



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta
Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

**Verifikace základních parametrů krevního obrazu na
analyzátoru Sysmex XT 4000i a porovnání výsledků
pacientských vzorků s analyzátozem Sysmex XT 2000i
v akreditované laboratoři**

Vypracoval: Lenka Moučková

Vedoucí práce: RNDr. Zdeněk Tokár

České Budějovice 2014

Abstrakt

Centrální laboratoře Nemocnice Strakonice, a.s. jsou akreditovány podle ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost. Z této akreditace vyplývají požadavky na verifikaci a validaci metod. Výsledky validačních a verifikačních procesů slouží pro vyhodnocení nejistot měření a stanovení pro návaznost a porovnatelnost výsledků měření. Zavedení nového typu analyzátoru Sysmex XT-4000i v Centrálních laboratořích Nemocnice Strakonice, a.s. na úseku hematologie a krevního skladu vyžaduje verifikaci a validaci základních vyšetřovaných parametrů krevního obrazu na zaváděném hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i. Téma práce vychází z požadavků ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost a SOPO-C-06 Postup při validaci/verifikaci metody na zavádění hematologického analyzátoru vypracovaného laboratoří. Podle tohoto dokumentu byla provedena měření základních parametrů krevního obrazu a to leukocytů, erytrocytů, trombocytů, hemoglobinu, hematokritu a středního objemu erytrocytů. Měření těchto parametrů posloužilo pro vyhodnocení preciznosti za podmínek opakovatelnosti, preciznosti za podmínek reprodukovatelnosti a přesnosti. Pro vyhodnocení preciznosti za podmínek opakovatelnosti byly proměřeny parametry leukocyty, erytrocyty, trombocyty, hemoglobin, hematokrit a střední objem erytrocytů u dvaceti patientských vzorků ve dvou koncentračních hladinách.

Pro vyhodnocení preciznosti za podmínek reprodukovatelnosti byly proměřeny základní parametry krevního obrazu kontrolní materiály validované v procesu EHK. Jako kontrolní materiály byly použity referenční materiály e-check level 1 a e-check level 2 od výrobce Sysmex, které se pohybovali v rozmezí fyziologických hodnot. Během 20 dnů se provádělo měření těchto dvou referenčních materiálů a to každý den měřením v singletu. Tato měření byla podkladem pro výpočet základních statistických parametrů a pro výpočet variačního koeficientu opakovatelnosti a variačního koeficientu reprodukovatelnosti, ze kterých byl vypočten variační koeficient analytický. Pro zhodnocení metod zkoumaných parametrů s údaji udávanými výrobcem analyzátoru byl použit variační koeficient reprodukovatelnosti, neboť výrobce analyzátoru neudává variační koeficient opakovatelnosti. Pro účely odhadu pravdivosti byly proměřeny

základní parametry krevního obrazu u kontrolních materiálů od firmy SEKK, s.r.o., které se používají při měření výkonnostních parametrů. Měření pro účely pravdivosti posloužila pro výpočet základních statistických parametrů, z nichž byl vypočten bias, který posloužil pro výpočty celkové analytické chyby laboratoře a pro srovnání s celkovou maximální chybou doporučovanou firmou SEKK, s.r.o. v roce 2012.

Pro porovnání dvou hematologických analyzátorů Sysmex XT-2000i a zaváděného hematologického analyzátoru Sysmex XT-4000i byla použita Passing-Bablockova regresní analýza a to pro porovnání stávajícího a zaváděného analyzátoru a pro porovnání otevřeného a uzavřeného módu zaváděného analyzátoru Sysmex XT-4000i. Pro porovnání analyzátoru Sysmex XT-4000i s analyzátozem Sysmex XT-2000i, který byl považován za referenční, bylo proměřeno 40 patientských vzorků v uzavřeném módu. Pro porovnání otevřeného a uzavřeného módu hematologického analyzátoru Sysmex XT-4000i bylo proměřeno 168 patientských vzorků. Naměřené hodnoty u všech základních parametrů byly vyhodnoceny pomocí programu MedCalc. Studie ukázala, že přístroj Sysmex XT-4000i splňuje kriteria požadovaná ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost a SOPO-C-06 Postup při validaci/verifikaci metody Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a.s. úseku hematologie a krevního skladu. Porovnání nového hematologického analyzátoru Sysmex XT-4000i s používaným hematologickým analyzátozem Sysmex XT-2000i ukázalo, že oba analyzátory jsou srovnatelné.

Abstract

Central Laboratories of Strakonice Hospital, joint stock company, are accredited according to CSN EN ISO 15189 Medical laboratories - Particular requirements of quality and competence. Requirements of verification and validation of methods emerge from this accreditation. Results of validation and verification processes are used to evaluate the uncertainty of measurement and assessment for continuity and comparability of measurement results. Introduction of a new type of automated hematology analyzer Sysmex XT-4000i in Central laboratories in Strakonice Hospital, joint stock company, in the hematology and blood storage section, requires verification and validation of basic examined blood count parameters on hematology analyzer Sysmex XT-4000i. The theme of the work is based on the requirements of CSN EN ISO 15189 Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence and SOPO-C-06 Method validation/verification procedure for introducing laboratory hematology analyzer. Measurements of the basic parameters of blood count, namely leukocytes, erythrocytes, platelets, hemoglobin, hematocrit and mean corpuscular volume were done according to this document. Measurements of these parameters were used to evaluate a precision in terms of repeatability, precision in terms of reproducibility and accuracy. Parameters leukocytes, erythrocytes, platelets, hemoglobin, hematocrit and mean corpuscular volume were measured from twenty patient samples at two concentration levels to evaluate the precision in terms of repeatability.

Basic parameters of blood count validated in EHK process were measured to evaluate the precision in terms of reproducibility. Reference materials e-check level 1 and e-check level 2 from Sysmex manufacturer were used as hematology control materials which moved within the physiological range. Measurements of these two reference materials were carried out daily during 20 days in a singlet. These measurements were used as the basis to calculate basic statistical parameters, the variational coefficient of repeatability and the variational coefficient of reproducibility from which variational analytical coefficient was calculated. The variational coefficient of reproducibility was used to compare methods of investigated parameters to the data

specified by the manufacturer of the analyzer, as the manufacturer of the analyzer does not give the variational coefficient of repeatability. To estimate the validity, basic parameters of blood counts were measured to control materials from the company SEKK, Ltd. These materials are used to measure performance parameters. Validity measurements were used to calculate basic statistical parameters of which bias was calculated. It served to calculate the total analytical error of a laboratory and also it served to be compared to the total maximum error recommended by the company SEKK Ltd. in 2012.

Passing-Bablok regression analysis was used to compare hematology analyzer Sysmex XT-2000i and hematology analyzer Sysmex XT-4000i, namely to compare the existing and the introducing analyzer and to compare open and closed mode of the introducing analyzer Sysmex XT-4000i. To compare analyzer Sysmex XT-4000i and Sysmex XT-2000i, which was regarded as referential, 40 patient samples were measured in a closed mode. To compare open and closed modes of analyzer Sysmex XT-4000i, 168 patient samples were measured. The measured values of all basic parameters were evaluated using MedCalc programme. The study showed that the device Sysmex XT-4000i meets the criteria required by CSN EN ISO 15189 Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence and SOPO-C-06 Method validation/verification procedure for introducing laboratory hematology analyzer in Central laboratories Strakonice Hospital, Inc. section of hematology and blood storage. Comparison of the new hematology analyzer Sysmex XT-4000i to the current Sysmex XT-2000i showed that both analyzers are comparable.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 5. 5. 2014

.....

Lenka Moučková

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat především svému vedoucímu práce RNDr. Zdeňkovi Tokárovi za odbornou pomoc, čas a trpělivost, kterou mi věnoval při zpracování této bakalářské práce a svým kolegyním z úseku hematologie a krevního skladu Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a. s. za duševní podporu.

Dále děkuji svému manželovi a synovi za podporu a trpělivost.

Obsah

Úvod	11
1 Teoretická část	12
1.1 Tvorba a vývoj krevních buněk.....	12
1.2 Vývoj červených krvinek (erytropoéza).....	13
1.3 Vývoj bílých krvinek (leukocytopoéza).....	14
1.3.1 Granulopoéza.....	15
1.3.2 Monocytopoéza	16
1.3.3 Lymfocytopoeza	16
1.4 Vývoj trombocytů (trombocytopoéza)	17
1.5 Odběr vzorků – preanalytická fáze.....	18
1.5.1 Odběr žilní krve	19
1.5.2 Odběr krve z arteriálního katetru.....	20
1.5.3 Odběr kapilární krve.....	20
1.6 Krevní obraz	21
1.7 Principy měření parametrů krevního obrazu.....	23
1.7.1 Spektrofotometrie	23
1.7.2 Impedanční princip měření elementů (konduktometrie)	25
1.7.3 Průtoková cytometrie.....	26
1.8 Statistické charakteristiky	26
1.8.1 Aritmetický průměr	27
1.8.2 Směrodatná odchylka – SD	27
1.8.3 Variační koeficient – CV.....	27
1.9 Analytické vlastnosti metody	28
1.9.1 Pravdivost	28
1.9.2 Bias - vychýlení	28
1.9.3 Přesnost.....	28
1.9.4 Preciznost	29
1.10 Validace a verifikace metod.....	29
1.11 Hematologické analyzátory Sysmex řady XT.....	30
1.11.1 Hematologický analyzátor Sysmex XT 2000i.....	30

1.11.2	Hematologický analyzátor Sysmex XT 4000i	31
1.12	Porovnání dvou metod	33
1.12.1	Lineární regresní analýza	34
2	Hypotézy	35
3	Metodika	36
3.1	Preciznost za podmínek opakovatelnosti	36
3.2	Preciznost za podmínek reprodukovatelnosti.....	36
3.3	Pravdivost.....	37
3.4	Diagnostické soupravy	37
4	Výsledky	39
5	Diskuze	51
5.1	Verifikace	51
5.2	Porovnání hematologických analyzátorů Sysmex XT-2000i a Sysmex XT-4000i.....	53
5.3	Porovnání otevřeného a uzavřeného modu	56
6	Závěr	59
7	Literatura.....	60
8	Klíčová slova	64
9	Přílohy.....	65

Seznam použitých zkratk

CFU-GEMM	colony forming unit – granulocytes, erythrocytes, monocytes/macrophages, megakaryocytes
CFU	colony forming unit
IL	interleukiny
CSF	colony-stimulating factors
BFU-E	burst forming unit-erythropoiesis
CFU-E	colony forming unit-erythroid
EPO	erythropoetin
K3EDTA, K2EDTA	draselná sůl kyseliny etyléndiamintetraoctové
WBC	leukocyty
RBC	erytrocyty
HGB	hemoglobin
HCT	hematokrit
MCV	střední objem erytrocytu
PLT	trombocyty
MCH	množství hemoglobinu v erytrocytu
MCHC	průměrná koncentrace hemoglobinu v erytrocytu
RDW	distribuční šíře velikosti erytrocytů
PCT	trombocytární hematokrit
MPV	střední objem trombocytů
PDW	distribuční šíře velikosti trombocytů
NEU	neutrofilly
LYMPH	lymfocyty
MONO	monocyty
EO	eozinofily
BASO	bazofily
SLS	sodium lauryl sulfát

Úvod

S pokračujícím vývojem ve vědě a výzkumu se rozvíjí i laboratorní diagnostika, která se stala nedílnou součástí klinických oborů. V minulosti musel lékař čekat na některá vyšetření, například diferenciální rozpočet leukocytů apod., i několik dní. V současnosti se vyšetření krevního obrazu spolu se strojovým diferenciálním rozpočtem řadí mezi základní laboratorní vyšetření, které je možné provést do několika minut od odebrání vzorků. Laboratorní diagnostika parametrů krevního obrazu velmi pokročila. V praxi se už objevují analyzátory, které umožňují z jedné aspirace krve vyhodnotit více než 60 parametrů, které ale ještě nenašly uplatnění v klinické praxi. Hematologické analyzátory, používané v běžné praxi využívají dva základní principy analýzy a to impedanční a optický. Běžně přístroje využívají už i kombinaci těchto dvou principů.

