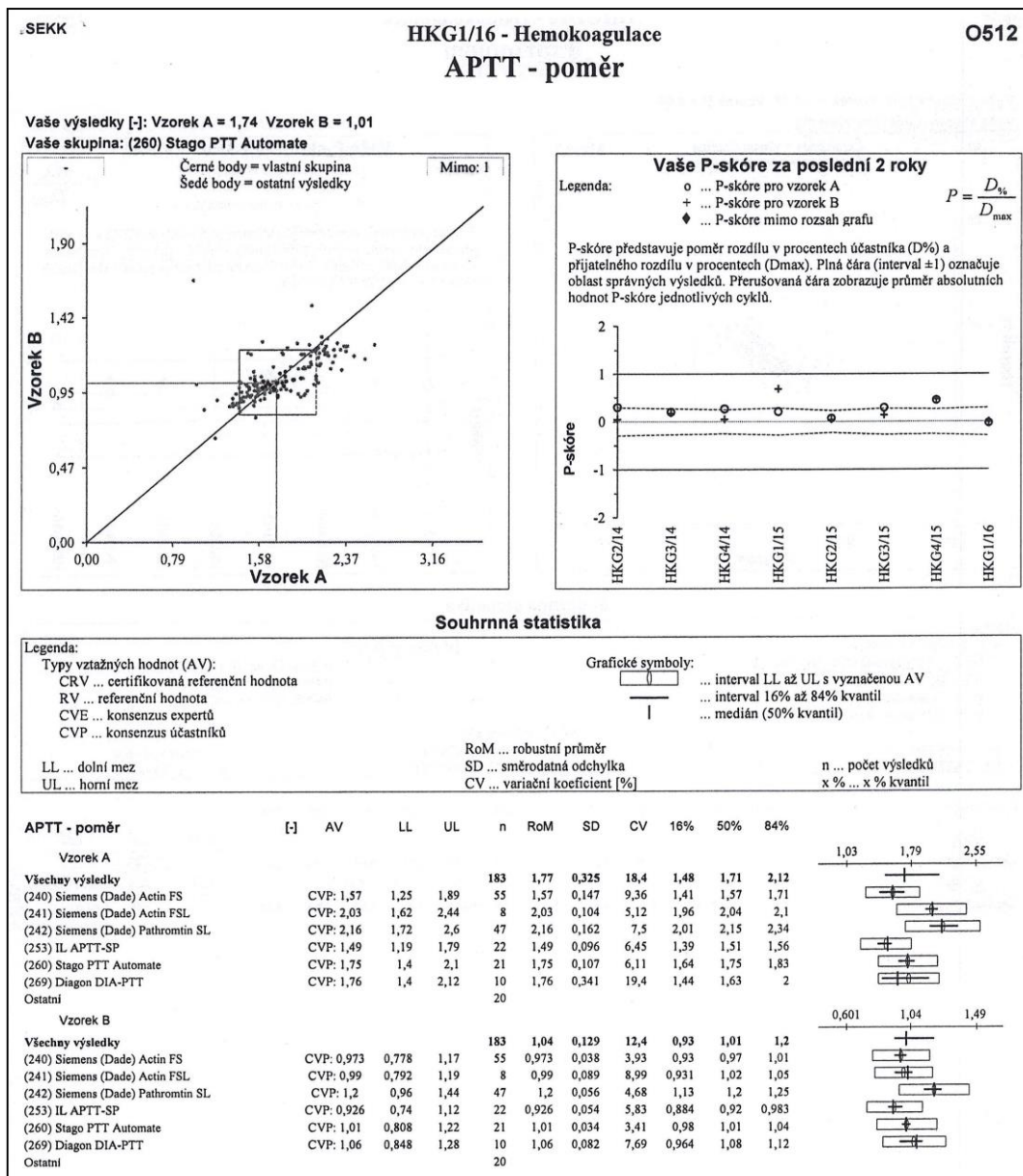
Pokud se některá z hodnot kontrolních postupů dostane mimo limit, je nutné provést nápravná opatření. Nejprve se měření zopakuje, dále je třeba zkontrolovat reagencie a kontrolní plazmu. Pokud ani poté nedojde k nápravě, určí vedoucí úseku další postup. Vše se zaznamená do příslušného formuláře dané kontroly. (Sadílek, 2015)

6.2.4 EHK

EHK v rámci úseku koagulace probíhá pro běžně vyšetřované parametry 4x za rok. V případě speciálních vyšetření, jako jsou koagulační faktory, rezistence na aktivovaný protein C, atd., probíhá kontrola 2x za rok. Laboratoř vždy obdrží dva neznámé vzorky

kontrolní plazmy (zaslané firmou SEKK s.r.o.). Pro kontrolu inhibitorů koagulačních faktorů VIII a IX posílá 2x ročně kontrolní materiál firma ECAT.

