ČASTO DISKUTOVANÁ TÉMATA V SOUVISLOSTI S AUDITEM NASKL V ODBORNOSTI 818

Marcela Mikešová
Hematologická laboratoř
Centrální laboratoře FNKV

PŘIHLÁŠKA K AUDITU NASKL

- Rok 2019 - celkem 200 požadavků na audit II
  cca 1/5 v odbornosti 818
  4 aktivní auditoři
- Doporučujeme podat žádost nejméně
  6 měsíců před koncem platnosti osvědčení
- Nyní frekvence auditů 1x za 2 roky,
  diskutuje se prodloužení frekvence

PŘEDMĚT AUDITŮ NASKL

Kontroluje se:

- shoda s normou ČSN EN ISO 15189:2013 (zejména kap. 4 – 5)
- plnění doporučení jednotlivých odborností, personální vyhláška MZ 99/2012Sb., zákon 268/2014 o zdravotnických prostředcích,…

Cíl:

- Systematické zvyšování kvality všech činností v laboratořích

NA CO SE VZTAHUJE AUDIT

- Osvědčení je vydáváno pouze na adresu laboratoře s příslušným technickým a personálním vybavením
- *Tzv. detašovaná pracoviště generující výkony musí podat samostatnou žádost o audit*
- *Akceptovatelné jsou pouze odběrová pracoviště*
- při změně organizačního začlenění, nutno zaslat na NASKL prohlášení o zachování podmínek a požádat o osvědčení s novým názvem laboratoře

VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ VYŠETŘENÍ PROVÁDĚNÝCH MIMO LABORATOŘ

- Sedimentace, krvácivost, fragilita kapilár, ….
- Pokud výsledky byly provedeny např. sestrou v hematologické ambulanci, je nutné tuto skutečnost uvést na výsledkový list
- Na výsledkovém listu musí být jednoznačně odlišeny výsledky jiného subjektu (smluvní, či spolupracující laboratoř)

NOVÁ DOPORUČENÍ NA WWW.HEMATOLOGY.CZ

2019

- Stanovisko k uvolňování výsledků z hematologické laboratoře
- Nepodkročitelná minima odbornosti 818
- Diagnostika LA

2018

- Kritické hodnoty základních hematologických vyšetření
- Stanovisko ČHS ČLS JEP k uvolňování výsledků z hemat.laboratoře
- Hodnocení nátěru aspirátu KD
- Referenční meze koagulačních stanovení
- Referenční meze KO,DIF, RET, NRBC u dětí
- Referenční meze myelogramu dospělých

2017

- Zavedení nového přístroje v laboratoři
- Doporučení pro akreditace jednotlivých vyšetření odb.818
- Pořadí zkumavek při odběru krve
- Vnitřní kontrola kvality měření KO na hematologických analyzátorech

PERSONÁLNÍ OBSAZENÍ
NEPODKROČITELNÁ MINIMA ODBORNOSTI 818

nová 10.verze NM 818, která je v souladu s vyhláškou 99/2012 Sb., část III

Méně než 10 % vyšetření pro hospitalizované pacienty:

- VŠ nelékař (spec. 818) + VŠ lékař (spec.202/222)

  min úvazek 0,2 - součet úvazků pracovníků 1,0, v zam. poměru na dobu neurčitou (ne na „Dohodu o prac.činnosti“)

  denní přítomnost jednoho z nich
- 1 ZL (spec. 818) úvazek 1,0

Více než 10 % vyšetření pro hospitalizované pacienty

- VŠ nelékař (spec.818) + VŠ lékař (spec.202/222)

  min úvazek jednoho z nich **0,8 (vedoucí)** - součet všech úvazků 1,2

  v zam. poměru na dobu neurčitou, denní přítomnost jednoho z nich
- 2 ZL(spec. 818) úvazek 1,0

PERSONÁLNÍ OBSAZENÍ
NEPODKROČITELNÁ MINIMA ODBORNOSTI 818

Více než 10 % vyšetření pro hospitalizované pacienty a nepřetržitý provoz

- VŠ nelékař (spec.818) + VŠ lékař (spec.202/222)

  min úvazek jednoho z nich 0,8 (vedoucí) - součet všech úvazků 1,2

  v zam. poměru na dobu neurčitou, denní přítomnost jednoho z nich
- 3 ZL (spec. 818) úvazek 1,0 + 1 ZL způsobilý k výkonu povolání bez odb. dohledu

Odbornost 818 – Hematologická laboratoř

Adresa pracoviště		Jméno vedoucího laboratoře:		Telefon: Email:

☐ **Typ A.** Pracoviště, které provádí z celkového počtu vyšetření **v odbornosti 818 méně než 10 % vyšetření** pro hospitalizované pacienty na akutních a diagnostických lůžkách (netýká se lůžek s následnou péčí, včetně hospiců)

☐ **Typ B.** Pracoviště, které provádí z celkového počtu vyšetření **v odbornosti 818 více než 10 % vyšetření** pro hospitalizované pacienty na akutních a diagnostických lůžkách (netýká se lůžek s následnou péčí, včetně hospiců)

☐ **Nepřetržitý provoz**

☐ **Viceoborová laboratoř** Další odbornosti, ve kterých laboratoř nabízí své služby (minimálně 3):

Nepodkročitelná minima včetně plnění vyhlášky č. 99/2012 sb. - personál laboratoře

Lékař se specializační zkouškou z odbornosti 202/222				VS nelékař (Mgr. studium) se specializační zkouškou v odbornosti 818			
Jméno	Úvazek	Číslo osvědčení	Dostupnost	Jméno	Úvazek	Číslo osvědčení	Dostupnost

Typ A: požaduje se přítomnost lékaře se specializační zkouškou z odbornosti 202/222 a VŠ nelékaře (magisterské studium) se specializační zkouškou v odbornosti 818 (Klinická hematologie a transfuzní lékařství/Klinická hematologie a transfuzní služba) v zaměstnaneckém poměru na dobu neurčitou v dané laboratoři minimálně (každý z nich) na 0,2 úvazku. Přičemž součet všech úvazků musí být minimálně 1,0. Vyžaduje se denní přítomnost na pracovišti jednoho z nich.*
Typ B: požaduje se přítomnost lékaře se specializační zkouškou z odbornosti 202/222 a VŠ nelékaře (magisterské studium) se specializační zkouškou v odbornosti 818, oba v zaměstnaneckém poměru na dobu neurčitou v dané laboratoři. Jeden z nich je vedoucím pro odbornost 818 v dané laboratoři s pracovním úvazkem nejméně 0,8, celkový součet jejich úvazků musí být minimálně 1,2. Vyžaduje se denní přítomnost na pracovišti jednoho z nich.*
** Za zaměstnanecký poměr se nepovažuje „Dohoda o provedení práce". V případě, že pracovník má uzavřenu „Dohodu o pracovní činnosti", je nepřípustná formulace „.... Do X hodin týdně" (počet hodin musí odpovídat požadovanému pracovnímu úvazku).*