Spolu s rozvojem laboratorních technik se zákonitě musí vyvíjet i kontrola kvality v hematologické laboratoři, které se v poslední době věnuje velká pozornost. Svědčí o tom i to, že mnohá doporučení odborné společnosti v této oblasti nejsou starší než 5 let. Nutnost standardizace práce do mnohých laboratoří zavedla požadovaná akreditace. Pokud laboratoře používají k měření větší počet analyzátorů, je potřeba mít všechny výstupy zajištěné dobrou kontrolou kvality měření a zajištěnou porovnatelnost výsledků mezi jednotlivými analyzátory.

Naše laboratoř je akreditovaná dle normy ISO 15189 od roku 2010 a při jejím zavádění bylo nutné vyřešit některé procesy, jako je například verifikace metod, na kterou v té době odborná hematologická společnost ještě nevydala odborné doporučení. Při svojí práci jsem proto čerpala z odborných doporučení klinické biochemie a řídila se Westgardovými pravidly.

1 Teoretická část

1.1 Tvorba a vývoj krevních buněk

Krvetvorba (hemopoéza) v období embryonálního vývoje je soustředěna do oblasti žloutkového vaku. Toto období se nazývá mezoblastové, které začíná 14-20. den embryonálního vývoje a trvá do 10. týdne nitroděložního života, zde se z embryonálních kmenových buněk diferencují buňky krvetvorby. Po 6. týdnu se začíná objevovat hemopoéza v mezenchymu mezi hepatocyty, ale i ve slezině. Toto období je hepatolienální období. Později, a to od 20. týdne nitroděložního života, se hemopoéza přesouvá do hlavního hemopoetického orgánu, tedy do kostní dřeně. [1]

Základem krvetvorby je pluripotentní kmenová buňka, která je totipotentní z pohledu hemopoézy. V kostní dřeni se udržuje stálá zásoba kmenových buněk, jejich asymetrickým dělením v jednu identickou kmenovou buňku (self renewal) a buňku s další diferenciací (committed cell). Pluripotentní kmenová buňka se diferencuje do multipotentních kmenových buněk pro jednotlivé řady. Rozlišujeme multipotentní kmenovou buňku CFU-GEMM (colony forming unit – granulocytes, erythrocytes, monocytes/macrophages, megakaryocytes) a lymfoidní progenitor, který dává vznik pro lymfocyty řady B, T a NK cells (natural killer).

Z CFU-GEMM vznikají zralejší kmenové buňky:

- CFU-GM progenitor granulocyto-makrofágový, který se diferencuje do
 - CFU-G granulocytový progenitor, který dává vznik neutrofilům a dále se diferencuje do prekurzorů jednotlivých řad - CFU-Eo, CFU-Ba a CFU-Mast
 - CFU-M monocytový progenitor, který dává vznik monocytů a makrofágům
- E/Meg progenitor, dává vznik erytrocytární a megakaryocytární řadě
 - BFU-E (burst forming unit erythroid) méně vyzrálý progenitor červené řady
 - CFU-E erytroidní progenitor vyzrálější buňka červené řady
 - BFU-Meg méně vyzrálý progenitor megakaryocytární řady
 - CFU-Meg megakaryocytární progenitor vyzrálější buňka červené řady

Hemopoéza je kontrolována řadou cytokynů jako jsou interleukiny (IL), CSF (colony-stimulating factors) a hemopoetické mikroprostředí. [2]

Prekursorové buňky nalézáme v kostní dřeni a převážně nejsou morfologicky rozeznatelné. Zralé efektorové buňky, konečná stadia jednotlivých řad běžně nalézáme v obvodové krvi. [3]

1.2 Vývoj červených krvinek (erytropoéza)

Prvním morfologicky rozeznatelným vývojovým stádiem erytropoezy je proerytoblast, který se v periferní krvi nevyskytuje. Proerytoblasty jsou vyplavovány do periferní krve za patologických stavů a to za velké ztráty krve, akutní a chronické hemoblastózy, vystupňované hemolýzy, metastázy do kostní dřeni. [4]

Vyzrávání pokračuje přes erytoblasty, bazofilní, polychromatofilní a oxyfilní, k retikulocytům, což jsou bezjaderné buňky s nepravidelným tvarem, které vznikly vypuzením nebo fragmentací jádra a s možností aktivního pohybu pro přechod přes endoteliální póry dřevných sinusoid do periferní krve a jsou větší než erytrocyty. Retikulocyty vyzrávají během 48 hodin na erytrocyty. Velikost retikulocytu je 7 – 9 μm a mají o 20% větší objem než normální erytrocyty (normocyty). Retikulocyt je přechodná buňka mezi jaderným erytoblastem a zralým erytrocytem. [3]

Erytrocyty jsou bezjaderné buňky bikonkávního tvaru o průměru 7 μm . Jejich vysoký poměr povrch/ objem má význam při přenosu kyslíku do tkání. Zralý erytrocyt přežívá v krvi přibližně 110 – 120 dní a po této době je erytrocyt již velmi mechanicky opotřebovaný a také je vyčerpán jeho enzymatický systém, který je důležitý pro jeho správný metabolismus. [5]

Hlavním regulačním proteinem erytropoézy je erythropoetin (EPO) produkovaný ledvinami. Další nezbytností pro erytropoézu jsou aminokyseliny, vitaminy B₁₂, B₆, kyselina listová, železo a stopové prvky. Železo je biogenní prvek vyskytující v organismu v nejvyšším množství a největší podíl celkového množství obsahuje hemoglobin. [2]

Hemoglobin je metaloprotein s molekulovou hmotností 64 600 Da, skládá se z bílkovinné části globinu (96%) a hemu (4%). Vyskytuje se ve formě tetrameru. Hem

je tvořen tetrapyrolovými jádry v podobě protoporfyrinu IX, který má ve svém středu vázané dvoumocné železo. Hlavní funkcí hemu je přenos kyslíku, vyskytuje se v myoglobinu, cytochromech a peroxidázách, stimuluje syntézu globinových řetězců a jiných proteinů. Rozlišujeme několik základních typů globinových řetězců, a to α , β , γ , δ a ϵ , které se liší svojí primární strukturou. Lidský hemoglobin se skládá z dvou řetězců α a zbylé dva řetězce jsou dle typu hemoglobinu:

- HbA₁ tvoří 2 řetězce α + 2 řetězce β (asi 97% celkového hemoglobinu u dospělého člověka)
- HbA₂ tvoří 2 řetězce α + 2 řetězce δ (1,5 - 3,5% celkového hemoglobinu u dospělého člověka)
- HbF (fetální hemoglobin) tvoří 2 řetězce α + 2 řetězce γ (hlavní hemoglobin plodu a novorozence, po porodu klesá do 6. měsíce pod 2%)
- embryonální hemoglobin (Gower) tvoří 2 řetězce α + 2 řetězce ϵ (první hemoglobin vznikající v embryu)

Hemoglobin tvoří 90% váhy erytrocytu. [6]

1.3 Vývoj bílých krvinek (leukocytopoéza)

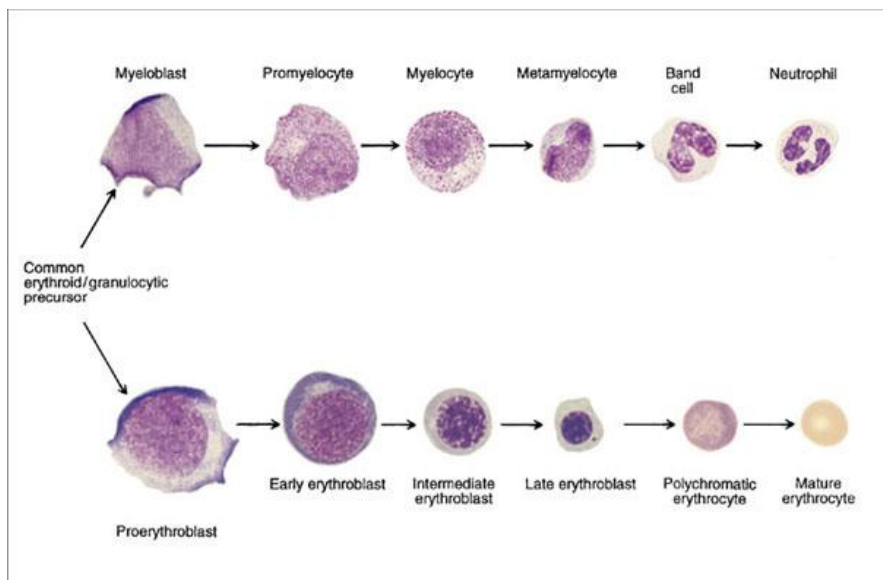
Leukocyty neboli bílé krvinky se účastní obranných a metabolických pochodů v organismu. Podle granul obsažených v cytoplazmě a tvaru jádra se dělí na:

- granulocyty neboli polymorfonukleární leukocyty které podle zbarvení granul při panoptickém barvení rozlišujeme:
 - *Neutrofilní* (lat. neuter = ani takový, ani jiný, řec. filein=milovat) pohlcují a ničí bakterie
 - *Eozinofilní* (eozín – červené barvivo) narušují větší parazity a účastní se zánětlivých reakcí
 - *Bazofilní* (báze – zásada, barvivo zásadité povahy) uvolňují ze sekrečních granulí histamin a serotonin
- agranulocyty neboli mononukleární leukocyty, které dělíme na:
 - *Lymfocyty*, zajišťují imunitní odpovědi organismu

- *Monocyty*, ve tkáních se transformují v makrofágy. [3]

1.3.1 Granulopoéza

První morfologicky rozeznatelné stadium granulopoézy je myeloblast, který se postupně diferencuje v promyelocyt, myelocyty, metamyelocyty, granulocyty nesegmentované (tyče) a segmentované granulocyty (neutrofilní segmenty (neutrofilny), eozifilní segmenty (eozinofily) a bazofilní segmenty (bazofily)).