Kontrolní vzorky jsou zpracovány na řídicím koagulometru STA-R II. Vedoucí úseku zašle výsledné naměřené hodnoty příslušným firmám, které EHK zajišťují. Pokud laboratoř vyhoví kritériím, obdrží certifikát s platností 1 rok. Nevyhoví-li kritériím, je možné v dalším kontrolním cyklu kontrolu zopakovat. Tzn., že rutinní vyšetření je možné zopakovat za 3 měsíce, speciální vyšetření za 6 měsíců. Všechny záznamy o účasti EHK se archivují po dobu 5 let. (Sadílek, 2015)



Graf č. 5: Příklad záznamu EHK, vyhodnocení testu APTT: Youdenův graf a P-skóre – úsek koagulace (zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK)

6.3 Úsek morfologie

Na tomto úseku se provádí kontrola nátěrů, které jsou obarveny panoptickým barvením (May-Grünwald a Giemsa-Romanowsky) nebo cytochemickým barvením. Jedná se o nátěry periferní krve a kostní dřeně. Je povinností zaznamenat veškeré proběhlé kontroly kvality barvení, šarže barvicích roztoků, evidenci provozu mikroskopů a nátěrových automatů do záznamových sešitů, deníků nebo formulářů, které se archivují po dobu 5 let. (Fátorová, 2015)

6.3.1 Kontrola panopticky obarveného nátěru

Kontrola se provádí při použití nových sérií fixačních (May-Grünwald) a barvicích (Giemsa-Romanowsky) roztoků, a to hned v první barvené sadě nátěrů. Ty jsou hodnoceny makroskopicky a mikroskopicky úsekovým laborantem. Hodnotí se vzhled nátěru a výtěžnost barviv.

V případě hodnocení makroskopického vzhledu by měl být daný krevní nátěr zbarven purpurově. Barva nátěru může být ovlivněna pH pufru nebo přebarvením či nedobarvením nátěru. Je-li nátěr modrý, pH pufru je zásadité nebo je nátěr přebarvený. V opačném případě, je-li pH pufru kyselé nebo je nátěr nedobarvený, je jeho barva růžová. Co se týče hodnocení mikroskopického vzhledu buněk, erytrocyty by měly být růžovošedé, trombocyty tmavě růžové, leukocyty by měly mít zbarvená jádra tmavě fialově, sekundární granule by měla být dobře rozlišitelná. Kromě pH pufru mohou kvalitu obarvení nátěru ovlivnit samotné barvicí roztoky, u kterých může být rozdílná výtěžnost jednotlivých barvicích složek. To znamená, že roztoky od různých výrobců mohou obarvit různé počty nátěrů. Dále mohou mít na obarvení nátěru vliv i biologické vlastnosti materiálu. Je rozdíl mezi obarvením běžného nátěru periferní krve oproti barvení nátěru kostní dřeně či vysoce buněčného nátěru periferní krve.

Na kvalitu obarvení má vliv i stabilita biologického materiálu. Pokud jsou nátěry fixované a obarvené anebo pouze fixované, je jejich stabilita neomezena. Tzn., že takto

zhotovené nátěry se mohou uchovávat neomezeně dlouho. Pokud však nátěr není fixován ani obarven, je stabilní pouze několik dní. (Fátorová, 2015)

6.3.2 Kontrola nátěru obarveného cytochemicky

Spolu s nátěrem pacienta se barví i kontrolní nátěr periferní krve či kostní dřeně. Dle použité cytochemické metody se kontroluje přítomnost enzymů (např. myeloperoxidázy, alkalické nebo kyselé fosfatázy, butyrátesterázy), železa atd. Pro účely kontroly barvení se připravují z periferní krve čerstvé nátěry, nátěry kostní dřeně se připravují dopředu a do doby spotřeby se uchovávají v lednici.