Zdravotní laborant se specializovanou způsobilostí v oboru 1,0 úvazek (u pracovišť s nepřetržitým provozem 3,0 úvazek)				Zdravotní laborant způsobilý k výkonu povolání bez odborného dohledu, pokud jsou zajišťovány služby laboratoře pro poskytování akutní lůžkové péče 1,0 úvazku		
Jméno	Úvazek	Číslo osvědčení	Dostupnost	Jméno	Úvazek	Dostupnost

Typ A: požaduje se přítomnost alespoň jednoho zdravotního laboranta se specializační zkouškou z odbornosti 818 (Klinická hematologie a transfuzní služba) v zaměstnaneckém poměru na dobu neurčitou s pracovním úvazkem 1,0 (úvazek zdravotního laboranta nelze skládat z více menších úvazků).
Typ B: požaduje se přítomnost minimálně dvou zdravotních laborantů se specializační zkouškou z odbornosti 818, každý z nich v zaměstnaneckém poměru na dobu neurčitou s pracovním úvazkem 1,0 (úvazky zdravotních laborantů nelze skládat z více menších úvazků).
***V případě, že klinická laboratoř je současně pracovištěm s nepřetržitým provozem** se na pracovišti zvyšuje požadavek na celkový počet zdravotních laborantů se specializační zkouškou z odbornosti 818 na minimálně 3 zdravotní laboranty, každý z nich v zaměstnaneckém poměru s pracovním úvazkem 1,0.*

Minimální požadavky na počet a spektrum vyšetření/rok

Název vyšetření:	Krevní obraz	Diferenciální rozpočet leukocytů (mikroskopicky)	Koagulace
Počet vyšetření / rok:			
Minimálně požadovaný počet vyšetření / rok:	*5000*	*1000*	*500*

Popis změn od posledního auditu NASKL ve vztahu k nepodkročitelným minimům a k požadavkům auditů NASKL

Oblast	Slovní popis změny
Personál laboratoře	
Prostory laboratoře	
Přístrojové vybavení laboratoře	
Prováděná vyšetření	
Další podstatné změny	

Poznámka: Formulář nepokrývá všechny aspekty nepodkročitelných minim odborných společností.
Kurzívou jsou uvedeny požadavky specifikované v nepodkročitelných minimech odborných společností, celé znění požadavku nepodkročitelných minim je k dispozici na www.naskl.cz v sekci Oborově specifické příspěvky. Splnění všech nepodkročitelných minim je podmínkou úspěšného absolvování auditu NASKL.

Za správnost údajů odpovídá: ..... V ..... dne .....
(podpis odpovědné osoby, razítko)

PERSONÁLNÍ OBSAZENÍ NEPODKROČITELNÁ MINIMA ODBORNOSTI 818

vedoucí(m) laboratoře nemůže být osoba bez specializace v příslušném oboru!

Změnu v personálním obsazení laboratoře (dle NM) je nutno hlásit NASKL

Pro vedoucí funkce, garanty, MK, metrologa, IA, musí být jmenování kontroluje se vzdělání, proškolení

Pro vedoucí funkce musí být zastupitelnost, kontroluje se organizační řád

PŘÍRUČKA KVALITY ZÁKLADNÍ DOKUMENT

Prověřuje se struktura a provázanost s ostatní dokumentací na pracovišti.

Součástí příručky kvality je politika kvality, ze které vycházejí

cíle kvality:

- Musí být vhodně formulované, reálné
- Konkretizovány do úkolů
- Termín
- Zodpovědní pracovníci
- Vyhodnocení plnění ve zprávě o přezkoumání SMK
- Z různých oblastí (lab. vyšetření, SMK, IT…)

Na PK navazuje organizační a provozní řád

schválení nadřízeným orgánem, prov. řád hygienikem

SMĚRNICE O ŘÍZENÍ DOKUMENTACE

Jaké dokumenty jsou řízeny, zabezpečení proti přepsání

kontroluje se předepsaná struktura a obsah,
seznámení s dokumentem, dostupnost, aktuálnost,

V této směrnici se auditor zajímá:
odpovědnosti za zpracování, kontrolu, schválení a revize, řízení revizí, archivace

- v předložených dokumentech kontroluje zda uvedené osoby jsou v souladu se směrnicí

Odlišení změn v dokumentech

PROVĚŘOVÁNÍ KVALITY V LABORATOŘI - PŘEZKOUMÁNÍ VEDENÍM

- *Přezkoumání požadavků na vyšetření a adekvátnost postupů):*
- *Zpětná vazba od uživatelů: dotazníky spokojenosti*
- *Zpětná vazba od personálu: musí být písemný záznam*
- *Interní audity: kolik, úspěšnost*
- *Indikátory kvality (TAT):*
- *Hodnocení externími organizacemi:*
- *EHK - úspěšnost*
- *Stížnosti*
- *Hodnocení dodavatelů*
- *Neshody způsobené laboratoří:*
- *Zlepšování, NO, PO*
- *Řízení zdrojů*
- *Opatření z předchozích přezkoumání*
- *Změny v činnosti laboratoře s možným vlivem na SMK*

ŘEŠENÍ NESHOD

Musí existovat směrnice pro neshodnou práci, kde je popsáno: řešení neshod a NO, odpovědnosti

Kontroluje se řešení vybrané neshody a soulad se směrnicí, řešení klinických důsledků (špatný zápis výsledků do protokolu EHK nemá klinický dopad)

Není akceptováno, aby klinicky závažná neshoda (např. záměna reagencií v koagulometru) byla řešena pouze laborantem

Změna výsledků musí být dohledatelná

LABORATORNÍ VYBAVENÍ

Instalační protokol, prohlášení o shodě, zaškolení
Karta přístroje
Provozní deník přístroje (Záznamy o zařízeních)

Plnění nepodkročitelných minim odborných společností.