Obrázek 1: Erytropoeza, granulopeza Převzato z [7]

Cytoplazma mladších buněk granulopoézy obsahuje primární azurofilní granula, která jsou postupně nahrazována sekundárními granuly specifickými pro typ granulocytů - neutrofilní, eozinofilní a bazofilní. Azurofilní granulace je jasně až tmavě červená a je již patrná v zralejších myeloblastech, ale hlavně v promyelocytech. Od stadia myelocytů nastává její úbytek, ale naproti tomu se objevuje granulace sekundární a přetrvává i ve zralých efektorových buňkách periferní krve. Neutrofilní granula jsou nenápadná růžovofialové až tmavě fialové barvy, eozinofilní granula jsou oranžově

červená granula a bazofilní granula jsou vždy větší než neutrofilní granula, jsou fialová a u většiny zralých buněk překrývají většinu cytoplazmy a jádra.

Za fyziologických podmínek se do obvodové krve dostávají granulocyty se segmentovaným jádrem a jen v malé míře granulocyty s nesegmentovaným jádrem – tyče. [3]

1.3.2 Monocytopoéza

První morfologicky rozeznatelnou buňkou monocytopoéza je monoblast, i když ve světelném mikroskopu je velmi těžké ho odlišit od myeloblastu. Monoblast je velká buňka kolem 20 µm buňka ze které vzniká promonocyt, který je už morfologický podobný monocytu, ale má méně vyztřálý jaderný chromatin (retikulární) s ledvinovým, nebo různě zařezaným (cerebriformním) jádrem, někdy s patrným jadérkem a bazofilnější cytoplazmou. Z promonocytu vzniká monocyt, který ale není konečným vývojovým stádiem monocytopoézy, ale základem další diferenciaci odehrávající se ve tkáních. Zralé monocyty mají krouřově šedou cytoplazmu s jemným popraškem azurofilní granulace a v cytoplazmě můžou obsahovat vakuoly. Jádro je většinou nepravidelné, ledvinovité až s náznakem segmentace, neobsahuje jadérko. [8, 2]

1.3.3 Lymfocytopoéza

Lymfocytární řada se diferenciuje z lymfoidní kmenové buňky v první morfologicky rozeznatelné stádium – lymfoblast. Lymfoblast je zpravidla menší než myeloblast a má úzký lem cytoplazmy. Dalším vývojovým stádiem je prolymfocyt, který ještě obsahuje jadérko a ten zraje v lymfocyt. Pro vývoj lymfocytů jsou zásadní primární lymfatické orgány, kostní dřeň a thymus, a sekundární lymfatické orgány, lymfatické uzliny a slezina. [8, 2]

Z imunologického pohledu rozlišujeme B, T a NK (non-B a non-T) lymfocyty. Označení T lymfocyty pochází od thymu, v němž se diferenciují. Označení B lymfocyty pochází od Fabriciovy burzy u ptáků, u savců není vyvinuta, podobným orgánem jsou

peyerovy plaky. Diferenciace B lymfocytů probíhá prvotně v kostní dřeni. Kostní dřeň a thymus jsou primárními lymfopoetickými orgány, z nich lymfoidní buňky migrují do sekundárních lymfatických tkání a orgánů.

Lymfocyty se účastní imunitních reakcí, rozlišujeme:

- T-lymfocyty, které představují 70% ze všech lymfocytů, vznikají v kostní dřeni a dozrávají v thymu (brzlíku), podle funkce a fenotypických znaků na svém povrchu se rozdělují na:
 - CD8 supresorové – specificky tlumí funkci jiných lymfocytů, mají regulační funkci a tlumí obranné reakce
 - CD8 cytotoxické – zabíječské buňky usmrcují cílové buňky
 - CD4 pomocné (helper) buňky - pomáhají B-lymfocytům při tvorbě protilátek (pomocné Th-buňky – CD4+, Th = helper).
- B-lymfocyty, které představují 25% lymfocytů v periferní krvi, dozrávají v kostní dřeni po aktivaci cizorodou látkou (např. bakterií, virem) se množí a mění se na plazmatické buňky, které tvoří a uvolňují protilátky – imunoglobuliny. Plazmatické buňky vytvářejí paměťové buňky, které urychlují protilátkovou imunitní odpověď při příštím setkání se stejným antigenem charakteristickým imunofenotypickým znakem plazmatických buněk je CD38. [5]
- NK buňky (non-T- a non-B-lymfocyty), které jsou přirození zabíječi, v periferní krvi představují 5%, cytotoxické účinky na buňky infikované virem nebo nádorově změněné buňky.

1.4 Vývoj trombocytů (trombocytopoéza)

Vývoj trombocytů, megakaryocytární linie, pochází z kmenové buňky BFU-Meg v CFU-Meg, která se diferencuje v promegakaryoblasty, dále v megakaryoblasty, promegakaryocyty, nezralé a v zralé megakaryocyty. Odštěpováním cytoplazmy během zrání megakaryocytů vznikají trombocyty. Megakaryocyty se již nedělí, pouze vyzrávají. Megakaryopoéza trvá zhruba 8-10 dní. [2]

Trombocyty jsou bezjaderné částice o průměru 2 – 4 μm , které vznikají z megakaryocytu. Podněcují srážení krve a pomáhají zacelovat defekty v krevních cévách, čímž zabraňují ztrátám krve. [9]

1.5 Odběr vzorků – preanalytická fáze

V případě komplexního odběru krve pro hematologická, biochemická a jiná vyšetření se odběr provádí ráno na lačno. Pacient by měl den před odběrem vynechat tučná jídla, nejméně 12 hodin před odběrem nejíst, nepít slazené nápoje, nekonzumovat alkoholické nápoje a nekouřit. V případě odběru na hematologická vyšetření není nutné tak přísné dodržování dietních opatření.

Výsledky měření mohou být ovlivněny mnoha fyziologickými i nefyziologickými faktory, které se mohou vyskytnout při odběru a manipulaci s biologickým materiálem. Je vždy důležité pamatovat, že odběr krve by se měl provádět vsedě nebo vleže u relaxovaného pacienta. Při změně polohy vleže do vzpřímené polohy dochází ke změnám tlaku v kapilárním systému a v koloidním osmotickém tlaku v plazmě.

Z důvodu bezpečnosti jak pacienta, odběrové sestry, tak pracovníků laboratoře se používají výhradně jednorázové prostředky a doporučené dezinfekční prostředky.

Antikoagulanty používané v odběrových systémech pro hematologická vyšetření:

- chelatonát trojdraselný a dvojdraselný (K_3EDTA a K_2EDTA) vyvazuje Ca^{2+} a tím udržuje krev nebo plazmu v nesrážlivém stavu. Rozdíly mezi oběma látkami spočívají v pH, rozpustnosti a ve fyziologickém působení na krvinky. K_2EDTA doporučil Mezinárodní výbor pro standardizaci v hematologii jako nejvhodnější antikoagulant v hematologii pro zjišťování změn velikosti a počítání buněk.
- citrát sodný (sodná sůl kyseliny citronové) Ca^{2+} mají vyšší afinitu k citrátovému iontu než Na^+
- heparin se používá v případě plastových jednorázových zkumavek lyofilizovaný heparin nebo roztok heparinu. Ovšem heparin a jeho soli nejsou vhodné pro

stanovení trombocytů, protože v jeho přítomnosti dochází k adhezi trombocytů ke stěně odběrové zkumavky.

Odběrové systémy:

- vakuové - v odběrové zkumavce je vyčerpán vzduch a po spojení zkumavky s jehlou, která je zavedená do žíly dojde k nasátí krve do zkumavky.
- pístové - zkumavka má ve vnitřní části pohyblivý píst, který umožňuje naplnění; tento odběrový systém může pracovat v pístovém i ve vakuovém systému.

Odběrové systémy se liší podle toho, zda je záměrem odebrat žilní krev, kapilární či arteriální krev. V hematologické laboratoři se vyšetřuje žilní a kapilární krev. [10]

1.5.1 Odběr žilní krve

Odběr je možno provádět v poloze vsedě nebo vleže ze žíly v paži. Paže je volně položená na opěrce odběrového křesla a odběrový pracovník zaškrtní paži zaškrcovadlem 10 – 15 cm nad loketní jamkou. Provede dezinfekci místa vpichu dezinfekčním prostředkem. Z důvodu zabránění kontaminace při odběru nebo hemolýze je nutné nechat kůži oschnout. K odběru se nejčastěji používá uzavřený vakuový systém. Palcem pod místem vpichu se stabilizuje poloha žíly a odběrový pracovník provede vpich. Poté nasadí zkumavku, je nutné dbát na to, aby nedošlo k pohybu jehly v žíle. Jakmile krev začne proudit do zkumavky, musí se odstranit zaškrcovadlo. Při odběru více zkumavek je potřeba zachovat pořadí odběru:

- zkumavka pro hemokultury
- zkumavka bez protisrážlivých činidel
- zkumavka pro hemokoagulační vyšetření
- zkumavka s protisrážlivými činidly

Bezprostředně po naplnění je nutné krev promíchat opakovaným otáčením zkumavky (5-10 krát). Místo vpichu i s jehlou se zakryje čtvercem z buničiny, potřeba opatrně zatlačit a pomalu vytáhnout jehlu. Poté se ošetří odběrové místo náplastí, pacientovi se doporučí tisknout přesně místo vpichu 2 minuty a ponechat náplast alespoň 15 minut po

odběru. Zároveň se pacientovi doporučí, aby po odběru z důvodu případné nevolnosti vyčkal cca 5 minut v klidu v čekárně. [11]

1.5.2 Odběr krve z arteriálního katetru

- jedná se o speciální odběr, který se provádí za použití různých kanyl zavedených přímo do arterie. Ústí kanyly se ošetří fyziologickým roztokem s přídavkem heparinu. Při odběru z kanyly je nutné vždy odpustit 1-2 násobek krve odpovídající objemu tekutiny v hadičce kanyly (2-4 ml) z důvodu zabránění neředění krevního vzorku.

Před odběrem je potřeba provést dezinfekci kůže (2 x) v místě implantovaného katetru. Odebere se potřebné množství krve na laboratorní vyšetření a po ukončení odběru se propláchne opět fyziologickým roztokem. Poté se ještě musí aplikovat heparinová zátka a přiloží se sterilní krytí. [10]

1.5.3 Odběr kapilární krve

Odběr se provádí na vyšetření krevního obrazu, glukózy, glykovaného hemoglobinu a acidobazické rovnováhy a provádí z prstu v poloze vsedě. Místem vpichu obvykle střední palmární část distální falangy prstu ruky, kterou pacient nepíše. Provedeme dezinfekci

a necháme oschnout. Vpich se provádí různými druhy lancetek a to hrotové nebo řezné, které umožňují standardní vpich.

Hloubka vpichu nemá být větší než 2 mm, aby nedošlo k poškození hlubších podkožních struktur, při opakujících se punkcích je nutné vybírat různá místa vpichu. Odběr se musí uskutečňovat z dokonale prokrvených míst. Před vpichem je nutno kůži dokonale osušit a po vpichu se první kapka krve setře čtverečkem z buničiny, pak se konec kapiláry ponoří do další tvořící se kapky a krev se nasává kapilární silou. Je nutné se při odběru vyhnout násilnému vytlačování krve z prstu, aby nedocházelo ke

kontaminaci krve neurčitým množstvím tkáňového moku a odebraná krev by neměla obsahovat vzduchové bubliny.