Stabilita nátěrů opět závisí na jejich fixaci a obarvení. Fixovaný a obarvený nátěr je stabilní po delší dobu. U nefixovaných a neobarvených nátěrů se udává stabilita 24 hodin. S odstupem času totiž může enzymatická aktivita v buňkách klesat nebo úplně vymizet. (Fátorová, 2015)

6.3.3 Kontrola hodnocení nátěrů

6.3.3.1 VKK

Vedoucí úseku vybere jeden ze dvou neznámých krevních nátěrů zaslaných firmou SEKK s.r.o. pro kontrolu v rámci EHK. Tato kontrola probíhá každé 3 měsíce. Hodnocení provádí všichni laboratorní pracovníci účastníci se morfologického hodnocení, a to podle pokynů, které zaslala firma SEKK s.r.o. spolu s nátěrem. Výsledky se zapisují do formuláře. Hodnocení provádí vedoucí úseku. Záznamy z VKK se archivují po dobu 5 let. (Fátorová, 2015)

Tabulka č. 7: Příklad záznamů o kontrole hodnocení nátěrů – úsek morfologie

Protokol interní kontroly kvality - "Úsek morfologie"

Jméno pracovníka:

Rok: 2016

Diferenciální počet WBC	Cyklus 1/	Cyklus 2/	Cyklus 3/	Cyklus 4/
Blasty				
Promyelocyty				
Neutrofilní myelocyty				
Neutrofilní metamyelocyty				
Neutrofilní tyče				
Neutrofilní segmenty				
Eozinofily - mladší formy				
Eozinofilní segmenty				

Bazofilní segmenty				
Monocyty				
Lymfocyty				
Plazmatické buňky				
Erytroblasty/100 WBC				
*Bílá krevní řada - morfologické a početní odchylky				
*Červená krevní řada - morfologické odchylky				
*Destičková krevní řada - morfologické odchylky				
Klinické doporučení				
Podpis:				
Datum:				

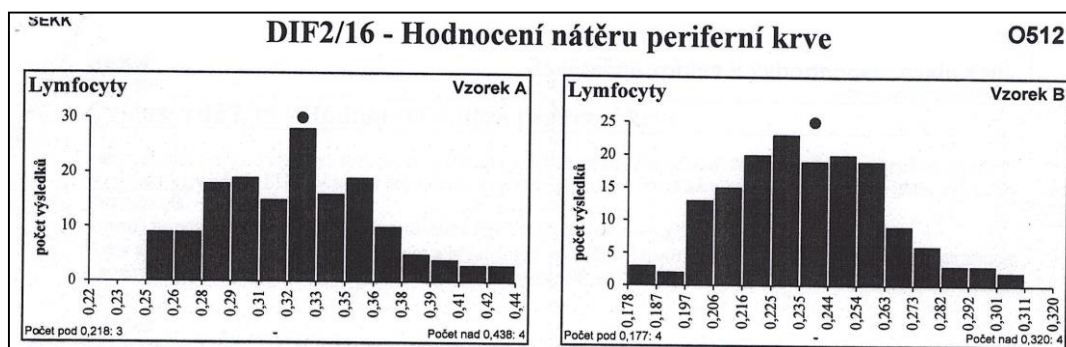
*Vybrat číslo z příslušné přiložené škály odchylek, při hodnocení se řídit doporučeními SEKK.

Zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK

6.3.3.2 EHK

6.3.3.2.1 Nátěry periferní krve

EHK probíhá každé 3 měsíce, laboratoř obdrží kontrolní materiál (2 neznámé nátěry) zaslaný českou firmou SEKK s.r.o. Každých 6 měsíců je zasílán materiál (opět 2 neznámé nátěry) německou firmou RfB. Hodnocení numerické i morfologické provádí vedoucí úseku, úsekový laborant a všichni laboranti pracující na úseku morfologie. Při hodnocení se laboratorní pracovníci řídí dle pokynů v návodu zaslaném spolu s kontrolním materiálem. Vedoucí laborant zprůměruje numerické hodnoty a spolu s nejvýraznějšími morfologickými abnormalitami pošle výsledky přes elektronickou aplikaci firmě SEKK s.r.o. nebo firmě RfB ke zhodnocení. Splní-li laboratoř kritéria, obdrží osvědčení o kontrole kvality. Platnost se u jednotlivých firem liší. U firmy SEKK s.r.o. je to 1 rok, u firmy RfB 6 měsíců. (Fátorová, 2015)