Odpovídající laboratorní vybavení k vykazovaným kódům vyšetření

Formální náležitosti záznamů o zařízení (Karta přístroje, Provozní deník, Validační protokol)

Autorizované záznamy o reagenciích
Logování do přístrojů

POSTUP PŘI VÝMĚNĚ PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY

Checklist zavedení analyzátoru

Laboratoř: .....

1. Popis analyzátoru		Zpracoval:	
Název			
Výrobce			
Umístění			
2. Dokumentace k analyzátoru		Zpracoval:	
Předávací protokol	☐	Instalační protokol	☐
Prohlášení o shodě	ANO/NE	Agenda přístrojové techniky v SLP	☐
Provozní deník	☐	Servis v agendě SLP	☐
SOPT + další řízené dokumenty	☐	Výrobce v agendě SLP	☐
Návod v ČJ	☐	Dodavatel v agendě SLP	☐
Proškolení pracovníků	☐	Přidání do kompetencí pracovníků	☐
Zařazení do inventáře FNKV	☐	Vylepení inventárního č.	☐
Inventární číslo		Inventární číslo v SLP u karty přístroje	☐
Zodpovědný pracovník		Způsob nabytí	N/Z*
3. Nastavené metody		Zpracoval:	
IVD CE	☐	In-House	☐
4. PBTK, elektrorevize a kalibrace		Zpracoval:	
PBTK, vč. vylepení štítku	☐	Pravidelnost	
Nastavení kalibrace	ANO/NE	Pravidelnost	
Elektrorevize, vč. vylepení štítku	☐		
5. Komunikace		Zpracoval:	
Komunikace s LIS	☐	Záloha primárních dat	☐
Middleware	☐		
6. Kontrola přenosů		Zpracoval:	
Kontrola přenosů			☐
7. Schválení			
Schválení uvedení do provozu	Datum	Podpis	

* Nehodící se škrtněte. N – nákup, Z – zápůjčka.

- Výměna nosné přístrojové techniky se hlásí písemně na NASKL spolu s objednávkou Konzultační návštěvy v rozsahu 4 hodin.

Povinná administrativa je rozsáhlá, doporučuji si předem sepsat požadované dokumenty a udělat plán zavedení analyzátoru

POSTUP PŘI VÝMĚNĚ PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY

- Verifikace:

Opakovatelnost (preciznost v sérii)

	KO	koagulace
Materiál	Firemní kontrolní materiál/ čerstvá krev pacienta	Firemní kontrolní materiál/ citrátová plazma pacienta či dárce
Počet měření	5-10x, podmínky opakovatelnosti	6-10x, podmínky opakovatelnosti
Počet hladin	1 (N)	2 (N, P)
Parametry	Přímo měřené parametry KO	Min. 1 metoda z každého principu/typu měření (APTT, FBG, AT)
Vyhodnocení	SD a %CV	SD a %CV
	Firemní data či doporučení ČHS o VKK.	

Preciznost měření kontrolního materiálu v čase (mezilehlá preciznost)

	KO	koagulace
Materiál	Firemní kontrolní materiál	Firemní kontrolní materiál nebo směsná plazma
Počet měření	1x před uvolněním přístroje do provozu a poté 1-2x denně po dobu 10-30 dnů za provozu přístroje, min. 20 měření	1x před uvolněním přístroje do provozu a poté 1-2x denně po dobu 20-30 dnů za provozu přístroje, min. 20 měření
Počet hladin	3 (L, N, H)	2 (N, P)
Parametry	Přímo měřené parametry KO	Min. 1 metoda z každého principu/typu měření (APTT, FBG, AT)
Vyhodnocení	SD a %CV	SD a %CV
	Dle doporučení ČHS o VKK.	

POSTUP PŘI VÝMĚNĚ PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY

- Verifikace: *porovnatelnost se u havárie neprovádí*

Porovnatelnost

	KO	koagulace
Materiál	Čerstvá krev	Citrátová plazma
Počet vzorků	Min. 20 vzorků	Min. 10 vzorků
Typy vzorků	Pokud možno pokrýt měřicí rozsah	
Parametry	Přímo měřené parametry KO	Min. 1 metoda z každého principu/typu měření (APTT, FBG, AT)
Vyhodnocení	Dle doporučení ČHS o VKK.	

Další postupy:

- Dokladovat primární dokumentaci všech vstupních verifikačních měření
- Zapojit se do prvního možného EHK, či navázat na referenční analyzátor
- Nastavit VKK dle doporučení ČHS

POSTUP PŘI VÝMĚNĚ PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY

- Jak vyhodnotit porovnatelnost ?
- Složitá situace, pokud je předchozí technika zastaralá
- Doporučuje se provést regresní závislost, rozdílové grafy, pokud by došlo ke klinicky významným změnám, je nutno informovat lékaře.

- *U některých metod se porovnává senzitivita a specifita (APCR, D-Dimery)*

ZAVEDENÍ NOVÉ METODY

- Laboratoř musí předložit postup pro vyhodnocování nové metody před zahájením jejího rutinního používání!
- Platí i pro metody, které nepatří mezi 50% nejfrekventnějších metod!
- Pro metody s CE odpovídá rozsah minimálně verifikačnímu protokolu, bez CE či modifikací validačnímu protokolu

Porovnání přístrojů

Pro vyhodnocení porovnání přístrojů byla provedena analýza vzorků periferní krve ve dvou přístrojích XN series.

Byla provedena lineární regresní analýza pro posouzení porovnatelnosti výsledků z obou přístrojů.

