

SEED Hematologia



Materiały kontroli jakości: im lepiej je traktujesz, tym bardziej możesz ufać wynikom hematologicznym

Istotną częścią zapewnienia jakości jest wewnętrzna kontrola jakości (IQC), która służy zapewnieniu codziennej spójności procesu analitycznego i pomaga ustalić, czy wyniki pacjenta są wystarczająco wiarygodne, aby można je wydać. Przeprowadzanie IQC umożliwia również monitorowanie i dokumentowanie jakości pracy laboratorium. W większości krajów wymagane jest wykonywanie IQC na podstawie przepisów krajowych.

Cztery główne cele przeprowadzania IQC:

1. Monitorowanie całości procesu analitycznego.
2. Natychmiastowe wykrycie błędów, które zdarzyły się z powodu
 - a) błędu systemu analitycznego,
 - b) niekorzystnych warunków środowiskowych lub
 - c) sposobu pracy operatora; na przykład procedury konserwacyjne przeprowadzane są w inny sposób z powodu zmiany operatora itp.
3. Długoterminowe monitorowanie wydajności testu, na którą mogą wpływać
 - a) zmiany w systemie analitycznym,
 - b) zmiany warunków środowiskowych i
 - c) zmienność między operatorami.
4. Aby zapewnić długoterminową jakość na odpowiednim poziomie i aby spełniać wymogi formalne.

IQC jest prowadzona poprzez analizowanie jednego lub więcej materiałów kontrolnych w systemie analitycznym, który powinien zostać sprawdzony. Materiały kontrolne przechodzą procedurę analityczną identyczną z procedurą stosowaną w przypadku próbek pobranych od pacjentów. Wyniki są nanoszone na wykresy kontrolne Levey-Jenningsa, które są interpretowane w określony sposób.

Brzmi prosto? Cóż, nie jest to całkiem proste. Istnieją czynniki, które wymagają starannego rozważenia, czy system IQC odpowiednio reprezentuje rutynowe procesy analityczne w laboratorium.

Wymagania dotyczące materiałów QC

Kontrole to materiały, które zawierają ustaloną ilość badanej substancji – analitu. Kontrole muszą być testowane w tym samym czasie i tak samo jak próbki pacjentów. Celem kontroli jest zeweryfikowanie wiarygodności systemu analitycznego oraz ocena działania operatora i warunków środowiskowych, które mogą mieć wpływ na wyniki. Wybranie odpowiednich materiałów kontrolnych jest bardzo ważne.

Najlepsze materiały do IQC są typowymi próbkami materiałów badanych rutynowo, zakładając, że są wystarczająco stabilne.

Tabela 1 zawiera listę zalecanych właściwości materiałów kontroli jakości zgodnie z zaleceniami Hong Kong Association of Medical Laboratories (Stowarzyszenie Laboratoriów Medycznych w Hong Kongu, HKAML) [1]. Należy również wziąć pod uwagę, że materiały kontrolne muszą różnić się od materiałów kalibracyjnych [2].

Tabela 1 Lista zalecanych właściwości materiałów QC

1. Powinien przypominać próbkę ludzką (krew, osocze, surowica, CSF itp.).
2. Poziom stężenia analitu powinien być istotny medycznie.
Powinien obejmować ważne klinicznie zakresy stężenia analitu.
3. Macierz tego materiału powinna jak najbardziej przypominać materiał ludzki.
4. Składniki powinny być stabilne przez długi czas.
5. Po otwarciu fiolki i przygotowaniu, materiał powinien być stabilny podczas całego okresu użytkowania.
6. Materiał kontrolny powinien być gotowy do użycia i powinien wymagać jedynie minimalnego przygotowania.
7. Można przygotować dogodne rozmiary porcji / fiolek, a zmienność między poszczególnymi fiolkami powinna być niska.
8. Powinny być rozsądnie wycenione (opcjonalnie).
9. Materiał kontrolny powinien być badany w taki sam sposób jak próbki pacjentów.