Graf č. 6: Příklad záznamu EHK, vyhodnocení lymfocytů (histogram) – úsek morfologie (zdroj: záznamy laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK)

6.3.3.2 Nátěry kostní dřeně

Porovnává se kvalita a správnost hodnocení mezi jednotlivými laboratořemi. Firma SEKK s.r.o. posílá 2x ročně fotografie nátěrů kostní dřeně, které laboratoř hodnotí. Na těchto fotografiích jsou označené buňky, které se hodnotí a popíší se jejich morfologické abnormality. Postupuje se přitom dle pokynů poslaných spolu s fotografiemi. Hodnocení se účastní všichni laboranti úseku speciální morfologie včetně vedoucího úseku a lékaře hematologa. Ten zároveň určí možnou diagnózu. Vedoucí úseku výsledky pošle zpět firmě ke zhodnocení. Pokud laboratoř splní kritéria, získá osvědčení o kontrole kvality s platností 1 roku. (Fátorová, 2015)

6.3.4 Opatření vedoucí k nápravě

Při panoptickém barvení mohou být nátěry nedobarvené. V takovém případě se musí nátěry dobarvit manuálním barvením nebo prodloužit dobu barvení na nátěrovém a barvicím automatu a proces barvení zkontrolovat. Pokud jsou nátěry přebarvené tak, že jsou nehodnotitelné, musí se zhotovit nátěry nové a znovu manuálně obarvit. Pokud jsou vyhotoveny na nátěrovém a barvicím automatu, je nutné zkrátit dobu barvení a celý proces zhotovení nátěru a barvení zopakovat. Pokud je barvení vadné, musí se připravit barvení nové.

Při cytochemickém barvení je nutné kontrolovat pozitivitu barvení v kontrolním nátěru. Pokud je kontrola negativní, je nutné připravit čerstvé barvicí roztoky a nové nátěry znovu obarvit.

Při hodnocení nátěrů v rámci systému EHK může dojít k nesplnění stanovených kritérií. Laboratoř tedy neobdrží osvědčení. To je ale možné získat v dalším cyklu EHK. U firmy SEKK s.r.o. je to za 3 měsíce, u firmy RfB je nutno v dalším cyklu zakoupit kontrolu navíc. U hodnocení fotografií kostní dřeně je možná náprava taktéž v dalším cyklu. Pokud v rámci kontroly hodnocení nátěrů (VKK) laboratorní pracovník chybuje a nesplní požadovaná kritéria, musí být proškolen vedoucím úseku anebo úsekovým laborantem. Kritéria jsou morfologická a numerická. V rámci VKK je to 85% shoda se SEKK pro numerickou část a pro morfologickou část je to 50% shoda se SEKK. (Fátorová, 2015)

7. DISKUSE A ZÁVĚR

Kontrola kvality je důležitou součástí každé laboratoře, pomáhá odhalit a eliminovat analytické i neanalytické chyby v procesu získávání správných laboratorních výsledků. Každá laboratoř musí mít vhodně nastavený systém kontroly kvality, který dané laboratoři vyhovuje. Při nastavení systému kontroly kvality je potřeba brát v potaz především jednoduchost, přehlednost, účinnost a ekonomicky co nejmenší náročnost. Systém kontroly kvality a s ním související preventivní a kontrolní činnosti musí být v souladu s normami a doporučeními ČHS (Česká hematologická společnost).

Ne vždy probíhá hodnocení kontroly kvality bez problémů a ne vždy dochází pouze k odhalení a následné eliminaci chyb. Potíže mohou nastat např. tehdy, pokud jsou v laboratoři přístroje od různých výrobců, může pak dojít k neshodě – především v mezipřístrojové kontrole. Každý výrobce používá jiné kalibrační a kontrolní materiály, a tak se naměřené hodnoty mohou více či méně lišit. Dále může nastat problém v případě, že je pro daný typ kontroly kvality vybrán nevhodný kontrolní materiál (vzorek pacienta). Může se totiž jednat o vzorek s omezenou stabilitou či o extrémně patologický vzorek. Stává se pak, že je výsledný variační koeficient mimo nastavený limit. I v systému externí kontroly kvality se můžeme setkat s problémy, které se týkají vhodnosti používaných kontrolních materiálů, protože některé analytické systémy nedokážou spolehlivě změřit příslušný kontrolní materiál. Je to především proto, že vlastnosti použitého kontrolního vzorku jsou odlišné od vlastností biologického materiálu.