Porovnání přístrojů Měřicí mód [Whole Blood] (Plná krev)				
Parametr	Směrnice	Průsečík	Korelační koeficient [r]	Průměrná odchylka [%]
WBC	0,8 – 1,2	± 0,2 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 8
WBC-N	0,8 – 1,2	± 0,2 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 8
WBC-D	0,8 – 1,2	± 0,2 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 8
RBC	0,9 – 1,1	± 0,2 [x 10^6/µL]	≥ 0,95	± 5
HGB	0,9 – 1,1	± 0,4 [g/dL]	≥ 0,95	± 5
HCT	0,9 – 1,1	± 4 [%]	≥ 0,90	± 8
MCV	Tento parametr je vypočítán jako HCT/RBC.			
MCH	Tento parametr je vypočítán jako HGB/RBC.			
MCHC	Tento parametr je vypočítán jako HGB/HCT.			
MicroR	0,5 – 1,5	± 4 [%]	≥ 0,80	± 30
MacroR	0,5 – 1,5	± 4 [%]	≥ 0,80	± 30
PLT	0,8 – 1,2	± 30 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 10
PLT-I	0,8 – 1,2	± 30 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 10
PLT-O	0,8 – 1,2	± 30 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 20
PLT-F	0,8 – 1,2	± 10 [x 10^3/µL]	≥ 0,95	± 10
RDW-SD	0,8 – 1,2	± 10 [fL]	≥ 0,90	± 10
RDW-CV	0,8 – 1,2	± 5 [%]	≥ 0,90	± 15
PDW	0,75 – 1,25	± 2,5 [fL]	≥ 0,80	± 20
MPV	Tento parametr je vypočítán jako PCT/PLT.			
P-LCR	0,8 – 1,2	± 5 [%]	≥ 0,80	± 20
PCT	0,9 – 1,1	± 0,05 [%]	≥ 0,80	± 10
NEUT#	Vypočítáno z hodnot WBC a NEUT%			
LYMPH#	Vypočítáno z hodnot WBC a LYMPH%			
MONO#	Vypočítáno z hodnot WBC a MONO%			
EO#	Vypočítáno z hodnot WBC a EO%			
BASO#	Vypočítáno z hodnot WBC a BASO%			
NEUT%	0,85 – 1,15	± 8 [%]	≥ 0,90	± 8
LYMPH%	0,85 – 1,15	± 8 [%]	≥ 0,90	± 10
MONO%	0,8 – 1,2	± 5 [%]	≥ 0,70	± 15
EO%	0,85 – 1,15	± 0,5 [%]	≥ 0,90	± 3
BASO%	0,6 – 1,4	± 0,5 [%]	≥ 0,50	± 30
IG#	Vypočítáno z hodnot WBC a IG%			
IG%	0,6 – 1,4	± 0,5 [%]	≥ 0,50	± 30

Tableau : Corrélations de systèmes

Comparaison entre automates et réactifs Stago identiques

Table: System Correlations

Comparison Between Identical Stago Analysers and Reagent Systems

Paramètre/ Parameter	r	Pente/ Slope	Biais moyen*/ Mean Bias from Average*	Ordonnée à l'origine/ Intercept
TP/PT	≥ 0.98	0.9 – 1.1	+/- 8% (in sec.)	+/- 5%
INR	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 10%	/
TCA/APTT	≥ 0.98	0.9 – 1.1	+/- 8%	2 sec.
Fibrinogène/ Fibrinogen	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	0.25 g/L
D-Dimère/ D-Dimer	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 25%	0.30 µg/mL
Antithrombine/ Antithrombin	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 20%	+/- 5%
Facteurs exogènes/ Extrinsic Factors	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 15%	+/- 5%
Facteurs endogènes/ Intrinsic Factors	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 15%	+/- 5%
Héparine/Heparin	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 30% *(Taux bas/Low level)* +/- 15% *(Taux élevé/High level)*	0.10 UI/mL
Antiplasmine/ Antiplasmin	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	/
Plasminogène/ Plasminogen	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	/
Protéine/Protein C	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 15%	/
Protéine/Protein S	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 20% *(Normal)* +/- 30% *(Pathologique/Abnormal)*	/
Reptilase	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 10%	/
TT/ Thrombin Time	≥ 0.95	0.9 – 1.1	+/- 18%	/
vWF	≥ 0.95	0.8 – 1.2	+/- 20%	/

* Le biais moyen est calculé de la façon suivante :
(Moyenne des Différences (X_i-Y_i) / Moyenne (X_i,Y_i)) x 100

* The Mean Bias (Mean Difference) % is calculated using the following formula:
(Mean of Raw Differences/Mean of Averages) x 100

VERIFIKACE METOD

Pro správný výpočet nejistoty a BIAS je důležité znát **návaznost metody**

Při auditu se kontroluje v SOPV a verifikačním protokolu

Mnoho rutinních metod v hematologii však návaznost k určitému CRM nemá (např. APTT)

http://www.sekk.cz/infoservis/2014_nejistoty_doporuceni.pdf

Pro výpočet mezilehlé preciznosti by mělo být zpracováno alespoň 20 výsledků u speciálních metod je akceptováno cca 10 měření.

NÁVAZNOST KO

Metrological traceability and literature references

The assigned value for XN CAL is determined by XN series, XN-L series who are calibrated with fresh human blood against the following international conventional reference measurement procedures:

WBC: Reference method for the enumeration of erythrocytes and leucocytes, ICSH Expert Panel on Cytometry, Clin Lab Haematol. 1994; 16, 131-138. Counts on 1:500 dilutions performed on SCC (Semi-automated Single Channel counter), a volumetric manometer semi-automated electronic impedance cell counter.

RBC: Reference method for the enumeration of erythrocytes and leucocytes, ICSH Expert Panel on Cytometry, Clin Lab Haematol. 1994; 16, 131-138. Counts on 1:500 dilutions performed on SCC (Semi-automated Single Channel counter), a volumetric manometer semi-automated electronic impedance cell counter.

HGB: Recommendation for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specification for international haemiglobincyanide standard (4th edition), ICSH Expert Panel on Haemoglobinometry, J Clin Pathol 1996; 49: 271-274.
CLSI H15-A3: Reference and selected procedures for the quantitative determination of hemoglobin in blood; Approved Standard – Third edition (2000).
Photometry on 1:250 dilutions with appropriate reagent (recommended by van Kampen, Zijlstra).

HCT: Recommendations for Reference Method for the Packed Cell Volume (ICSH Standard 2001), ICSH Expert Panel on Cytometry, Clin Lab Hematol. 2001; 7:148-170.
CLSI H7-A3: Procedure for determining Packed Cell Volume by the Microhematocrit Method; Approved Standard – Third edition (2000).

PLT: Platelet counting by the RBC/Platelet Ratio Method – A Reference method, ICSH Expert Panel on Cytometry and ISLH Task Force on Platelet Counting, Am J Clin Pathol 2001; 115, 460-464.
Determined from the RBC/PLT ratio performed by fluorescence flow cytometry with platelets labeled with monoclonal antibodies.