Materiał kontroli jakości Sysmex

Mając na uwadze wszystkie powyższe punkty, produkcja materiału do kontroli jakości dla hematologii staje się wyzwaniem porównywalnym do wytwarzania kontroli dla chemii klinicznej. Komórki natywne mają naturalnie bardzo ograniczoną żywotność, dlatego aby wydłużyć czas przeżycia komórki potrzebna jest skuteczna stabilizacja. Z tego powodu hematologiczny materiał kontroli jakości różni się od próbek świeżo pobranych od pacjentów. Oznacza to, że przy interpretacji wyników kontroli jakości należy szczególnie upewnić się, że materiał kontrolny został użyty prawidłowo.

Materiały kontrolne Sysmex zawierają stabilizowane ludzkie czerwone krwinki (RBC), białe krwinki (WBC), płytki krwi (PLT) i jądrowe krwinki czerwone (NRBC) oraz środek konserwujący. Nie zawierają żadnych sztucznych składników symulujących komórki, takich jak cząsteczki lateksu. Zwiększenie stabilności krwinek białych spowodowało, że nie ma możliwości ich mikroskopowego różnicowania w tym materiale. Oznacza to, że nie będą wybarwiać się w taki sposób, aby uwidocznili typową morfologię komórek zbarwionych barwieniem Grunwald-Giemsa. Co więcej przy wykorzystaniu odczynników z analizatora, liza i barwienie komórek stabilizowanych różni się nieznacznie w stosunku do świeżych komórek krwi. Powyższe różnice są powodem, dla którego analizator używa trybu kontroli jakości do przeprowadzenia i wyświetlania wyników pomiarów.

Materiały kontrolne Sysmex są gotowe do użycia. Wszystkie materiały kontrolne są dostarczane w fiolkach z wystarczającą ilością materiału do wykonywania kontroli w określonym czasie i są mierzone tak jak próbki pacjentów, przy użyciu tej samej zasady pomiaru.

Dla wszystkich diagnostycznych parametrów krwi pełnej Sysmex dostarcza kontrole w zakresie niskich, normalnych i wysokich wartości analitycznych, a dla sprawdzenia parametrów płynów z jam ciała dostępne są dwa poziomy kontroli.

Przy produkcji naszych hematologicznych materiałów kontrolnych, ufamy znanemu producentowi Streck, Inc. (Nebraska, USA), który jest rozpoznawany na całym świecie jako lider w dziedzinie stabilizacji komórek. Podstawową kompetencją firmy Streck jest rozwój materiałów kontroli jakości tak, aby były dostosowane do potrzeb klientów.

Transport, warunki przechowywania i okres przydatności do użycia

Hematologiczny materiał kontrolny Sysmex powinien być przechowywany w zamkniętej fiolce, w temperaturze 2–8°C. Krótkotrwały wzrost temperatury, który może wystąpić podczas transportu, nie ma wpływu na jakość produktu. Wszystkie hematologiczne materiały kontrolne należy chronić przed zamarzaniem. Podczas obsługi w określony sposób produkty mają gwarancję stabilności do daty ważności podanej na opakowaniu i fiolkach – zgodnie z opisem w Tabeli 2.

Podczas przechowywania i przygotowywania materiałów kontroli jakości ważne jest dokładne przestrzeganie instrukcji producenta dotyczących przechowywania i ogrzewania.

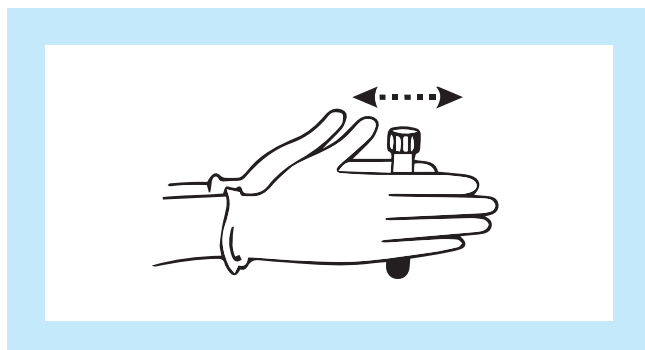
Tabela 2 Stabilność hematologicznych materiałów kontrolnych Sysmex