I z těchto důvodů musí mít každá laboratoř vypracovaný nápravný systém opatření. To znamená, jak postupovat v případě, kdy je výsledek kontroly kvality mimo limit, kdy je náhodně odhalena chyba nebo kdy laboratoř nevyhoví kritériím externí kontroly kvality.

Systém kontroly kvality se vyvíjí a je potřeba neustále pracovat na jeho vylepšení, neboť zvyšuje důvěru pacientů, zdravotníků a také laboratorních pracovníků v to, že výsledky vydávané laboratoří jsou spolehlivé a správné.

8. POUŽITÉ ZKRATKY

zkratka	význam
APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový test
APTT-LA	aktivovaný parciální tromboplastinový test citlivý na lupus antikoagulans
AT	antitrombin
b	bias
b _r	relativní bias
CV	variační koeficient
CV _p	mezilehlá preciznost
ČHS	Česká hematologická společnost
D-DI	D-dimery
EHK	externí kontrola kvality
FBG	fibrinogen
FFP	Fitness for Purpose
FN HK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobin
ISO	Mezinárodní normalizační organizace
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IVD	in vitro diagnostika
K ₃ EDTA	draselná sůl kyseliny etylen-diamin-tetraoctové
KO	krvní obraz
LMWH	nízkomolekulární heparin
MCV	střední objem erytrocytů
MCH	střední obsah HGB v erytrocytu
MCHC	střední obsah HGB v erytrocytární mase
MPV	střední objem trombocytů
PLT	thrombocyty
P _p	průměrná hodnota absolutní hodnoty P-skóre
PT	protrombinový test
r	korelační koeficient
RBC	erytrocyty

RT	reptilázový test
SD	směrodatná odchylka
SOPV	standardní operační postup pro vyšetření
TC	technická komise
TT	trombinový test
VKK	vnitřní kontrola kvality
VŠ	vysokoškolský
WBC	leukocyty
\bar{x}	aritmetický průměr

9. SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Interpretace Z-skóre	21
Tabulka č. 2: Příklad záznamu mezipřístrojové kontroly – úsek KO.....	28
Tabulka č. 3: Příklad záznamu kontroly reprodukovatelnosti v čase – úsek KO	29
Tabulka č. 4: Příklad záznamu kontroly opakovatelnosti – úsek KO	30
Tabulka č. 5: Příklad záznamu kontroly správnosti – úsek koagulace.....	34
Tabulka č. 6: Příklad záznamu kontroly správnosti – úsek koagulace.....	35
Tabulka č. 7: Příklad záznamů o kontrole hodnocení nátěrů – úsek morfologie.....	38

10. SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1: Příklad záznamu kontroly správnosti – úsek KO.....	27
Graf č. 2: Příklad záznamu X-B analýzy – úsek KO.....	29
Graf č. 3: Příklad záznamu EHK, vyhodnocení parametru HGB: Youdenův graf a P-skóre – úsek KO.....	32
Graf č. 4: Příklad záznamu kontroly přesnosti – úsek koagulace.....	33
Graf č. 5: Příklad záznamu EHK, vyhodnocení testu APTT: Youdenův graf a P-skóre – úsek koagulace	37
Graf č. 6: Příklad záznamu EHK, vyhodnocení lymfocytů (histogram) – úsek morfologie	39