RET: Methods for Reticulocyte Counting (Automated Blood Cell Counters, Flow Cytometry, and Supravital Dyes); Approved Guideline – Second Edition Manual method CLSI H44-A2 (2004).

Product	CELL-DYN HemCal Plus Calibrator		
Analyzer	CELL-DYN Ruby		
Measurand	uc *Combined Uncertainty	U **Expanded Uncertainty	Reference Method
WBC (WOC)	2.64%	5.27%	1
WBC (NOC)	1.32%	2.63%	1
RBC	1.02%	2.03%	1
MCV	1.41%	2.81%	1, 3
Hb	0.98%	1.96%	1, 2
PLT	2.56%	5.12%	1, 4

*Combined Uncertainty (uc) displayed is the combined variance of the maximum allowable recovery ranges in the manufacturing process.
**Expanded Uncertainty (U) displayed is maximum relative Expanded Uncertainty using coverage factor k=2.

1. The Expert Panel in Cytometry of the ICSH, J.M. England, et. al.: The Assignment of Values to Fresh Blood Used for Calibrating Automated Blood Cell Counters. Clinical Lab Haemat 10:203-212, 1988.

2. Reference and Selected Procedures for the Quantitative Determination of Hemoglobin in Blood; Approved Standard -Third Edition; CLSI document H15-A3, CLSI, 940 West Valley Rd., Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA, 2000.

3. Procedure for Determining Packed Cell Volume by the Microhematocrit Method; Approved Standard - Third Edition; CLSI document H07-A3, CLSI, 940 West Valley Rd., Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA, 2000.

4. The Expert Panel in Cytometry of the ICSH: Platelet Counting by the RBC/Platelet Ratio Method. Am. J. Clin. Pathol. 115:460 - 464, 2001.

VALIDACE METOD – MODIFIKOVANÉ ČI HOME MADE METODY

Řeší se zejména u koagulací

Provádí se u:

- nestandardní metody
- metody navržené a vyvinuté v laboratoři
- standardní metody používané mimo rámec jejich zamýšleného použití
- validované metody, které byly následně upraveny
- použití kalibrátoru s jinou návazností je modifikovaná metoda!

Nutno mít aplikační protokol s CE značkou

VALIDACE METOD – HOME MADE METODY

Výběr výkonnostních charakteristik s cílem **doložit objektivní důkaz validní metody pro zamýšlený účel použití**:

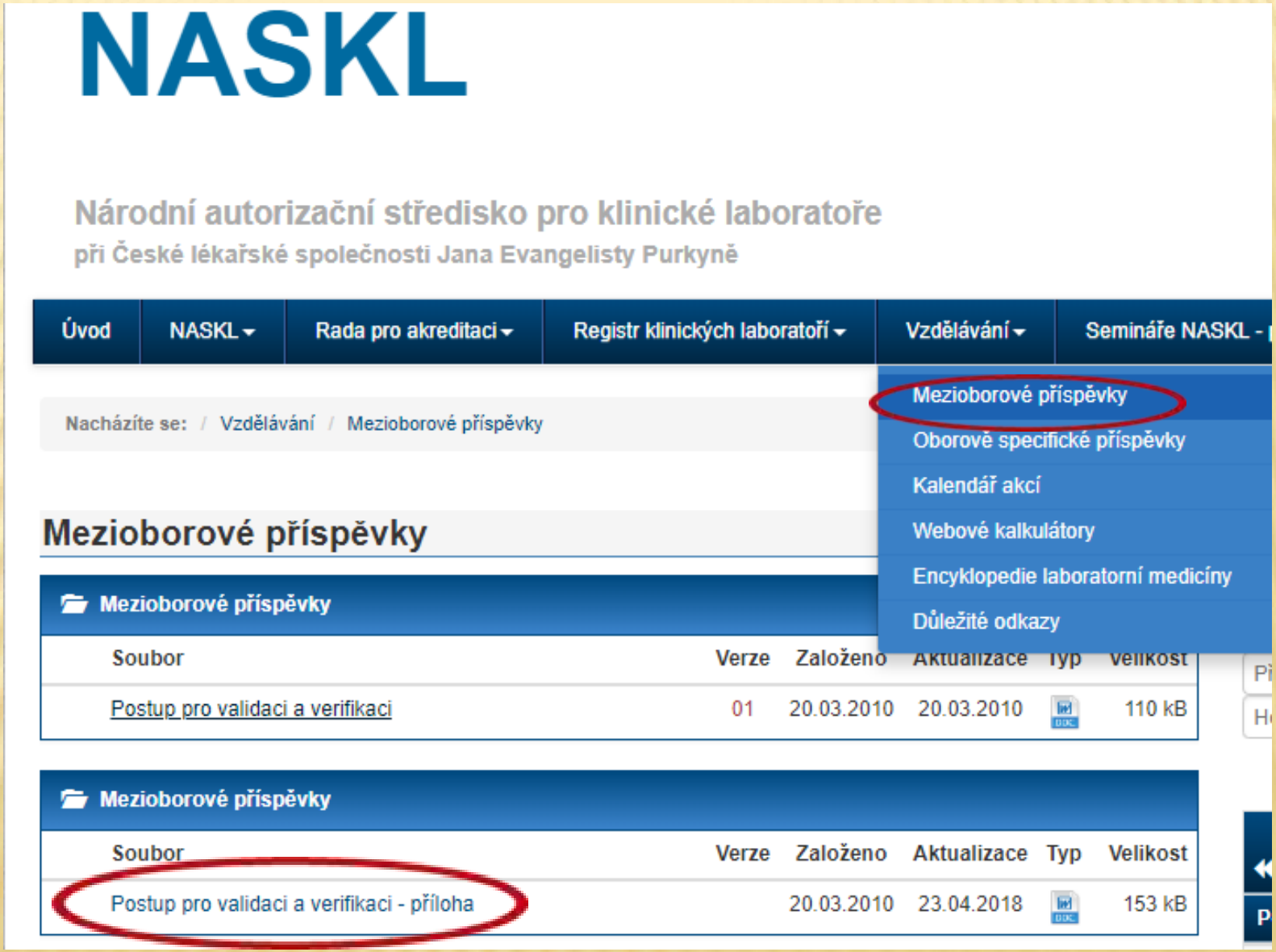
U metod s návazností jednodušší - porovnatelnost s validovanou metodou