U kapilár, jejichž vnitřní strany jsou pokryty vysušeným antikoagulačním prostředkem (většinou heparinem), je zvláště důležité, aby ihned po odběru následovalo uzavření jednoho konce kapiláry čepičkou, vložení ocelového drátku, uzavření druhého konce čepičkou a pak pečlivé promíchání krve a antikoagulačního prostředku pomocí magnetu. Pokud dojde k delší časové prodlevě, mohlo by dojít k vysrážení krve v kapiláře, potom nelze provést vyšetření. [10]

1.6 Krevní obraz

Vyšetření kompletního krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů je v dnešní době prováděno v hematologických laboratořích plně automatizovanými analyzátory. Ordinující lékař nejčastěji vyžaduje:

- **základní krevní obraz**, který obsahuje následující parametry:
 - WBC (white blood cells) – leukocyty, jednotky [$10^9/l$]
 - RBC (red blood cells) – erytrocyty, jednotky [$10^{12}/l$]
 - HGB – hemoglobin [g/l]
 - HCT – hematokrit udává poměr objemu erytrocytů, který zauímají k celkovému objemu krve. Parametr zjišťovaný pomocí hematologického analyzátoru jako integrál impulsů nebo pomocí vynásobení. Jednotky [g/l]

$$\text{Hct} = \text{RBC} \times \text{MCV}$$

- PLT (platelets) – trombocyty, jednotky [$10^9/l$]
- MCV (mean cell/corpuscular volume) – střední objem erytrocytů - průměrný objem erytrocytu v hodnocených erytrocytech zjišťovaný buď přímým měřením na analyzátoch nebo výpočtem, jednotky [fl]. Histogram erytrocytů podle MCV udává závislost MCV (středního objemu erytrocytů) na četnosti erytrocytů. [8]

$$\text{MCV} = \text{Hct (hematokrit)}/\text{RBC}$$

- MCH (mean cell/corpuscular hemoglobin) – průměrné množství hemoglobinu v erytrocytu, jednotky [pg]
 - MCHC (mean cell/corpuscular hemoglobin concentration) – průměrná koncentrace hemoglobinu v erytrocytu, jednotky [g/l]
 - RDW (red cell distribution width) – distribuční šíře velikosti erytrocytů informuje o šíři nejčetnějších populací erytrocytů v histogramu četnosti RBC v závislosti na MCV, jednotky [%CV]. [8]
 - PCT (plateletcrit) – trombocytární hematokrit
 - MPV (mean platelet volume) – střední objem trombocytů - veličina měřená, vyjadřuje průměrný objem buňky v měřených trombocytech, jednotky [fl].
Histogram distribuce podle MPV se zjišťuje v hematologických analyzátoch krevních buněk ze středního objemu trombocytů (MPV) na četnost trombocytů.
 - PDW (platelet distribution width) – distribuční šíře velikosti trombocytů - šíře histogramu distribuce trombocytů dle MPV. Jednotky[fl,%]. [8]
- **krevní obraz + diferenciální rozpočet leukocytů (KO+DIF)**, který kromě výše uvedených parametrů obsahuje:
 - neutrofilů (NEU)
 - lymfocyty (LYMPH)
 - monocyty (MONO)
 - eozinofily (EO)
 - bazofily (BASO)

Morfologický typ leukocytů a jejich počet se stanovuje kombinací metod a to impedančním měřením počet a průtokovou fluorescenční cytometrií. Stanovení diferenciálních rozpočtů na hematologických analyzátoch je elektronické hodnocení leukocytů.

Vyšetření krevního obrazu je komplexní soubor výsledků úzce spolu související a odráží kvalitativní, ale i kvantitativní přítomnost krevních elementů. [8]

1.7 Principy měření parametrů krevního obrazu

Vyšetření parametrů krevního obrazu se v současné době provádí plně automatickými analyzátory, které pracují na principech měření impedanční analýzy nebo principech optické analýzy. Kombinací těchto principů v hematologických analyzátorech získáváme kvantitativní a kvalitativní analýzu buněk. Každé stanovení mohou ovlivnit interference, čímž se rozumí složky vzorku krve, bránící přesnému stanovení měřených parametrů, ale zároveň mohou ovlivnit hodnoty výpočtových parametrů.

1.7.1 Spektrofotometrie

Absorpční spektrofotometrie je optická metoda využívající interakci světelného záření s analyzovaným vzorkem při určité vlnové délce. Slouží ke stanovení koncentrace látek. Intenzita světelného záření klesá při průchodu absorpčním prostředím exponenciálně v závislosti na koncentraci a délce vrstvy absorbující látky. Vztah mezi množstvím světla, koncentrací absorbující látky a délkou vrstvy definuje Lambertův-Beerův zákon:

$$I=I_0 \cdot 10^{-\varepsilon \cdot l \cdot c}$$

ε - molární absorpční koeficient
 l - délka vrstvy kyvety
 c - koncentrace [mmol/l]

Nejčastěji využívané matematické vyjádření závislosti absorbance při určité vlnové délce na koncentraci c a tloušťce vrstvy l .

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot l \cdot c$$

ε_λ - molární absorpční koeficient
 l - délka vrstvy kyvety
 c - koncentrace [mmol/l] [12]

Metoda absorpční spektrofotometrie slouží v hematologických laboratořích ke stanovení hemoglobinu. Používá se reagentie, která hemolyzuje erythrocyty a uvolněný hemoglobin z erythrocytů je převeden na chromogen a ten je měřen při vlnové délce. [2] V praxi se uplatňují tři základní principy:

- kyanmethemoglobinová metoda, kde k ředěnému vzorku krve se přidá lyzační činidlo, které naruší buněčnou stěnu erythrocytů a uvolní hemoglobin. V dalším kroku se ferrikyanidem oxiduje Fe^{II} na Fe^{III} , hemoglobin přechází v methemoglobin (hemoglobin), který vytváří barevně stabilní komplex s kyanidem. Koncentrace se odečítá fotometricky při 540nm. Nevýhodou této metody je poměrně pomalá konverze hemoglobinu a toxicita odpadu. Jedná se o referenční metodu doporučenou Mezinárodním výborem pro standardizaci v hematologii (ICSH), ovšem tato metoda není vhodná pro automatické měření v důsledku používání jedovaté kyanidové sloučeniny, z důvodu ochrany životního prostředí pro svůj jedovatý odpad z tohoto stanovení.
- oxyhemoglobinová metoda, poměrně rychlá, protože konverze hemoglobinu na oxyhemoglobin je rychlá, ale nevýhodou je že nestanovuje methemoglobin. To je nedostatek u pacientů s vyšším obsahem methemoglobinu v krvi a u kontrolních vzorků. U oxyhemoglobinové metody již nejsou používány jedovaté sloučeniny. [13]
- Metoda SLS-hemoglobinu využívá schopnost hydrofobní části molekuly SLS vázat se na globinovou část hemoglobinu, což vyvolá konformační změny v celé molekule a dojde k oxidaci Fe^{II} na Fe^{III} . Poté hydrofilní část molekul SLS reaguje s Fe^{III} a vytvoří se stabilní barevný komplex. Tato metoda využívá výhod kyanmethemoglobinové metody a oxyhemoglobinové metody. Stejně jako u oxyhemoglobinové metody je rychlost konverze hemoglobinu velká a metoda nevyužívá jedovaté sloučeniny, což z ní činí vhodnou metodu pro automatické zpracování. Výhoda oproti oxyhemoglobinové metodě je, že je možné analyzovat methemoglobin. [13]

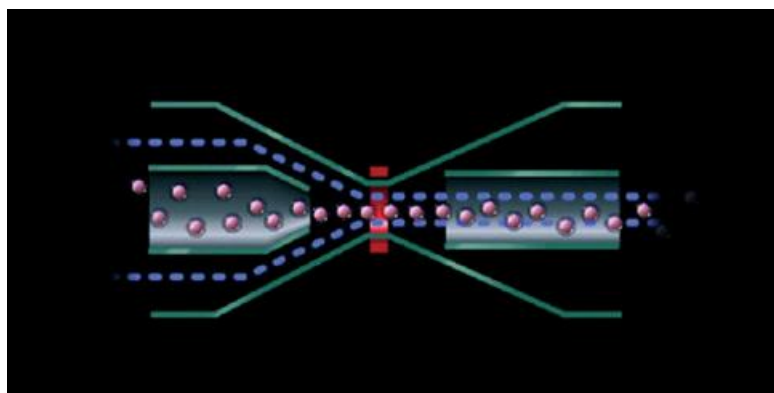
Interference při stanovení hemoglobinu:

- leukocytóza
- lipémie

- abnormální protein. [13]

1.7.2 Impedanční princip měření elementů (konduktometrie)

Princip impedančního měření je založený na změně elektrického odporu (impedance) při průchodu buněk průtokovou kyvetou (apertura) umístěnou mezi dvěma elektrodami. Počty buněk jsou měřeny na základě počtů impulzů a velikost buněk jako velikost impulzu. Buňky jsou unášeny proudem kapaliny ve vodivém roztoku nejčastěji metodou hydrodynamické fokusace, která zajišťuje průchod krvinek přes aperturu v řadě a tím dochází k zamezení tvorby abnormálních impulzů, čím se zlepšuje správnost a reprodukovatelnost analytického stanovení počtu krvinek. Nevýhodou impedančního měření je, že jsou měřeny všechny částice, tedy i vzduchové bubliny nebo vzduchové bubliny. [8]



Obrázek 2: Princip hydrodynamické fokusace – naředěný vzorek je vytlačen tryskou do kónické komory, zde je obklopen vodivým roztokem. Vzorek po průchodu středem apertury je odeslán do zachycovací hadičky, čímž se zabrání zpětnému průchodu. Buňky procházejí v řadě a tím jsou eliminovány abnormální impulzy. Převzato z [14]

Impedanční metodou se stanovují parametry: počet leukocytů, erytrocytů a trombocytů. Kromě počtu impulzů se analyzují i jejich velikost, čím dostáváme informace o procházející buňce (velikost) – kvantitativní měření.

V hematologickém analyzátoru krevních buněk je analyzovaná krev rozdělena do dvou cest, kdy v jedné se měří erytrocyty a trombocyty a ve druhé po přidání lyzačního činidla leukocyty a hemoglobin. [10]

1.7.3 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie je optická analýza založená na principu hydrodynamické fokusace detekující rozptýlené světlo po průchodu buňky laserovým paprskem. V průtokové cytometrii procházejí buňky průtokovou kyvetou, přičemž každá procházející buňka detekována laserovým paprskem.

- prošlé světlo, které udává hodnoty o počtu prošlých buněk
- rozptýlené světlo, v různých detekčních úhlech.