11. POUŽITÁ LITERATURA

1. Bartoš, V. @ kol. *Doporučení k výpočtu nejistot kvantitativních výsledků měření v klinických laboratořích* [online]. Publikováno 11.11.2014 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: http://www.sekk.cz/infoservis/2014_nejistoty_doporuceni.pdf
2. Bartoš, V. & kol. *Příručka k vnitřní kontrole kvality*. Vydala ČSKB 2008. 978-80-254-1130-8
3. Beránek, M. & kol. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie pro studijní program Zdravotnická bioanalytika*. Vydání 1. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2013. 197 str. 978-80-246-2186-9
4. Bourková, L. & kol. *Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech* [online]. Publikováno 2016 [cit. 2016-06-23]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/k_cinnostem/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-VKK_KO_v04.pdf
5. Budina, M. *Hodnocení výsledků účastníků v EHK* [online]. Publikováno 13.2.2016 [cit. 2016-06-05]. Dostupné z: <http://www.sekk.cz/>
6. Budina, M. *Nabídka programů a metodika provádění externího hodnocení kvality (EHK)* [online]. Publikováno 1.1.2016 [cit. 2016-06-28]. Dostupné z: http://www.sekk.cz/eqa/2016_plan_EHK_verze_2.pdf
7. EURACHEM/CITAT Guide. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*. Vydání 3. 2012. 133 str. 978-0-948926-30-3 Dostupné v anglickém jazyce z: <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/quam#translations>
8. Fabián, V. & Dobiáš, M. *Použití technických norem ve zdravotnictví – zkušenosti autorizovaného metrologického střediska, malovýrobce a dodavatele zdravotnické techniky* [online]. Publikováno 2007 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://www.fbmi.cvut.cz/e/pouziti-technicky-norem-ve-zdravotnictvi/1846.pdf>
9. Fátorová, I. *VOP – Kontrola kvality na úseku morfologie*. Hradec Králové. 2015
10. Friedecký, B. & kol. *Doporučení k provádění validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích* [online]. Publikováno 11.1.2011 [cit. 2016-06-23]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-1/dop-validace.pdf>
11. Friedecký, B. & kol. *Chyby neanalytických fází vyšetření ve zdravotnické laboratoři. Klinická biochemie a metabolismus* [online]. Publikováno 5.2.2007 [cit. 2016-05-24]. Dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2007/2-07/KBM0702_Friedecky_111.pdf
12. Friedecký, B. @ kol. *Metrologie chemických měření v laboratorní medicíně* [online]. Publikováno 2009 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://www.naskl.cz/>

13. Friedecký, B. @ kol. *Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích* [online]. Publikováno 16.11.2014 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--validace-a-verifikace-metod#02>
14. Huber, L. *Validation of Analytical Methods* [online]. Publikováno 2010 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/primers/Public/5990-5140EN.pdf>
15. ISO 3534-2:2006 *Vocabulary and symbols – Part 2: Applied statistics* [online]. Publikováno 15.9.2006 [cit. 2016-06-02]. Dostupné z: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3534:-2:ed-2:v1:en>
16. Madar, J. & kol. *Řízení kvality ve zdravotnickém zařízení*. Vydání 1. Praha: Grada Publishing, a.s., 2004. 248 str. 80-247-0585-0
17. Matýšková, M. & kol. *Systém managementu jakosti: Využití v laboratoři*. Vydání 1. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně, 2002. 87 str. 80-7013-367-8
18. Pecka, M. & Matýšková, M. *Doporučení ČHS ČSL JEP k externímu hodnocení kvality (EHK)* [online]. Publikováno 1.9.2012 [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/k_cinnostem/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-EHK_v02.pdf
19. Pecka M. a kol. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Vydání 1. Český Těšín: Infinity Art, 2010. 343 str. 978-80-903871-9-5.
20. Pešek, J. *Tvorba systému jakosti ve zdravotnictví a lékárenství s využitím norem ISO*. Vydání 1. Praha: Grada Publishing a.s., 2003. 110 str. 80-247-0551-6
21. Pešková, E. *VOP – Kontrola kvality na úseku krevní obrazy*. Hradec Králové. 2015
22. Plzák, Z. & kol. *Metrologická terminologie v klinické a analytické laboratoři* [online]. Publikováno 2009 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: www.sekk.cz
23. Sadílek, P. *VOP – Kontrola kvality na úseku koagulace*. Hradec Králové. 2015
24. SEKK. *Metodika výpočtu P-skóre výsledků EHK* [online]. Publikováno 1.9.2011 [cit. 2016-06-28]. Dostupné z: <http://www.sekk.cz/eqa/P-skore.pdf>
25. JCGM 200:2008. *International vocabulary of Metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM)* [online]. Publikováno 2008 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://www.bipm.org> (anglická a francouzská verze) a http://www.unmz.cz/files/Sborn%C3%ADky%20TH/Terminologie%20v%20oblasti%20metrologie_DEF.pdf (česká verze)
26. Westgard, J. O. & Westgard, S. A. *Introducing Westgard Sigma Rules* [online]. Publikováno Září 2014 [cit. 2016-06-07]. Dostupné z: <http://www.westgard.com/westgard-sigma-rules.htm>