U metod bez návaznosti problematické

např. APTT ⇒ test vyvinutý pro Dg. koagulopatií, zejména hemofilie, současné době se používá také pro Dg. LA, sledování UFH léčby

Zhodnotit, zda zásah do metody nezpůsobil ztrátu schopnosti odlišit patologické výsledky

VALIDACE METOD – HOME MADE METODY



Příloha č. 1 Doporučený postup ověření charakteristik v rámci validace kvantitativní metody[1]

Charakteristika metody	Odb.	Specifikace a počet použitých vzorků	Doporučený postup	Poznámka
Stanovení opakovatelnosti	**222, 801, 802, 815, 816, 817, 823**	Minimálně 2 vzorky (kontrolní nebo pacientské) o různých hodnotách (jeden vzorek v dolní polovině rozsahu/intervalu měřitelných hodnot a jeden v horní polovině intervalu měřitelných hodnot, resp. v blízkosti klinicky rozhodujících hladin).	Každý vzorek testovat minimálně v počtu replikací, které umožňuje metoda (doporučuje se alespoň 20) – pro každý vzorek vypočítat základní statistické parametry AM, SD a CV při vyloučení odlehlých hodnot. Při použití vhodného referenčního materiálu, je-li dostupný, s hodnotami typu RMP či AV (popř. kontrolního vzorku s ověřenou hodnotou obsahu analytu či hodnotou parametru) lze současně se stanovením opakovatelnosti určit vychýlení/bias.	
	818, 813			U obtížně získatelných materiálů (např. kostní dřeň) provést takový počet opakování, který získaný materiál umožňuje
	812	Alespoň 3 vzorky referenčních standardních vzorků (analyt vysoké čistoty jako referenční materiál připravený v odpovídající matrici) o různých hodnotách (jeden vzorek v dolní polovině rozsahu/intervalu měřitelných hodnot, jeden uprostřed a jeden v horní polovině intervalu měřitelných hodnot).	Každý vzorek testovat minimálně v 10-ti replikacích během jedné analýzy jedním analytikem za stejných podmínek v jeden den – pro každý vzorek vypočítat základní statistické parametry AM, SD a CV při vyloučení odlehlých hodnot.	CV musí být co nejnižší (do 15 %)
	814	Minimálně 2 vzorky (terapeutické a toxické koncentrace)	Každý vzorek testovat minimálně v 6-ti replikacích během jedné série měření – pro každý vzorek vypočítat základní statistické parametry AM, SD a CV při vyloučení odlehlých hodnot. Při použití vhodného certifikovaného referenčního materiálu s hodnotami typu RMP či AV (popř. kontrolní vzorek s ověřenou koncentrací	

MĚŘÍCÍ ROZSAH

Měřicí interval Měřicí mód [Whole blood] (Plná krev), měřicí mód [Pre Diluton] (Předředění), měřicí mód [Low WBC] (Nízký počet leukocytů)			
Parametr	Dolní limit	Horní limit	Jednotky
WBC	0,03	440,00	x 10^3/µL
WBC-N	0,03	440,00	x 10^3/µL
WBC-D	0,03	440,00	x 10^3/µL
RBC	0,01	8,60	x 10^6/µL
HGB	0,1	26,0	g/dL
HCT	0,1	75,0	%
MCV	NA*2	NA*2	fL
MCH	NA*2	NA*2	pg
MCHC	NA*2	NA*2	g/dL
MicroR	NA*4	NA*4	%
MacroR	NA*4	NA*4	%
PLT	2	5 000	x 10^3/µL

Nutno nastavit v LIS:

Mimo rozsah se vydávají jako < nebo > než

Např.

Plt < 2*10e9/l

aPTT/R > 6

*(popis **nekoagulující** není vhodný)*

Název metody		Výsledek			Referenční meze
Krevní obraz					
B-WBC	!!	<0.03	x10^9/1	*[]	4.00-10.00
B-RBC	!	1.81	x10^12/1	*[]	3.80-5.20
B-HGB	!!	58.0	g/1	*[]	120.0-160.0
B-HCT	!	0.162	1	*[]	0.350-0.470
B-MCV		89.5	fl	[*]	82.0-98.0
B-MCH		32.0	pg	[*]	28.0-34.0
B-MCHC		358	g/1	[*]	320-360
B-RDW	*	17.2	%	[]*	10.0-15.2
B-Retikulocyty#	*	0.013	x10^12/1	*[]	0.025-0.100
B-Retikulocyty		0.7	%	[*]	0.5-2.5
B-Nezralé retik.		0.0	%		
B-Stř. HGB retik.		34.1	pg	[*]	28.4-35.7
B-NRBC#		nelze			0.00-0.00
B-NRBC		nelze			0.00-0.00
B-PLT	!!	7	x10^9/1	*[]	150-400
B-MPV		10.5	fl	[*]	7.8-11.0
B-PDW		10.0	fl	[*]	9.0-17.0
B-Plateletcrit	*	0.01	%	*[]	0.12-0.35
B-Nezralé PLT#	*	0.10	x10^9/1	*[]	3.10-16.40
B-Nezralé PLT		1.10	%	[*]	1.10-6.10
Diferenciál - analyzátor					
B-Neutro#[1]		nelze			2.00-7.00
B-Nezralé granulo#		nelze			0.00-0.09
B-Eozino#		nelze			0.00-0.50
B-Bazo#		nelze			0.00-0.20
B-Mono#		nelze			0.08-1.20
B-Lymfo#					
B-Neutrofily[1]					
B-Nezralé granulo					
B-Eozinofily		nelze			0.0-3.0
B-Bazofily		nelze			0.0-2.0
B-Monocyty		nelze			2.0-12.0
B-Lymfocyty		nelze			20.0-45.0

neutropenie v rámci chemoterapie

Hmotnost: **58** kg

* - výsledek mimo referenční meze, ! - varovná hodnota výsledku, !! - kritická hodnota výsledku

Vysvětlivky k materiálům: B-plná krev, P-plazma, BF-jiná tělní tekutina

Telefonické hlášení:
24.12.2018-07:08 Kritická hodnota HGB, PLT,

(1)Od 20.11.2018 vydáván z analyzátoru 6-populační diferenciál. Neutrofily zahrnují pouze zralé formy (neutrofilní segmenty a tyče)

Komentář k výsledkům:
Opakovane mereni KO
Opakovane mereni DIFF
Z duvodu nizke hodnoty leukocytu (WBC) nebylo provedeno pozadovane vysetreni

VERIFIKACE PŘENOSU DAT, ZÁLOHA PRIMÁRNÍCH DAT

Verifikace přenosu výsledků až k žadateli, včetně externích subjektů

Ideální prověření přenosu do LIS je zadání EHK jako pacienta

Záloha primárních dat nejlépe na médiu bez možnosti přepisu vymazání

METODY (NEBO SITUACE) S MANUÁLNÍM PŘEPISEM VÝSLEDKŮ

Manuální metodiky, sumátory, malé přístroje s nízkou frekvencí meření,
situace s výpadkem přenosu výsledků (havarijní plán) musí mít zajištěnou kontrolu přepisu výsledků
tzv. kontrola 4 očí, záznamy o autorizaci obou osob

LABORATORNÍ PŘÍRUČKA

Odběrový systém

Odběr biologického materiálu v souladu s LP

Dostupnost informací pro pacienta, pořadí odběru dle doporučení

Ref meze:

- odkaz na zdroj – u každé metody
- referenční meze koagulačních stanovení dle ČHS jsou stanoveny (pokud není uvedeno jinak) pro odběr do 3,2% citrátu
- uvádění ref. mezí s ohledem na věk pacienta
- změna ref. mezí musí být evidována
- Seznam hodnot v krit intervalech – schválený lékařem

SPRÁVNÉ JEDNOTKY A RM S ODKAZEM NA ZDROJ, SOULAD VÝSLEDKOVÉHO LISTU A LP

Uvádění RM u farmakoterapie

Antikoagulační léčba: Warfarin

Výsledkový list

Název metody		Výsledek		Referenční meze
Základní koagulace				
P-Protrombinový test (Quick)		27.1	s	
P-Protrombinový test-INR		2.46	--	[*] terap. rozmezí viz LP
P-Protrombinový test-ratio	!	2.32	--	[]* 0.80-1.20
P-APTT		45.8	s	
P-APTT-ratio	*	1.45	--	[]* 0.80-1.20

Hmotnost: **85** kg

* - výsledek mimo referenční meze, ! - varovná hodnota výsledk

Vysvětlivky k materiálům: B-plná krev, P-plazma, BF-jiná tělní t

Poznámka:
Test slouží k monitorování antikoagulační léčby kumarinovými preparáty (např. warfarin).

Výpočet: INR=R(umocněno ISI)
pozn.: ISI (international Senzitivity index), INR (International Normalized Ratio).
ISI je index umožňující standardizaci šarží i typů tromboplastinů. Je získán srovnáním účinnosti daného tromboplastinu s mezinárodním standardem. Ideální hodnoty jsou kolem 1,00.

R (poměr) - výpočet: poměr koagulačních časů plazmy pacienta tp a normální kontrolní plazmy tn (R=tp/tn).

Laboratorní příručka

Další informace:

Indikace orální antikoagulační léčby a doporučené rozmezí INR:	
Indikace	**Doporučené rozmezí INR**
Profylaxe žilní trombózy (operace s vysokým rizikem)	2,0 – 3,0
Léčba a sekundární prevence žilní trombózy	
Léčba a sekundární prevence plicní embolie	
Prevence systémové embolizace	
Bioprotézy srdečních chlopní	
Chlopenní vady	
Fibrilace síní	
Opakované systémové embolie	
Kardiomyopatie	
Mechanické protézy srdečních chlopní	2,5 – 3,5
Primární prevence srdečního infarktu	1,3 – 1,8

SPRÁVNÉ JEDNOTKY A RM S ODKAZEM NA ZDROJ

Uvádění RM u farmakoterapie

Výsledkový list

Antikoagulační léčba: Warfarin
Antiagregační terapie / jiná koagulaci ovlivňující terapie: Warfarin + Fraxiparine

Název metody	Výsledek	Referenční meze
Základní koagulace		
P-LMWH (Anti-Xa)	0.61 IU/ml	[*] rozhodovací meze viz komentář

Hmotnost: **56** kg

* - výsledek mimo referenční meze, ! - varovná hodnota výsledku, !! - kritická hodnota výsledku

Vysvětlivky k materiálům: B-plná krev, P-plazma, BF-jiná tělní tekutina

Komentář k výsledkům:
Terapeutické rozmezí pro LMWH se liší dle dávkování LMWH (platí pro enoxaparin, nadroparin, dalteparin):
profylaxe: 0,2– 0,4 IU/ml anti Xa
léčebné podávání:
1mg/kg (100 IU/kg) každých 12 hodin: 0,6 – 1,0 IU/ml anti Xa
1,5mg/kg (150 IU/kg) každých 24 hodin (přípravky forte): 1,0 – 2,0 IU/ml anti Xa

Ustáleného stavu je dosaženo 2. den po zavedení LMWH tj.po aplikaci 2 dávek 1,5 mg/kg/24 hod, nebo po aplikaci 3 dávek 1 mg/kg /12 hod.

Kontroloval:
Datum a čas uvolnění: 22.01.2019-13:59:00
Datum a čas tisku výsledku: 22.01.2019-14:08

ZPŮSOB VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ MUSÍ RESPEKTOVAT DOPORUČENÍ ČHS

SCHISTOCYTY

Doporučení ČHS ČLS JEP Schistocyty – identifikace, kvantifikace a diagnostický přínos z r. 2014

Kvantitativní hodnocení je důležité pro diagnózu a monitoring pacientů s TTP i pro monitoring pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk, ve kterém je TMA častou a závažnou komplikací, a mělo by být prováděno pouze v případě, že schistocyty jsou dominantní abnormalitou v nátěru.

Kvantitativně se tedy schistocyty udávají jako počet schistocytů na 1000 erytrocytů (např. 10/1000 ery).

Kvalitativně hodnotit přítomnost schistocytů (přítomny a/nebo nepřítomny) se nedoporučuje!

VYDÁVÁNÍ VŠECH KLINICKY DŮLEŽITÝCH PARAMETRŮ V SOUVISLOSTI S NAMĚŘENÝMI VÝSLEDKY (*POKUD JE TO MOŽNÉ*)

Pokud je možné vydat výsledek diferenciálu z analyzátoru, vydává se v relativních i v absolutních hodnotách !
Diagnostika závažných onemocnění je postavena na absolutních hodnotách
Jakékoli přepočítávání je pro klinika zátěž.

NASTAVENÍ IKK - KO

Mezilehlá preciznost

a) před začátkem rutinního provozu nebo během provozu; dle odhadu počtu měřených vzorků *minimálně však 1x denně jednu hladinu kontrolního materiálu: L (low – nízká) nebo N (normal) nebo H (high – vysoká)*

b) *minimálně 2* měření od každého typu kontrolního materiálu: L (low – nízká), N (normal), H (high – vysoká) *a to střídavě v rámci týdne*

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)

Opakovatelnost

V rámci verifikace

Reprodukovatelnost (mezipřístrojová kontrola)

1x denně 3 vzorky (L,N,H), všechny analyzátory a typy měření, vyhodnocovat CV% dle limitů WHO, či výrobce

Nutno dokladovat včetně vyhodnocení! Pouhé subjektivní porovnání tištěných výsledků nestačí!

Sledování Backround, X-B grafy. Preciznost měření v čase *(během dne)* **již není v doporučení**

ROZŠÍŘENÉ PARAMETRY, STABILITA KONTROL

- Kontrolovat se musí všechny vydávané parametry, pokud je kontrola možná
- Důležitá je nejen expirace šarže uvedená v příbalovém letáku, ale i po otevření lahvičky

NASTAVENÍ IKK - KOAGULACE

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- při každém spuštění přístroje
- při použití nové šarže reagencie
- po servisním zásahu (s vlivem na analýzu)
- při otevření nové lahvičky reagencie se stejnou šarží, která se musí rekonstituovat
- minimálně každých 24 hodin nebo ve velkých sériích po provedení 200 vyšetření daného testu

c) *Kontrolní materiál:*

- komerční lyofilizovaný, který nemusí mít uvedeno deklarované rozmezí nebo cílovou hodnotu pro daný test („neatestovaná kontrola“)
- směsný vzorek plazmy připravený na pracovišti
- s co nejdelší dobou exspirace
- dvě úrovně (referenční interval a patologické hodnoty, pokud jsou dostupné)
- pro kontrolní měření při otevření nové lahvičky reagencie se stejnou šarží, která se musí rekonstituovat, použít:
  - pacientskou plazmu změřenou před a po vyměnění nové lahvičky reagencie (rozdíl výsledků měření nesmí přesáhnout nejistotu měření dané metody a musí být dodržena pravidla preanalytické fáze – doba zpracování plazmy)
  - „neatestovaný“ nebo „atestovaný“ komerční lyofilizovaný materiál (stačí jedna úroveň)

VYHODNOCENÍ IKK

Povolené rozmezí je obvykle široké,
Pro rutinní testy sledování vlastních SD (CV%) – vhodné pro indikátory kvality
Nastavení Westgardových pravidel dle testu (2SD-3SD)

V dokumentaci k IKK by měl být dokumentovaný postup při neúspěchu

NASTAVENÍ EHK

Doporučení ČLS JEP k EHK v hematologické laboratoři

3. Doporučení pro hematologické laboratoře - postupy

a) Hematologická laboratoř se EHK musí účastnit pravidelně a to nejméně 2 x ročně u všech laboratorních metod, které provádí.

b) *Pokud není EHK k metodě dostupná, lze ji nahradit mezilaboratorní kontrolou (mezilaboratorní porovnání). Způsob provedení a vyhodnocení mezilaboratorního porovnání, včetně počtu zúčastněných laboratoří, musí být popsán v interní dokumentaci laboratoře. Jako kontrolní materiál v tomto případě lze použít certifikované referenční materiály, dříve analyzované vzorky, materiály ze skladů krevních buněk, kontrolní materiály, které jsou zkoušeny denně v programech mezilaboratorního porovnání (viz požadavky normy ISO 15189 v platné verzi, kap. 5.6.3).*

c) *Pokud není EHK pro metodu dostupná a není mezilaboratorní kontrola pro metodu proveditelná (např. z důvodu stability vzorku), lze výsledky vydávat pouze v případě zavedeného a dokumentovaného systému interní kontroly kvality pro danou metodu/daný postup, nicméně tuto metodu nelze akreditovat dle ISO 15189 v platné verzi.*

NASTAVENÍ EHK

Kontroluje se **plán EHK**:
Poskytovatel EHK: nezávislá organizace jejichž systém řízení kvality musí splňovat podmínky mezinárodní normy (ISO 17043 v platné verzi)
Kromě SEKK, zahraniční ECAT, Instand, DGKL, ale i BioRad EQAS

Úspěšnost v posledních 2 letech vyšší nebo rovna **75 %**.
EHK existuje i např. pro DOAC, LA, TT, inhibitory faktoru

Nutná účast nejméně 2x ročně, **neúspěch = neshoda**

Pokud není EHK k metodě dostupná, lze ji nahradit mezilaboratorní kontrolou (mezilaboratorní porovnání). Způsob provedení a vyhodnocení mezilaboratorního porovnání, včetně počtu zúčastněných laboratoří, musí být popsán v interní dokumentaci laboratoře (např. vydávání nových validovaných parametrů KO – NRBC, IG, RetHe, IPF,.....)

Pokud není EHK pro metodu dostupná a není mezilaboratorní kontrola pro metodu proveditelná (např. z důvodu stability vzorku) nelze akreditovat např. AGREGACE

ALIKVOTACE

- Centrifugace, PBTK centrifugy
- Způsob alikvotace
- Označení vzorků – je-li zajištěna návaznost alikvotů na primární vzorek
- Uchovávání vzorků
- Identifikace alikvotů v analyzátoru, zabezpečení proti záměně

PROVĚŘENÍ EXISTENCE DOHOD SE SMLUVNÍMI LABORATOŘEMI

Odlišení požadavků od smluvní laboratoře:

- požadavkový list
- výsledkový list
- Laboratorní příručka

ZÁVĚREM

Cílem auditů NASKL není za každou cenu zvyšovat množství zpracovávané dokumentace. Není těžké stále vytvářet nové a nové dokumenty, nejtěžší je dokumentaci udržovat aktuální s odrazem všech změn v laboratoři ⇒ do dokumentů je vhodné vkládat odkazy, aby se změny řešily pokud možno v jednom místě

Cílem auditů NASKL je zvýšit odbornou úroveň našich laboratoří, standardizovat postupy, zajistit spolehlivost laboratorních výsledků, ...