Materiał kontrolny	Okres użytkowania
Eightcheck-3WP	84 dni
e-Check (XS)	56 dni
e-Check (XE)	56 dni
XN-L Check	84 dni
XN Check	56 dni
XN Check BF	56 dni

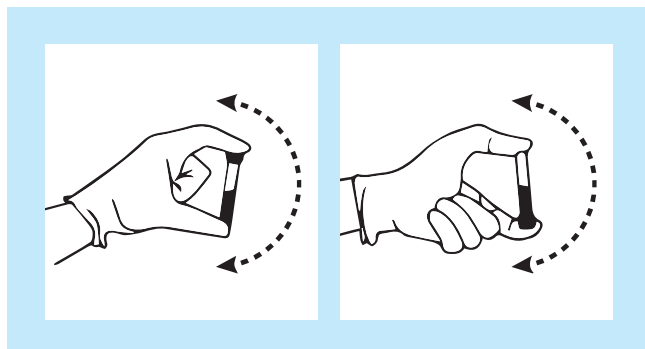
Przygotowanie materiału QC serii XN przed pomiarem

Podczas przechowywania i przygotowywania materiałów kontroli jakości ważne jest dokładne przestrzeganie instrukcji producenta dotyczących przechowywania i ogrzewania.

1. Przed użyciem wyciągnij fiolkę z lodówki i ogrzej w temperaturze pokojowej (15–30°C) przez przynajmniej 15 min.
2. Tocz fiolkę w dłoniach przez 15 sekund. (patrz Ryc. 1)
3. Trzymając fiolkę między kciukiem i palcem wskazującym, obróć ją 20 razy w obie strony, używając bardzo szybkich ruchów obrotowych nadgarstka podczas mieszania. Szczegóły możesz obejrzeć w nagraniu umieszczonym na CD-ROM lub USB dołączonym do każdego lotu QC (patrz Ryc. 2)
4. Przeanalizuj materiał kontrolny w trybie kontroli, zgodnie z Instrukcją obsługi analizatora. Nakłuwalna środkowa część zatyczki fiolki umożliwia analizę w zamkniętych probówkach.
5. Kolejne analizy tego samego materiału w ramach jednego oznaczenia można wykonywać odwracając fiolkę pięć razy przed umieszczeniem jej w urządzeniu.
6. Umieścić fiolkę z powrotem w lodówce (w temperaturze 2–8 °C).



Ryc. 1 Tocz fiolkę w dłoniach przez 15 sekund.



Ryc. 2 Obróć fiolkę 20 razy w obie strony, używając bardzo szybkich ruchów obrotowych nadgarstka podczas mieszania.

Film o metodzie mieszania fiolki materiału kontroli jakości znajduje się na stronie internetowej:

<http://www.sysmex-europe.com/media-center/sysmex-qc-material-preparation-26847.html>

Prosta procedura o szczególnym znaczeniu

Gdy wynik pomiaru QC wykracza poza wytyczone granice, należy zatrzymać badania i wstrzymać wydanie wyniku pacjenta oraz przeprowadzić analizę systemu. Wkrótce po zidentyfikowaniu źródeł błędów i dokonaniu poprawek, należy powtórzyć pomiar materiału kontrolnego. Jeśli wyniki tego pomiaru znajdują się w dopuszczalnych zakresach, wtedy próbki pacjentów (te z okresu od ostatniego poprawnego pomiaru QC do czasu, gdy błąd kontroli jakości został zauważony i rozwiązany), wraz z inną próbką kontroli jakości należy powtórzyć. Nie należy jedynie powtarzać badań bez szukania źródeł błędów i podejmowania działań korygujących.