Analýza rozptýleného světla bývá u některých analyzátorů doplněna cytochemickým resp. florescenčním barvením buněk, pak udává počet buněk, velikost, tvar, jádra a granularitu cytoplazmy. [2]

Pomocí speciálních softwarových programů je pak možné rozlišit jednotlivé populace leukocytů do scattergramů, což jsou plošné bodové grafy rozlišených leukocytů podle velikosti, komplexity jádra, granulace cytoplazmy, popřípadě doplňujícího barvení na neutrofilů, bazofilů, eozinofilů, monocytů a lymfocytů. Optickou metodou lze také měřit počty erytrocytů a trombocytů na některých analyzátorech krevních buněk. [10]

1.8 Statistické charakteristiky

Každá analytická metoda se vyznačuje variabilitou, která je dána analytickou a neanalytickou variabilitou a intraindividuální biologickou variabilitou (biologické vlivy a jejich časové působení u biologického jedince). Všechny variability mají normální Gaussovské rozdělení. Jako základní statistické charakteristiky se používají průměr (nejčastěji aritmetický), směrodatná odchylka, variační koeficient

1.8.1 Aritmetický průměr

Vyjadřuje střední hodnotu, střední linii znaku kvality – průměrnou hodnotu z měření. Aritmetický průměr se používá k odhadu střední linie. Aritmetický průměr \bar{x} je nejznámější odhad střední hodnoty, počítá se jako součet všech hodnot vydělených jejich počtem:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

[15, 16]

1.8.2 Směrodatná odchylka – SD

Udává variabilitu dat – jak moc je charakteristický průměr nezávisí na velikosti výběru

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

x_i = naměřená hodnota koncentrace

n = počet měření

\bar{x} = aritmetický průměr

[15, 16]

1.8.3 Variační koeficient – CV

Vhodný pro vzájemné srovnávání variability dvou nebo více souborů s podstatně odlišnou úrovní hodnot podíl směrodatné odchylky a průměru

$$CV = 100 \cdot \frac{SD}{\bar{x}} \quad [\%]$$

\bar{x} = aritmetický průměr

SD = směrodatná odchylka

[15, 16]

1.9 Analytické vlastnosti metody

1.9.1 Pravdivost

Těsnost souhlasu mezi průměrnou hodnotu získanou z nekonečného počtu výsledků a přijatou referenční hodnotou. Mírou pravdivosti je vychýlení - bias. [18]

1.9.2 Bias - vychýlení

Bias představuje rozdíl mezi průměrem získaným z velkého počtu měření a referenční hodnotou. Je číselným vyjádřením systematické chyby měření [18]. Systematická chyba měření odchyluje výsledek vždy jedním směrem a zahrnuje:

- složku konstantní - výsledek je u různé koncentrace odchýlen vždy o stejnou hodnotu
- složku proporcionální - výsledek měření se liší od správné hodnoty u všech hladin o stejný násobek

Nesprávnost měření můžeme vyjádřit jako chybu absolutní, bias ($x - x_0$) nebo relativní, vztaženou ke správné hodnotě:

$$B = \frac{\bar{x} - x_0}{x_0} \cdot 100 [\%]$$

x_0 = referenční hodnota

\bar{x} = aritmetický průměr

[15, 16, 17]

1.9.3 Přesnost

Těsnost shody mezi naměřenou hodnotou veličiny a pravou hodnotou měřené veličiny. Měření je přesnější, pokud nabízí menší chybu měření. [17]

1.9.4 Preciznost

Těsnost shody mezi naměřenou hodnotu veličiny a pravou hodnotou měřené veličiny získanými opakovanými měřeními stejného objektu nebo na podobných objektech za specifikovaných podmínek například opakovatelnosti měření nebo reprodukovatelnosti měření. [17]

1.10 Validace a verifikace metod

V klinických laboratořích je cílem verifikace objektivní důkaz, že laboratoř dosahuje výkonnostní parametry uváděné výrobcem. [19]

Validace - ověřování a potvrzení objektivními důkazy, že měřicí systém nebo měřicí postup je schopen plnit požadavky úrovně měření dostatečně, postupy měření jsou korektní a jsou řádně prováděné kalibrace. V klinické laboratoři se nemohou používat jiné než validované metody. [19, 20]

Verifikace - ověření je poskytnutí důkazu, že jsou dosaženy funkční vlastnosti, ale i zákonné požadavky na měřicí systém a potvrzení objektivními důkazy, že data deklarovaná výrobcem nebo referenční institucí jsou v konkrétní laboratoři s použitím měřicího systému dosažena. Verifikací rozumíme, že laboratoř s použitím validovaných metod je schopna dosáhnout deklarovanou výkonnost metody a měřicí postup, zařízení je plně funkční v konkrétní laboratoři. [19, 20]

Validace a verifikace poskytuje potřebná data pro odhad intervalu spolehlivosti výsledků měření. Provádí se před zavedením nové metody, před aplikací analytického měřicího systému. V akreditované laboratoři tedy odborně způsobilé laboratoři, jsou používány pouze validované a verifikované metody a měřicí systémy. [19]

V klinických laboratořích se převážně používají výrobky splňujících požadavky Direktivy IVD 99/79 EC a opatřené značkou CE. [20, 21, 22]

Proto vycházím z faktu, že tyto metody jsou validované výrobcem a v naší laboratoři se omezujeme na verifikaci. Rozdíl mezi verifikací a validací je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1: Výkonnostní parametry validace a verifikace. Převzato z [20]

Parametry validace a verifikace	
Validace	Verifikace
Opakovatelnost	Opakovatelnost
mezilehlá preciznost	mezilehlá preciznost
vychýlení (bias)	vychýlení (bias)
pracovní rozsah	pracovní rozsah
mez detekce a mez stanovitelnosti	
ostatní:	
robustnost, výtěžnost, srovnání pomocí EHK	

1.11 Hematologické analyzátory Sysmex řady XT

Hematologické analyzátory řady XT firmy Sysmex jsou plně automatické analyzátory, které slouží k měření parametrů krevního obrazu s5-ti populačním diferenciálním hodnocením počtu leukocytů a s analýzou retikulocytů. Výhodou těchto analyzátorů je jejich rychlost a preciznost. Analyzátory XT-2000i a XT-4000i vynikají skutečností, že kombinují jak impedanční princip počítání elementů, tak optický princip a navíc při optické analýze elementů využívají fluorescenční barvení, čím zvyšují případnou diagnostiku patologie v krevním obrazu, které jsou dle potřeby a pravidel kontrolovány mikroskopem.

1.11.1 Hematologický analyzátor Sysmex XT 2000i

Plně automatický analyzátor Sysmex XT-2000i pro stanovení 24 parametrů krevního obrazu. Je určen pro analýzu krve. Princip měření:

- impedanční: leukocyty, bazofily, erytrocyty, trombocyty
- optický s fluorescenčním značením: leukocyty, erytrocyty, trombocyty, retikulocyty, 5 - ti populační diferenciální rozpočet
- spektrofotometrie: stanovení hemoglobinu SLS metodou. [23]

1.11.2 Hematologický analyzátor Sysmex XT 4000i

Analyzátor Sysmex XT – 4000i je automatizovaný hematologický analyzátor pro stanovená až 39 parametrů. Slouží k analýze nejenom lidské krve, ale i různých tělních tekutin (mozkomíšni mok, různé punktáty). Princip měření je stejný jako u analyzátoru XT-2000i. Liší se softwarovým vybavením, které umožňuje právě analýzu tělních tekutin metodou optické analýzy (nízké počty elementů) a navíc důkladnou analýzou naměřených údajů dokáže vyhodnotit několik dalších parametrů (tabulka 2), které vypovídají o morfologii jednotlivých elementů a tím přibližují možnost skoré diagnostiky vznikajícího onemocnění. Nezanedbatelnou stránkou je výkonnostní hledisko. Analyzátor je schopný za hodinu zpracovat:

krvní obraz 100 vzorků

krvní obraz s 5populačním diferenciálním rozpočtem 100 vzorků

krvní obraz s 5populačním diferenciálním rozpočtem a retikulocyty 80 vzorků

krvní obraz a retikulocyty přibližně 80 vzorků

analýza tělních tekutin přibližně 30 vzorků za hodinu.

Co představuje o více než 15 % lepší výkon než XT-2000i. [13, 23]



Obrázek 3: Hematologický analyzátor Sysmex XT-4000i, Centrální laboratoře, úsek hematologie

Tabulka 2: Parametry měření na hematologických analyzátoch. [13, 23]

Sysmex XT-2000i	Sysmex XT-4000i	parametry
WBC	WBC	(počet bílých krvinek)
RBC	RBC	(počet červených krvinek)
HGB	HGB	(hemoglobin)
HCT	HCT	(hematokrit)
MCV	MCV	(střední objem erytrocytu)
MCH	MCH	(střední obsah hemoglobinu v erytrocytu)
MCHC	MCHC	(střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu)
PLT	PLT	(počet destiček)
NEUT%	NEUT%	(% neutrofilů)
LYMPH%	LYMPH%	(% lymfocytů)
MONO%	MONO%	(% monocytů)
EO%	EO%	(% eozinofilů)
BASO%	BASO%	(% bazofilů)
NEUT#	NEUT#	(počet neutrofilů)
LYMPH#	LYMPH#	(počet lymfocytů)
MONO#	MONO#	(počet monocytů)
EO#	EO#	(počet eozinofilů)
BASO#	BASO#	(počet bazofilů)
RDW-SD	RDW-SD	(distribuční šíře erytrocytů-SD)
RDW-CV	RDW-CV	(distribuční šíře erytrocytů-CV)
PDW	PDW	(distribuční šíře destiček)
MPV	MPV	(střední objem krevních destiček)
P-LCR	P-LCR	(poměr krevních destiček a megakaryocytů)
PCT	PCT	(destičkový hematokrit)
RET%	RET%	(% retikulocytů)
RET#	RET#	(počet retikulocytů)
IRF	IRF	(frakce nezralých retikulocytů)
LFR	LFR	(retikulocyty s nízkým fluorescenčním poměrem)
MFR	MFR	(střední fluorescenční poměr)
HFR	HFR	(vysoký fluorescenční poměr)
	IG%	(procentuální podíl nezralých granulocytů)
	IG#	(počet nezralých granulocytů)
	RET-He	(ekvivalent hemoglobinu v retikulocytech)
	WBC-BF	(tělní tekutina s leukocyty)
	RBC-BF	(tělní tekutina s erytrocyty)
	MN%	(procentuální podíl mononukleárů)
	MN#	(počet mononukleárů)
	PMN%	(procentuální podíl polymorfonukleárů)
	PMN#	(počet polymorfonukleárů)

RET-He (ekvivalent hemoglobinu v retikulocytech) – unikátní parametr vyvinutý společností SYSMEX. [12]

Nad uvedenou tabulku lze v analyzátoru Sysmex XT-4000i ještě vyhledat RBC-O, PLT-O, RBC-He, D-He, RET-Y, RBC-Y, IFR-Y, RPI, FCR#, HypoHe, HyprHe, MicroR, MacroR, HFLC%, NEUT-X, NEUT-Y, HF-BF#, HF-BF%, TC-BF#, Eo-BF#, Eo-BF%, ovšem tyto parametry jsou parametry v běžné klinické praxi zatím nevyužívané, slouží k výzkumným účelům.

1.12 Porovnání dvou metod

Cílem při porovnání dvou metod je zjistit, zda měření parametrů jednou metodou v průměru je shodné s výsledky získanými druhou metodou. Porovnávané výsledky zpracování totožného vzorku dvěma metodami. [22, 24]

K porovnání dvou metod se používá několik způsobů posuzování:

- Korelační koeficient – vyjadřuje míru lineární závislosti výsledků, obou metod. Jeho hodnoty se pohybují od mínus jedné (nepřímá závislost) do jedné (přímá závislost). O dobré lineární závislosti mluvíme při absolutních hodnotách korelačního koeficientu v rozmezí 0,7 až 1.
- Krabicové grafy – jsou grafickým znázorněním dvou skupin měření a posuzuje se jejich vzájemná poloha. Krabicové grafy jsou vlastně grafickým znázorněním nejčastěji mediánu, směrodatné odchylky, dolního kvartilu a horního kvartilu,
- Regresní analýza – je statistická metoda, která slouží k odhadu závislosti dvou souborů měření. V praxi se nejčastěji využívá lineární
- Diferenční diagramy – jsou grafickým znázorněním, kde na ose x jsou hodnoty referenční metody (popřípadě průměry z porovnávaných metod) a na ose y je rozdíl měření, který může být vyjádřen absolutních hodnotách nebo procentuálně.

Často používanou metodou pro srovnání naměřených dat shodného vzorku dvěma analyzátory je lineární regrese. [24, 25]

1.12.1 Lineární regresní analýza

Lineární regrese se používá ke zhodnocení lineární závislosti dvou veličin. V lineární regresi se regresní koeficienty vyskytují v lineární kombinaci, nevyskytují se jako exponent. Grafickým znázorněním je regresní přímka, která je lineární. [24, 25, 26]

Vztah mezi výsledky obou měření parametrů posouzených metodou lineární regrese je dán rovnicí *regresní přímky*:

$$y = ax + b$$

a je směrnici přímky, vyjadřuje chybu proporcionální

b značí úsek, který přímka vytíná na ose *y*, míra chyby konstantní. [27]

Nejčastěji používaná lineární regrese je Passing-Bablokova regrese (1983), která pracuje na principu minimalizace součtu čtverců odchylek naměřených hodnot od hodnot vypočtených ve směru vysvětlované neboli závisle proměnné. Jasným příkladem použití je konstrukce kalibračních křivek. Passing-Bablokova regrese není tolik citlivá na volbu vysvětlující a vysvětlované proměnné, na odlehle hodnoty. [24,25, 26]

2 Hypotézy

Hypotéza č. 1: Platí $TE_{\text{lab}} < TE_{\text{max}}$ u sledovaných parametrů na přístroji XT-4000i (metoda je validní pro účely Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a.s., úsek hematologie).

Hypotéza č. 2: Výsledky měřené na hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i v otevřeném a uzavřeném módu jsou shodné.

Hypotéza č. 3: Výsledky z analyzátorů XT-4000i jsou shodné s výsledky na analyzátoru XT-2000i.

3 Metodika

V akreditovaných Centrálních laboratořích Nemocnice Strakonice, a.s. podle ČSN EN ISO 15 189:2007 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost na úseku hematologie se řídí provádění verifikace/validace při pořízení a před aplikací nového analytického měřicího systému do laboratoře SOPO-C-06 Postup při validaci/verifikaci metody vypracovaného manažerem kvality. [28, 29,30]

Samotná měření preciznosti za podmínek opakovatelnosti, preciznosti za podmínek reprodukovatelnosti a pravdivosti pro účel verifikace byla prováděna na zaváděném hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i.

3.1 Preciznost za podmínek opakovatelnosti

K samotnému měření opakovatelnosti sloužily patientské vzorky směrodatné pro rozhodování lékaře pohybující v nejnižších a nejvyšších fyziologických hodnotách. Použity byly patientské vzorky nesrážlivé krve, které se proměřovaly 20 krát za sebou v jedné sérii:

RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV

3.2 Preciznost za podmínek reprodukovatelnosti

K měření reprodukovatelnosti se používají kontrolní materiály validované v procesu EHK. Měří se dvě koncentrační hladiny v oblasti směrodatné pro rozhodování lékařů. Měření se provádělo v průběhu 20 dnů a to každý den se změřily v singlem zvolené referenční materiály. Referenční materiál k měření byl použit e-check level 1 a e-check level 2 od výrobce Sysmex, šarže 21260810 a 21270811. Proměřovaly se parametry:

RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV

3.3 Pravdivost

Pro účely pravdivosti bylo použito měření referenčního materiálu za podmínek opakovatelnosti, z nichž byl vypočten bias. Jako materiál použitý pro zjištění pravdivosti byl použit kontrolní materiál používaný při měření výkonnostních parametrů SEKK 2/12 A a B. Proměřovaly se parametry:

RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV

3.4 Diagnostické soupravy

Diagnostické sady používané pro měření parametrů u obou hematologických analyzátorů Sysmex XT-2000i a Sysmex XT-4000i jsou shodné.

Tabulka 3: Diagnostické soupravy. Převzato z [13, 23]

CELLPACK	D2207-diluent
STROMATOLYSER-FB	D2018-diluent, na měření počtu leukocytů a bazofilů
STROMATOLYSER-4DL	D2008-diluent pro určení diferenciálu
STROMATOLYSER-4DS	D2003-bavící substance pro určení diferenciálu
SULFOLYSER	D2002-reagencie pro stanovení hemoglobinu
RETSEARCH(II)	ZA1059-pro měření počtu retikulocytů
CELLCLEAN	Pro čištění přístroje

4 Výsledky

Potřebná měření pro zavedení hematologického analyzátoru Sysmex XT-4000i jsem prováděla v Centrálních laboratořích Nemocnice Strakonice, a.s., kde pracuji v časovém období 1. 4. až 30. 6. 2012, kdy bylo nutné provést verifikaci daného analyzátoru.

Zde uvádím vypočtené aritmetické průměry, směrodatné odchylky SD, variační koeficienty, kombinovaný variační koeficient měřených parametrů RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV pro zjištění preciznosti za podmínek opakovatelnosti, preciznosti za podmínek reprodukovatelnosti a pravdivosti. Výsledky jednotlivých měření měřených parametrů WBC, RBC, PLT, HGB, HCT, MCV, které bylo nutné změřit pro zjištění preciznosti za podmínek opakovatelnosti, preciznosti za podmínek reprodukovatelnosti jsou přiloženy v příloze č. 1-6.

Tabulka 4: Vypočtených hodnot z měření opakovatelnosti

Parametr	Vzorek č.	aritmetický průměr	SD	CV _O [%]
RBC	1	2,94	0,018	0,61
	2	5,12	0,034	0,67
WBC	1	9,22	0,153	1,66
	2	14,9	0,229	1,54
PLT	1	458,8	5,745	1,25
	2	281,7	8,151	2,89
HGB	1	93,2	0,951	1,02
	2	150,0	0,795	0,53
HCT	1	0,292	0,003	0,92
	2	0,466	0,003	0,74
MCV	1	99,2	1,259	1,27
	2	91,0	0,760	0,84

V případě opakovatelnosti vyšetřovaných parametrů byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka a variační koeficient pro obě hladiny měření.

Pro reprodukovatelnost vyšetřovaných parametrů byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient a z variačních koeficientů opakovatelnosti a reprodukovatelnosti jsem vypočítala variační koeficient analytický.

Tabulka 5: Vypočtených hodnot z měření reprodukovatelnosti

Parametr	Vzorek	aritmetický průměr	SD	CV _R [%]
RBC	1	2,33	0,022	0,95
	2	4,44	0,027	0,60
WBC	1	3,09	0,089	2,88
	2	7,07	0,132	1,87
PLT	1	58,2	2,687	4,62
	2	205,5	4,785	2,33
HGB	1	59,6	0,605	1,02
	2	123,7	0,671	0,54
HCT	1	0,183	0,002	1,07
	2	0,367	0,003	0,73
MCV	1	78,8	0,347	0,44
	2	82,8	0,417	0,50

Variační koeficienty opakovatelnosti CV_O a reprodukovatelnosti CV_R jsou kombinované koeficienty variace různých hladin opakovatelnosti a reprodukovatelnosti.

Kombinovaný koeficient opakovatelnosti byl vypočten z obou měřených hladin vzorků opakovatelnosti. [19]

$$CV = \sqrt{\frac{CV_1^2 + CV_2^2}{2}} \quad [\%]$$

[22]

Tabulka 6: Opakovatelnost, reprodukovatelnost- kombinovaný koeficient variace

Parametr	kombinovaný CV _O [%]	kombinovaný CV _R [%]
WBC	1,60	2,42
RBC	0,64	0,79
PLT	2,23	3,66
HGB	0,81	0,82
HCT	0,83	0,92
MCV	1,08	0,47

Variační koeficient analytický jsem vypočítala z kombinovaného koeficientu variace opakovatelnosti a kombinovaného koeficientu variace reprodukovatelnosti

$$CV_a = \sqrt{CV_o^2 + CV_R^2}$$

[22]

Tabulka 7: Variační koeficient analytický

Parametr	kombinovaný CV _a [%]
WBC	2,90
RBC	1,02
PLT	4,29
HGB	1,15
HCT	1,24
MCV	1,17

Pro pravdivost byl vypočten z naměřených hodnot parametrů WBC, RBC, PLT, HGB, HCT a MCV uvedených v příloze č. 7-12 aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient a bias.

Tabulka 8: Vypočtených hodnot z měření pravdivosti

Parametr	e-check level	Cílová hodnota	Aritmetický průměr	SD	CV [%]	Bias
RBC	1	4,75	4,86	0,027	0,56	2,29
	2	4,06	4,14	0,017	0,41	1,97
WBC	1	3,03	3,08	0,048	1,55	1,75
	2	11,5	11,93	0,242	2,03	3,73
PLT	1	365	357,1	6,262	1,75	-2,16
	2	183	196,6	5,131	2,61	7,60
HGB	1	142	142,7	0,949	0,66	0,49
	2	114	114,5	0,527	0,46	0,44
HCT	1	0,404	0,415	0,002	0,47	2,67
	2	0,322	0,331	0,002	0,52	2,83
MCV	1	85,4	85,4	0,151	0,18	-0,05
	2	79,6	80,2	0,409	0,51	0,74

Bias analytický B_a byl vypočten podle vztahu:

$$B_a = \sqrt{\frac{B_1^2 + B_2^2}{2}}$$

[22]

Tabulka 9: Bias analytický

Parametr	Bias průměrný [%]
WBC	2,91
RBC	2,14
PLT	5,58
HGB	0,45
HCT	2,75
MCV	0,52

Pro stanovení celkové chyby $TE_{lab}=(b_a) + 2 CV_a$ (%) byl použit bias průměrný. [22]

Tabulka 10: Celková chyba laboratoře

Parametr	TE_{lab} [%]
WBC	8,70
RBC	4,18
PLT	16,60
HGB	2,75
HCT	5,23
MCV	2,86

Pro porovnání metod krevního obrazu vyšetřovaných současným hematologickým analyzátozem Sysmex XT-2000i a zaváděným hematologickým analyzátozem Sysmex XT-4000i jsem použila Passing-Bablokovou regresi. Zpracování jsem provedla pomocí programu MedCalc a Excel. Pro porovnání měření zaváděného hematologického analyzátozu Sysmex XT-4000i s hematologickým analyzátozem Sysmex XT-2000i jsem

provedla měření 40 patientských vzorků v uzavřeném módu. Měření jednotlivých parametrů WBC, RBC, PLT, HGB, HCT, MCV jsem provedena paralelně na obou analyzátoch. Jako referenční metodu jsem použila původní analyzátor Sysmex XT-2000i. Tabulky s výsledky jednotlivých měření na obou analyzátoch jsou součástí přílohy 13 a 14.

Porovnání měřených parametrů 40 vzorků měřených paralelně na přístroji Sysmex XT-2000i a na zaváděném Sysmex XT-4000i jsem provedla pomocí Passing-Bablokovy regrese. Pro naměřené parametry jsou grafy v příloze 15-26.

WBC: Regresní rovnice: $Y = 0,1141 + 0,9935X$
 Intercept A (průsečík s osou y): 0,1141
 95% CI: -0,0583 do 0,2492
 Slope B (směrnice): 0,9935
 95% CI: 0,9709 do 1,0165
 Závislost je lineární ($P > 0,10$)

Tabulka 11: WBC na hematologických analyzátoch

Sysmex	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
XT-2000i	1,74	15,12	7,45	6,91	2,97	0,4711
XT-4000i	1,97	15,47	7,52	7,07	2,98	0,4707

RBC: Regresní rovnice: $Y = 0,0430 + 1,0147 X$
 Intercept A: 0,0430
 95% CI: -0,0200 do 0,1100
 Slope B: 1,0147
 95% CI: 1,0000 do 1,0280
 Závislost je lineární ($P > 0.05$)

Tabulka 12: RBC na hematologických analyzátoch

Sysmex	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
XT-2000i	2,35	5,97	4,41	4,48	0,7850	0,1240
XT-4000i	2,41	6,11	4,51	4,55	0,7934	0,1254

PLT: Regresní rovnice: $Y = -2,3387 + 1,0280X$
 Intercept A: -2,3387
 95% CI: -11,9231 do 5,7649
 Slope B: 1,0280
 95% CI: 0,9940 do 1,0659
 Závislost je lineární ($P > 0.10$)

Tabulka 13: PLT na hematologických analyzátoch

Sysmex	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
XT-2000i	33,0	1180	258,68	230,00	173,34	27,408
XT-4000i	28,0	1212	262,70	235,50	178,45	28,216

HGB: Regresní rovnice: $Y = 2,8800 + 0,9600X$
 Intercept A: 2,8800
 95% CI: 0,7949 dto 4,6081
 Slope B: 0,9600
 95% CI: 0,9459 dto 0,9744
 Závislost je lineární ($P > 0,10$)

Tabulka 14: HGB na hematologických analyzátozech

Sysmex	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
XT-2000i	83,0	177,0	133,38	138,50	23,50	3,716
XT-4000i	83,0	173,0	130,93	134,50	22,48	3,554

HCT: Regresní rovnice: $Y = 0,0047 + 1,0106X$
 Intercept A: 0,0047
 95% CI: -0,0004 do 0,0090
 Slope B: 1,0106
 95% CI: 1,0000 do 1,0238
 Závislost je lineární ($P < 0,05$)

Tabulka 15: HCT na hematologických analyzátozech

Sysmex	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
XT-2000i	0,239	0,537	0,3913	0,3980	0,0612	0,0097
XT-4000i	0,243	0,548	0,3999	0,4100	0,0614	0,0097

MCV: Regresní rovnice: $Y = 1,5424 + 0,9817X$

Intercept A: 1,5424

95% CI: -0,8215 do 4,0279

Slope B: 0,9817

95% CI: 0,9535 do 1,0073

Závislost je lineární ($P < 0.10$)

Tabulka 16: MCV na hematologických analyzátoch

Sysmex	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
XT-2000i	75,50	101,70	89,588	89,900	6,715	1,0620
XT-4000i	76,00	101,30	89,383	89,700	6,577	1,0399

Pro porovnání uzavřeného a otevřeného módu na hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i jsem provedla na 168 patientských vzorcích, které se přeměřují v běžném provozu laboratoře z důvodu ověření výsledků. K tomuto srovnání jsem vybrala parametry WBC, RBC, PLT, HGB, HCT, MCV. Jako referenční metodu jsem použila měření otevřeným módem na hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i. Výsledky jednotlivých měřených parametrů patientských vzorků jsou uvedené v příloze 27-32. Porovnání všech parametrů ze 168 vzorků měřených paralelně na přístroji Sysmex XT-2000i a na zaváděném Sysmex XT-4000i jsem provedla pomocí Passing-Bablokovy regrese. Pro naměřené parametry jsou grafy v příloze 33-44.

WBC: Regresní rovnice: $Y = -0,0343 + 0,9978 X$

Intercept A: -0,0343

95% CI: -0,0954 do 0,0408

Slope B: 0,9978

95% CI: 0,9894 do 1,0066

Závislost je lineární ($P > 0,10$)

Tabulka 17: WBC otevřený a zavřený mód analyzátor Sysmex XT-4000i

XT-4000i Mód	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
otevřený	1,80	66,41	9,31	7,82	7,181	0,5540
uzavřený	1,67	66,22	9,24	7,68	7,151	0,5520

RBC: Regresní rovnice: $Y = 0,0176 + 0,9935 X$

Intercept A: 0,0176

95% CI: -0,0100 do 0,0387

Slope B: 0,9935

95% CI: 0,9872 do 1,0000

Závislost je lineární ($P > 0,10$)

Tabulka 18: RBC otevřený a zavřený mód analyzátor Sysmex XT-4000i

XT-4000i Mód	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
otevřený	1,49	6,06	3,85	3,72	1,037	0,0800
uzavřený	1,53	5,94	3,83	3,74	1,019	0,0790

PLT: Regresní rovnice: $Y = 1,0000 + 1,0000 X$
 Intercept A: 1,0000
 95% CI: -1,0950 do 3,2763
 Slope B: 1,0000
 95% CI: 0,9912 do 1,0112
 Závislost je lineární ($P > 0.10$)

Tabulka 19: PLT otevřený a zavřený mód analyzátor Sysmex XT-4000i

XT-4000i Mód	hodnota minim.	hodnota max.	Průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
otevřený	7,00	809,00	249,08	223,00	134,213	10,355
uzavřený	13,00	835,00	250,76	226,00	135,733	10,472

HGB: Regresní rovnice: $Y = 0,0000 + 1,0000 X$
 Intercept A: 0,0000
 95% CI: 0,0000 do 0,0000
 Slope B: 1,0000
 95% CI: 1,0000 do 1,0000
 Závislost je lineární ($P > 0.10$)

Tabulka 20: HGB otevřený a zavřený mód analyzátor Sysmex XT-4000i

XT-4000i Mód	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
otevřený	42,00	181,00	112,86	110,00	32,345	2,495
uzavřený	42,00	181,00	112,86	110,00	32,345	2,495

HCT: Regresní rovnice: $Y = 0,0021 + 0,9921 X$

Intercept A: 0,0021

95% CI: 0,0000 do 0,0044

Slope B: 0,9921

95% CI: 0,9851 do 1,0000

Závislost je lineární ($P > 0.10$)

Tabulka 21: HCT otevřený a zavřený mód analyzátor Sysmex XT-4000i

XT-4000i Mód	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
Otevřený	0,142	0,561	0,337	0,325	0,0892	0,0070
Uzavřený	0,132	0,563	0,335	0,324	0,0876	0,0070

MCV: Regresní rovnice: $Y = 0,0000 + 1,0000 X$

Intercept A: 0,0000

95% CI: 0,0000 do 0,6100

Slope B: 1,0000

95% CI: 0,9937 do 1,0000

Závislost je lineární ($P < 0.05$)

Tabulka 22: MCV otevřený a zavřený mód analyzátor Sysmex XT-4000i

XT-4000i Mód	hodnota minim.	hodnota max.	průměr	medián	SMODCH	stand.chyba průměru
otevřený	61,80	121,00	88,10	88,45	8,413	0,6490
uzavřený	61,50	121,40	88,13	88,13	8,342	0,6470

5 Diskuze

Normy řízení kvality ČSN EN ISO 15189 podle níž jsou akreditovány i Centrální laboratoře Nemocnice Strakonice, a.s. stanovily požadavky na dokumentaci, kvalitu poskytovaných služeb, vyšetření, personál, zařízení a prostory a s tím souvisí i verifikace/ validace metod, jak je uvedeno v kapitole 5.5. Postupy vyšetření a s tím související podkapitola 5.5.5 Validace/verifikace metod. Výsledky validačních a verifikačních procesů jsou podkladem pro vyhodnocení nejistot měření a podkladem pro návaznost a porovnatelnost výsledků měření. [28, 29,30]

5.1 Verifikace

Verifikace hematologického analyzátoru byla provedena podle SOPO-C-06 Postup při validaci/verifikaci metody vypracovaného manažerem kvality Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a.s. z důvodu výměny hematologického analyzátoru Sysmex XT-4000i za stávající Sysmex XT-2000i. Sysmex XT-4000i je modernější, vydává až 80 parametrů krevního obrazu.

Tabulka 23: Doporučené hodnoty odbornou společností SEKK s.r.o.

	TE _{max} [%]
WBC	13,0
RBC	8,0
PLT	23,5
HGB	6,0
HCT	10,0
MCV	10,0

Převzato z [31]

K hodnocení metody a vhodnosti metody pro daný analytický účel se používá vztah:

$$TE_{lab} < TE_{max}$$

Kdy TE_{max} jsou použity doporučené hodnoty odbornou společností, v našem případě firmy SEKK s.r.o., které se využívají při externím hodnocení kvality.

V době výměny hematologického analyzátoru Sysmex XT-4000i Hematologická odborná společnost nevydala jednoznačné pokyny pro verifikaci metod, proto naše laboratoř využívá odborná doporučení české společnosti pro klinickou biochemii (www.cskb.cz). [20]

Naše hematologická laboratoř se neomezuje pouze na opakovatelnost a reprodukovatelnost, součástí verifikace je i výpočet celkové chyby metody TE_{lab} . Naše laboratoř čerpá z EHK (externí hodnocení kvality) a její porovnání s chybou, která se uvádí při mezilaboratorním porovnávání. Naše hematologická laboratoř využívá služby firmy SEKK s.r.o. Je možné využít i doporučené hodnoty uvedené na www.westgard.com. [32]

WBC:

variační koeficient reprodukovatelnosti CV_R 2,42%, výrobce hematologického analyzátoru pro Sysmex XT-4000i udává variační koeficient 3,0%. Platí tedy $CV_R < CV$ a celková chyba laboratoře TE_{lab} 8,70%, společností SEKK s.r.o. je akceptováno TE_{max} 13,0%. **Platí $TE_{lab} < TE_{max}$. Lze tedy konstatovat, že naše laboratoř dosahuje v obou případech uspokojivé výsledky pro parametr WBC.**

RBC:

variační koeficient reprodukovatelnosti CV_R 0,79%, výrobce hematologického analyzátoru pro Sysmex XT-4000i udává variační koeficient 1,5%. Platí tedy $CV_R < CV$ a celková chyba laboratoře TE_{lab} 4,18%, společností SEKK s.r.o.

TE_{max} 8,0%. **Platí $TE_{lab} < TE_{max}$. Lze tedy konstatovat, že naše laboratoř dosahuje v obou případech uspokojivé výsledky pro parametr RBC.**

PLT:

variační koeficient reprodukovatelnosti CV_R 5,02%, výrobce hematologického analyzátoru pro Sysmex XT-4000i udává variační koeficient 4,0%, Platí tedy $CV_R < CV$ a celková chyba laboratoře TE_{lab} 16,60% společností SEKK s.r.o.

TE_{max} 23,5%. Platí $TE_{lab} < TE_{max}$. Lze tedy konstatovat, že naše laboratoř dosahuje v obou případech uspokojivé výsledky pro parametr PLT.

HGB:

variační koeficient reprodukovatelnosti CV_R 0,82%, výrobce hematologického analyzátoru pro Sysmex XT-4000i udává variační koeficient 1,5%. Platí tedy $CV_R < CV$ a celková chyba laboratoře TE_{lab} 2,75%, společností SEKK s.r.o.

TE_{max} 6,0%. Platí $TE_{lab} < TE_{max}$. Lze tedy konstatovat, že naše laboratoř dosahuje v obou případech uspokojivé výsledky pro parametr HGB.

HCT:

variační koeficient reprodukovatelnosti CV_R 0,92%, výrobce hematologického analyzátoru pro Sysmex XT-4000i udává variační koeficient 1,5%. Platí tedy $CV_R < CV$ a celková chyba laboratoře TE_{lab} 5,23%, společností SEKK s.r.o.

TE_{max} 10,0%. Platí $TE_{lab} < TE_{max}$. Lze tedy konstatovat, že naše laboratoř dosahuje v obou případech uspokojivé výsledky pro parametr HCT.

MCV:

variační koeficient reprodukovatelnosti CV_R 0,47%, výrobce hematologického analyzátoru pro Sysmex XT-4000i udává variační koeficient 1,5%. Platí tedy $CV_R < CV$ a celková chyba laboratoře TE_{lab} 2,86%, společností SEKK s.r.o.

TE_{max} 10,0%. Platí $TE_{lab} < TE_{max}$. Lze tedy konstatovat, že naše laboratoř dosahuje v obou případech uspokojivé výsledky pro parametr MCV.

Vzhledem k tomu, že vztah $TE_{lab} < TE_{max}$ vždy platí, lze považovat metody za validní.

5.2 Porovnání hematologických analyzátorů Sysmex XT-2000i a Sysmex XT-4000i

K porovnání dvou analyzátorů jsem použila Passing-Bablockovu regresní analýzu. Postup jsem zvolila podle SOPO-C-06 Postup při validaci/verifikaci metody, kde je doporučeno na osu X vynášet hodnoty srovnávacího analyzátoru a na osu Y hodnoty srovnávaného analyzátoru, v mém případě analyzátoru Sysmex XT-4000i. K posouzení systematické chyby validovaného analyzátoru od srovnávaného analyzátoru se používá

graf regresní závislosti, z grafického záznamu regresní analýzy a z hodnot úseku regresní analýzy se usuzuje na velikost a přítomnost konstantní složky systematické chyby.

WBC:

Intercept A (95%CI): 0,1141 (-0,0583 až 0,2492)

Směrnice (95%CI): 0,9935 (0,9709 až 1,0165)

Závislost je lineární (P>0.10)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátoři jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátoři se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

RBC:

Intercept A (95%CI): 0,0430 (-0,0200 až 0,1100)

Směrnice (95% CI): 1,0147 (1,0000 až 1,0280)

Závislost je lineární (P>0.05)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátoři jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátoři se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

PLT:

Intercept A (95%CI): -2,3387 (-11,9231 až 5,7649)

Směrnice (95% CI): 1,0280 (0,9940 až 1,0659)

Závislost je lineární (P>0.10)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátoři jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátoři se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

HGB:

Intercept A (95%CI): 2,8800 (0,7949 až 4,6081)

Směrnice (95% CI): 0,9600 (0,9459 až 0,9744)

Závislost je lineární (P>0.10)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátory jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátory se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

HCT:

Intercept A (95%CI): 0,0047 (-0,0004 až 0,0090)

Směrnice (95%CI): 1,0106 (1,0000 až 1,0238)

Odchylka od linearity P<0.05

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátory jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátory se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

MCV:

Intercept A (95%CI): 1,5424 (-0,8215 až 4,0279)

Směrnice (95% CI): 0,9817 (0,9535 až 1,0073)

Odchylka od linearity P<0.10

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátory jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátory se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

5.3 Porovnání otevřeného a uzavřeného modu

K porovnání otevřeného a uzavřeného modu analyzátoru Sysmex XT-4000i jsem použila Passing-Bablockovu regresní analýzu. Postupovala jsem podle SOPO-C-06 Postup při validaci/verifikaci metody, kde je doporučeno do grafu regresní závislosti na osu X vynášet hodnotu srovnávací metody. Otevřený mód je určen výrobcem jako referenční. Graf regresní závislosti se používá pro posouzení systematické difference validované metody od srovnávací metody. Z grafického záznamu regresní analýzy a z hodnot směrnice regresní analýzy se usuzuje na proporcionální složky systematické chyby měření a z grafického záznamu regresní analýzy a z hodnoty úseku regresní analýzy se usuzuje na přítomnost a velikost konstantní složky systematické chyby.

WBC:

Intercept A (95%CI): -0,0343 (-0,0954 až 0,0408)

Směrnice (95% CI): 0,9978 (0,9894 až 1,0066)

Odchylka od linearity $P > 0.10$

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

RBC:

Intercept A (95%CI): 0,0176 (-0,0100 až 0,0387)

Směrnice (95% CI): 0,9935 (0,9872 až 1,0000)

Odchylka od linearity $P > 0.10$

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

PLT:

Intercept A (95%CI): -2,3387 (-11,9231 až 5,7649)

Směrnice (95% CI): 1,0280 (0,9940 až 1,0659)

Odchylka od linearity $P > 0.10$

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

HGB:

Intercept A (95%CI): 0,0000 (0,0000 až 0,0000)

Směrnice (95% CI): 1,0000 (1,0000 to 1,0000)

Závislost je lineární ($P > 0.10$)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

HCT:

Intercept A (95%CI): 0,0021 (0,0000 až 0,0044)

Směrnice (95% CI): 0,9921 (0,9851 až 1,0000)

Závislost je lineární ($P > 0.10$)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

MCV:

Intercept A (95%CI): 0,0000 (0,0000 až 0,6100)

Směrnice (95%CI): 1,0000 (0,9937 do 1,0000)

Závislost je lineární ($P < 0.05$)

95% interval spolehlivosti interceptu zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty.

95% CI směrnice zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné.

6 Závěr

Z provedených měření a výpočtů jsou metody vyšetření parametrů RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV pro účely Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a.s. úseku hematologie validní, neboť u každého parametru platí $TE_{lab} < TE_{max}$, a proto podle mnou zjištěných analytických znaků jsou testované metody RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV použitelné. Hypotéza č. 1 platí.

Z naměřených výsledků na zaváděném hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i otevřený a uzavřený mód jsem pomocí Passing-Bablockovy regresní analýzy provedla srovnání měřených parametrů RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV. Z výsledků všech parametrů vyplývá, že 95% konfidenční interval interceptů zahrnují nulu, proto nejsou od ní významně odlišné, a proto metody jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty. Rovněž 95% konfidenční interval směrnice zahrnuje hodnotu jedna u všech zkoumaných parametrů, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Obě metody měření otevřený a uzavřený mód u všech parametrů se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné. Výsledky měřené na hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i otevřený a uzavřený mód jsou shodné. Hypotéza č. 2 platí.

Ke zhodnocení výsledků měřených parametrů RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV na hematologickém analyzátoru Sysmex XT-2000i a na nově zaváděném hematologickém analyzátoru Sysmex XT-4000i jsem použila Passing-Bablockovu regresní analýzu. Z výsledků porovnání obou analyzátorů vyplývá, že intercepty (95% CI) zahrnuje nulu, proto není od ní významně odlišný, a proto oba analyzátory jsou srovnatelné, nejsou systematicky posunuty. Směrnice (95% CI) zahrnuje jedničku, a proto se od ní významně neliší, nevykazuje proporcionální chybu a nevykazuje odchylku od linearity. Oba analyzátory se od sebe neliší, a proto jsou srovnatelné. Lze konstatovat, že výsledky z obou analyzátorů jsou srovnatelné. Hypotéza č. 3 platí.

7 Literatura

- 1 PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu. Buňka a krvinek tvorba*. Český Těšín: FINIDR, 2002, ISBN 80-86682-01-3.
- 2 PENKA, Miroslav, TESAŘOVÁ, Eva a kol. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. Praha: Grada Publishing, 2011, ISBN 978-80-247-3459-0.
- 3 LEXOVÁ, Stanislava, BOURKOVÁ, Ludmila, BULÍKOVÁ, Alena a kol. *Hematologie pro zdravotní laboranty I. díl*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 2000, ISBN 80-7013-304-X.
- 4 PENKA, Miroslav a BULÍKOVÁ, Alena. *Neonkologická hematologie*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009, ISBN 978-80-247-2299-3.
- 5 ANDĚL, Michal, GREGOR, Pavel, HORÁK, Jiří, KMENT Milan a WIDIMSKÝ Petr a KOZÁK, Tomáš. *Vnitřní lékařství 3b. díl., Hematologie*. Praha: Galén a Karolinum, 2001, ISBN 80-7262-085-1, ISBN 80-246-0215-6.
- 6 LICHTMAN, Marshal A, BEUTLER, Ernest, KIPPS, Thomas J, SELIGSOHN, Uri, KAUSHANSKY, Kenneth a PRCHAL, Josef T. *Williams Hematology*. 7. vyd. New York: McGraw Hill, 2006, ISBN 0-07-143591-3.
- 7 BAIN, Barbara J. *Interactive haematology imagebank: with self assessment*. Oxford: Blackwell Science, 2000, 1 CD-ROM. ISBN 06-320-5321-6.
- 8 PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu II. Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Český Těšín: Infinity art, 2006, ISBN 80-86682-02-1.

- 9 KITTNAR, Otomar a kol. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada publishing, 2011, ISBN 978-80-247-3068-4.
- 10 PECKA, Miroslav a kol. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infinity art, 2010, ISBN 978-80-903-8719-5.
- 11 TOKÁR Zdeněk. *Odběr venózní a kapilární krve - standardní operační postup vyšetřovací*. Strakonice: Nemocnice Strakonice a.s. – Centrální laboratoře, 2013, SOPV-C-01.
- 12 DASTYCH, Milan. *Instrumentální technika: obor zdravotní laborant*. