

## Overjanje hematološkega analizatorja ob uvedbi v rutinsko delo

Opazovana lastnost	Parameter	Kriterij sprejemljivosti <sup>1*</sup>	Izvedba	Statistična obdelava, prikazi	Opombe	
Natančnost/nenatančnost  krvna slika - analizator		<b>KV<sup>S</sup> (%)</b>		Izračun %KV ali SD.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Visoke in nizke vrednosti izberemo glede na populacijo, ki jo obravnavamo. Zelo nizke vrednosti parametrov le v primerih, če laboratorij obravnava take vzorce.</li> <li>Določitev natančnosti je pri številnih analizatorjih podprta že v samem aparatu zato lahko uporabljamo ustrezno aplikacijo.</li> </ul>	
		<b>v seriji</b>	<b>med serijami</b>			
	Hemoglobin (g/L)	0,9	1,0			
	MCV (fL)	0,6	0,8			
	Eritrociti (*10 <sup>12</sup> /L)	1,1				
	Levkociti (*10 <sup>9</sup> /L)	Visoke vrednosti (>10*10 <sup>9</sup> /L): 1,5 Normalne vrednosti: 2,5 Nizke vrednosti* (<1*10 <sup>9</sup> /L): 6,0				
	Trombociti(*10 <sup>9</sup> /L)	Normalne vrednosti: 3,0 Nizke vrednosti (<50*10 <sup>9</sup> /L): 4,5 Zelo nizke vrednosti (<20*10 <sup>9</sup> /L): 5,0				
Retikulociti (*10 <sup>9</sup> /L)	10		»Ponovljivost v seriji«: <b>5 vzorcev, 10 zaporednih meritev.</b>  »Ponovljivost med serijami«: <b>Meritev 5-ih vzorcev 5 zaporednih dni.</b> Meritve izvajamo na <b>kontrolnem materialu.</b>  Določamo vzorce na treh ravneh: normalna (N), zelo nizka (L), zelo visoka (H). Za eozinofilce, bazofilce in monocite zadošča normalna raven.			
DKS - analizator	Nevtrofilci (*10 <sup>9</sup> /L)	Normalne vrednosti: 2,5 Nizke vrednosti (<0,5*10 <sup>9</sup> /L): 10				
	Eozinofilci (*10 <sup>9</sup> /L)	10,0				
	Limfociti (*10 <sup>9</sup> /L)	3,5				
	Monociti (*10 <sup>9</sup> /L)	8,5				
	Bazofilci (*10 <sup>9</sup> /L)	20,0				
Točnost (odstopanje) in primerljivost aparatov		<b>Razlika med analizatorjema (bias) (%)</b>		Pri najmanj <b>100</b> vzorcih naredimo krvno sliko na prejšnjem in preverjanem aparatu.  Vključimo naslednja patološka odstopanja: Levkocitoza (>30*10 <sup>9</sup> /L) Levkopenija (<3*10 <sup>9</sup> /L) Nevtropenija (<0,5*10 <sup>9</sup> /L) Anemija (<90 g/L) Trombopenija (<100*10 <sup>9</sup> /L)	Primerjava metod: Bland-Altman (bias)  Regresija: korelacijski koeficient.  Statistična različnost: Parni t-test ali Wilcoxon / Mann-Whitney test	<ul style="list-style-type: none"> <li>Priporočamo, da je 1/3 do 1/2 vzorcev normalnih.</li> <li>Ostali vzorci naj zajamejo vsaj po en vzorec z odstopanji, ki so izrecno navedena pri izvedbi.</li> <li>Priporočamo testiranje čim širšega nabora patoloških odstopanj.</li> <li>Kriterij sprejemljivosti za primerljivost med analizatorjema je odličen korelacijski koeficient (čim bliže 1) in/ali p&gt;0,05 pri statistični različnosti. Vendar moramo upoštevati možnost, da je</li> </ul>
	Hemoglobin (g/L)	1,3				
	Eritrociti(*10 <sup>12</sup> /L)	3,2				
	MCV (fL)	2,0				
	Trombociti (*10 <sup>9</sup> /L)	6,4				
	Levkociti (*10 <sup>9</sup> /L)	4,4				
	Nevtrofilci (*10 <sup>9</sup> /L)	3,2				
	Eozinofilci (*10 <sup>9</sup> /L)	13,0				
Limfociti (*10 <sup>9</sup> /L)	5,0					
Monociti (*10 <sup>9</sup> /L)	15,0					

Opazovana lastnost	Parameter	Kriterij sprejemljivosti <sup>1*</sup>	Izvedba	Statistična obdelava, prikazi	Opombe		
	Bazofilci (*10 <sup>9</sup> /L)	32			<p>novejši analizator bolj točen.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Pri odstopanjih je potrebno razmaz pregledati mikroskopsko. Vzorce, ki odstopajo zaradi jasne patologije, izločimo.</li> <li>Za parametre krvne slike, ki jih aparat meri, dolgoročno ocenjujemo odstopanje tudi s pomočjo rezultatov EQA.</li> </ul>		
Učinkovitost opozoril		<b>Ciljna selektivnost (%)</b>	<b>Ciljna občutljivost (%)</b>	#Primerljivost z mikroskopskim pregledom: diferenciacija <b>1x100</b> celic, pri odstopanjih dodatni pregled 1x100.	Izračun občutljivosti in specifičnosti, pozitivne napovedne vrednosti, negativne napovedne vrednosti, celokupne učinkovitosti.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Priporočamo za laboratorije sekundarne in terciarne ravni.</li> <li>Nujno je treba vključiti tudi hemograme brez opozoril; priporočamo naključno izbrane vzorce oziroma zajem vzorcev v definiranem časovnem obdobju.</li> <li>Primerjava med analizatorji ni smiselna.</li> </ul>	
		Celokupna	>70				>90
		Blasti	>95				>80
		Limfociti (atipični+reaktivni)	>80				>98
		Agregati trombocitov	>80				>98
Linearnost (meja zaznavnosti, ozadje)		<b>Korelacijski koeficient</b>		<p>a) Pripravimo redčitveno serijo 1 vzorca za vsak parameter z zelo visoko izhodiščno vrednostjo (izotonična raztopina). Vsako meritev izvedemo v duplikatu.</p> <p>b) Redčitve pripravimo v enakomernih koncentracijskih razmikih.</p>	Graf odvisnosti pričakovanih (preračunanih) od opazovanih (izmerjenih) vrednosti. Izračun korelacijskega koeficienta. Iz grafa določimo tudi mejo zaznavnosti in ozadje meritve.		
		Hemoglobin	r>0,99				
		Eritrociti	razlika med opazovano in pričakovano vrednostjo < 15%				
		Levkociti					
		Trombociti					
Carry-over		<b>Carryover (%)</b>		Za vsak parameter vključimo <b>3 vzorce</b> . Analiziramo vzorec z visoko <sup>6</sup> vrednostjo <b>3x zaporedoma (A1, A2, A3)</b> , sledi vzorec z nizko vrednostjo <b>3x zaporedoma (B1, B2, B3)</b> .	Izračun po formuli: $((B1-B3)/(A3-B3)) \times 100$	<ul style="list-style-type: none"> <li>Določamo istočasno s primerljivostjo aparatov.</li> </ul>	
		Levkociti	<0,2%				
		RBC	<0,5%				
		Hemoglobin	<0,4%				
		Trombociti	<0,5%				

Opazovana lastnost	Parameter	Kriterij sprejemljivosti <sup>1*</sup>	Izvedba	Statistična obdelava, prikazi	Opombe
<b>Stabilnost</b>	Preverimo vpliv staranja na vsak parameter posebej: a) Citarne vrednosti hemograma b) Stabilnost opozoril	Poznavanje vpliva staranja na posamezen parameter in ocena sprejemljivost izdaje izvida.	<b>5 normalnih, 5 patoloških</b> vzorcev (različne celične vrste) Analiza ob času 0 in dve seriji po 6 alikvotov; hraniti pri sobni T in 4°C. Določitev krvne slike po 4-ih, 8-ih, 12-ih, 24-ih, 48-ih in 72-ih urah.	Grafični prikaz vrednosti posameznega parametra v odvisnosti od časa.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Krvno sliko je potrebno analizirati do 4 ure po odvzemu. Stabilnost zato določamo le v primeru, da jo analiziramo več kot 4 ure po odvzemu in za časovno obdobje, v katerem še izdajamo izvid.</li> <li>Največje spremembe so pri parametrih MCV in MPV ter diferencialni krvni sliki.</li> <li>Test stabilnosti opravimo vsaj za tisto temperaturo (sobna ali hladilnik), pri kateri rutinsko hranimo vzorce.</li> </ul>

<sup>§</sup>Vrednosti sta navedeni ločeno med serijama in v seriji, če se razlikujeta. Sicer sta enaki.

#### Splošna navodila:

- Pred začetkom rutinske uporabe moramo preveriti vsaj **natančnost in točnost**. Ostale lastnosti lahko določimo postopoma, ko na aparatu opravimo zadostno število analiz, da dobimo ustrezne podatke za statistično ovrednotenje.
- Iz postopka verifikacije je potrebno izločiti vse vzorce, pri katerih sumimo na odstopanja povezana s predanalitskimi dejavniki.
- Analiziramo vzorce krvi, odvzete s K<sub>2</sub>EDTA ali K<sub>3</sub>EDTA. V overjanje vključimo vse različne vsebnike, ki jih kasneje uporabljamo pri rutinski analizi, razen odvzemov kapilarne krvi, kjer zaradi omejene količine vzorca to ni mogoče.
- Pri analizatorjih, ki imajo ločene poti za ročni in avtomatski način, je potrebno natančnost določati ločeno vsaj pri 5-ih vzorcih.
- <sup>#</sup>Za doseganje ciljne občutljivosti in specifičnosti pri vrednotenju opozoril analizatorja je potrebno diferencirati 2x200 celic. Ker pa je ključno, da preverimo rutinsko uporabo analizatorja, je smiselno, da izvajamo diferenciranje kot pri rutinskem delu.
- \*Kot kriterij sprejemljivosti se lahko upošteva vrednost, podana s strani proizvajalca analizatorja.
- Predlagan je ožji nabor parametrov za overjanje. Priporočljivo je, da laboratorij overjanje razširi na vse parametre, ki jih vključuje izvid (tudi eritroblaste in retikulocite).

#### Literatura:

- Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int J Lab Hematol. 2016, 38:100-109.
- International Council for Standardization in Haematology, Writing Group, Briggs C, Culp N, Davis B, d'Onofrio G, Zini G, Machin SJ; International Council for Standardization of Haematology. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int J Lab Hematol. 2014, 36(6):613-27.
- Verbrugge SE, Huisman A. Verification and standardization of blood cell counters for routine clinical laboratory tests. Clin Lab Med 2015, 35(1):183-96.