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), możliwe problemy do rozważenia obejmują [3]:

- Degradacja odczynników lub zestawów
- Degradacja materiału kontrolnego
- Błąd operatora
- Postępowanie niezgodne z instrukcją producenta
- Przestarzałe procedury obsługi
- Błędy sprzętowe
- Błąd kalibracji

W hematologii obserwuje się, że większość problemów związanych z kontrolą jakości jest związanych z nieprawidłowym obchodzeniem się lub przechowywaniem materiału kontrolnego. Również stosowanie przeterminowanych materiałów kontrolnych lub fiolek z pozostałą bardzo małą ilością materiału prowadzi do błędnych wyników. Szczególnie kontrole hematologiczne zasługują na odpowiednie traktowanie przed pomiarem, gdyż zawierają komórki krwi, które muszą być równomiernie rozmieszczone w materiale przed pomiarem.

Poniżej pokazano kilka przykładów wyników, które były poza zakresem z powodu nieprawidłowego traktowania materiału QC. Można zaobserwować zmiany w wynikach liczbowych, w szczególności parametrów morfologii krwi (CBC) i retikulocytów. Sprawdzanie rozkładów komórek na histogramach i skatergramach mogą również pomóc ujawnić różnice w stosunku do wyników uzyskanych z prawidłowo przygotowanego materiału. Przykładowe wyniki pomiarów i obrazy skatergramów wszystkich poziomów kontrolnych można znaleźć na płycie CD-ROM lub pamięci USB, która zawsze jest dołączona do materiału QC do celów porównawczych.

Nieprawidłowe mieszanie i jego efekty

Identyfikacja problemów związanych z wymieszaniem próbki jest z reguły trudna, gdyż dotyczy jednocześnie intensywności i długości mieszania. Chociaż przyjrzymy się bliżej dwóm skrajnościom (niewystarczającemu versus nadmiernemu mieszaniu) zmieniającym wyniki WBC, RBC i PLT, które mogą być zniekształcone z powodu niewłaściwego mieszania.

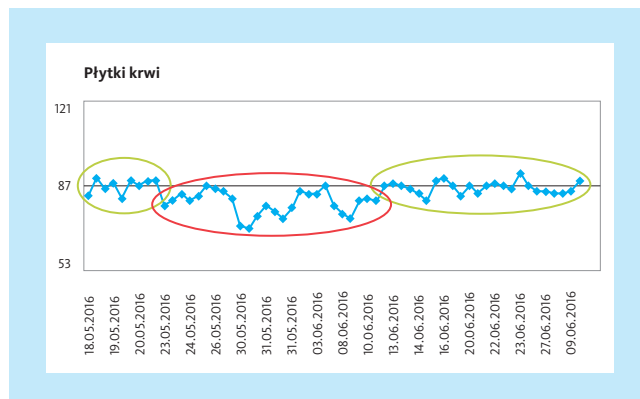
Nadmiernie mieszana próbka jest zazwyczaj trudniejsza do zidentyfikowania i występuje rzadziej. Jeśli próbka jest mieszana zbyt długo z dużą prędkością, można zaobserwować lekko podwyższone wartości WBC razem ze znacznie zwiększoną liczbą PLT. Nigdy nie mieszaj materiału hematologicznego QC na mieszadle automatycznym lub urządzeniu do mieszania!

Przeciwieństwem są próbki, które nie są wystarczająco mieszane. Można je zidentyfikować poprzez znacznie zwiększoną liczbę RBC i parametrów powiązanych (HGB, HCT) oraz zmniejszenie liczby WBC i PLT-I, szczególnie na poziomie 1 wraz ze zwiększonym współczynnikiem zmienności (CV). Tabela 3 porównuje wyniki nieprawidłowo mieszanych próbek QC.

Tabela 3 Wyniki nieprawidłowo mieszanych próbek QC

Nie mieszane	Nadmiernie mieszane
WBC ↓	WBC (↑)
RBC, HGB, HCT ↑↑	RBC, HGB, HCT nie zmienione znacząco
PLT-I (Level 1) ↓	PLT-I ↑↑
Aspiracja osadu, więcej krwinek czerwonych jest mierzonych, a liczba białych krwinek jest zmniejszona lub niedostępna.	Czerwone krwinki zostają zniszczone lub zmniejszone w wyniku czego wchodzi w obszar PLT, przez co są zliczane jako płytki.

Zastosowanie nieprawidłowej procedury mieszania prowadzi do zwiększenia wartości CV dla większości parametrów, jak pokazano na rycinie 3 i w tabeli 4. Przeprowadzono eksperyment wykazujący wpływ procedury mieszania na wyniki płytek krwi. Zastosowano dwie różne procedury mieszania. Do pomiarów fazy 1 i 3 (O) zastosowano prawidłową procedurę mieszania, podczas gdy w fazie 2 (O) materiał QC był słabiej mieszany, niż jest to opisane w ulotce dołączonej do opakowania. Wyniki płytek krwi były bardziej nieprecyzyjne i znacznie niższe niż średnia wartość pomiaru.



Ryc. 3 Wyniki eksperymentu przy użyciu kontroli XN Check Level 1 z dwoma różnymi procedurami mieszania

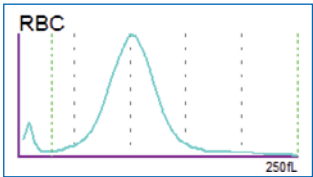
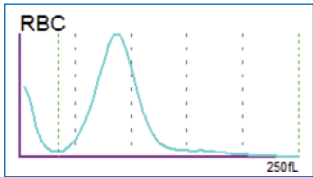
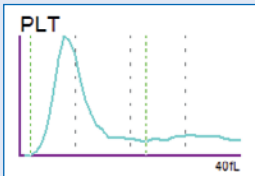
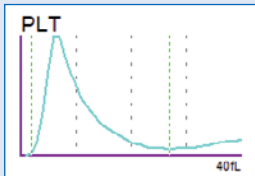
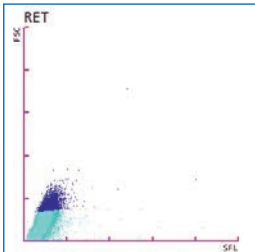
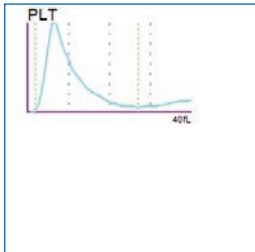
Tabela 4 Jakościowa analiza wyników eksperymentu

	Faza 1 (prawidłowe mieszanie)	Faza 2 (niewystarczające mieszanie)	Faza 3 (prawidłowe mieszanie)
Średnia wartość pomiaru dla płytek	87	87	87
Średnia	87,0	80,2	86,3
Odchylenie (%) od wartości średniej	0,0	-7,8	-0,8
Odchylenie standardowe (SD)	2,8	4,7	2,4
CV (%)	3,3	5,9	2,8

Wpływ nieprawidłowej temperatury na jakość materiału kontrolnego

Nie tylko mieszanie, ale również temperatura ma wpływ na wyniki uzyskane z materiałów kontroli jakości. Kontrole hematologiczne muszą być przechowywane w lodówce, ale mogą być używane tylko po ogrzaniu do temperatury pokojowej przez co najmniej 15 minut. Przechowywanie materiałów QC poniżej 2°C, nawet przez krótki czas, ma bezpośredni wpływ na komórki i powoduje hemolizę, jak pokazano w Tabeli 5. Hemolizę materiału QC można rozpoznać po zmianie koloru krwi znajdującej się w fiolce z czerwonego na brązowy, jak pokazano na ryc. 4.

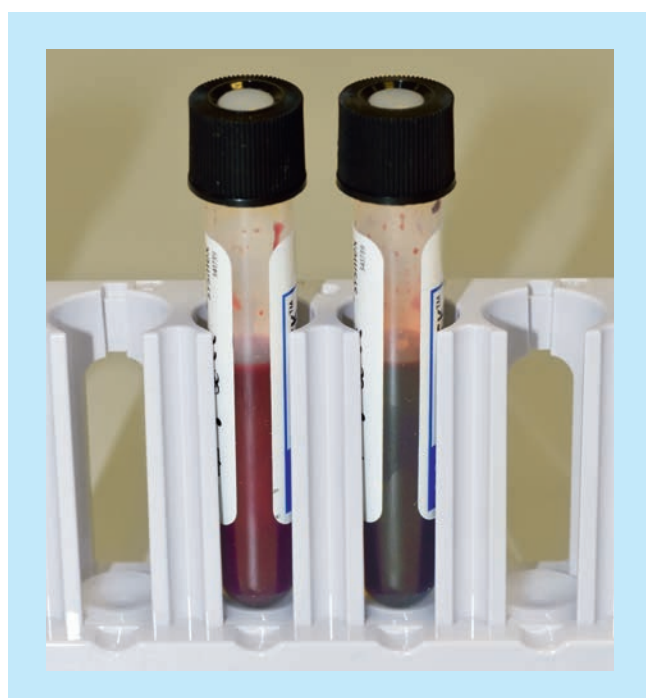
Tabela 5 Wyniki QC materiału przechowywanego w nieprawidłowej temperaturze

Zamrożona	Przegrzana
RBC ↓, MCV ↑, MCH ↑, RDW-SD ↑, RDW-CV ↑ 	HGB ↑, MCV (↑), MCH ↑ 
PDW, MPV (↑), P-LCR (↑), PCT ↑ Widoczna nieprawidłowa dystrybucja płytek 	PLT ↑↑↑ Brak nieprawidłowej dystrybucji płytek 
RET ↓↓↓↓, RET-H_e ↓↓↓↓, RBC-H_e ↓↓↓↓ 	RET ↓ 

Błona krwinek czerwonych zostaje uszkodzona podczas zamarzania, powoduje to hemolizę skutkującą obniżeniem i zakłóceniem parametrów czerwonych. Chociaż histogram PLT jest wyraźnie zaburzony przez fragmenty RBC, liczba PLT może nadal być w zakresie wartości referencyjnych. Parametr HGB pozostaje stabilny, ponieważ do pomiaru hemoglobiny krwinki czerwone muszą zostać poddane lizie. Pomiar retikulocytów jest całkowicie zaburzony, a wyniki RET-He i RBC-He są zdecydowanie zbyt niskie.

Ze względu na przegrzanie, białka obecne w próbce są denaturowane i są rozpoznawane przez analizator jako małe cząstki, wchodzące w pomiar płytek krwi. Dodatkowo wzrasta zmętnienie próbki, co również zaburza pomiar fotometryczny HGB.

Na skatergramie dla retikulocytów może być również obserwowana zwiększona ilość resztek. Cała populacja obniża się.



Ryc. 4 Porównanie próbki QC bez hemolizy (na lewo) z próbką QC z hemolizą (na prawo).

Wniosek – dlaczego należy się o to zatroszczyć

Małe rzeczy mogą mieć wielki wpływ. Tak jak procedura mieszania materiałów QC w hematologii! Jak zostało pokazane powyżej, ma to duży wpływ na wyniki pomiaru QC. Uszkodzenia, które pojawiają się w fiolce, nie odzwierciedlają nieprawidłowości analizatora ani konieczności jego kalibracji. Dlatego niezwykle istotne jest przechowywanie i postępowanie z materiałem kontroli jakości w sposób opisany przez producenta.

Głównym celem laboratorium jest zapewnienie wiarygodnego, terminowego i dokładnego wyniku badania pacjenta. Aby to osiągnąć, każdego dnia potrzebujesz ciągłego monitorowania i oceny wydajności laboratorium oraz - w przypadku niezgodności z procedurami - wdrożenia i kontynuacji działań korygujących. Złe podejście może prowadzić do zatwierdzenia nieprawidłowego wyniku pacjenta, potencjalnie wprowadzającego niepożądane scenariusze i w najgorszym przypadku konsekwencje prawne.

Źródła

- [1] **Phang R et al.** (2009): *A Practical Guide to Internal Quality Control (IQC) for Quantitative Tests in Medical Laboratories. Proposed Guidelines.*
- [2] **CLSI C24 – A3** (2006): *Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and definitions – Approved Guideline.*
- [3] **WHO Content Sheet 7 – 1:** *Overview of Quality Control for Quantitative Tests.* http://www.who.int/ihr/training/laboratory_quality/7_b_content_quant_qc.pdf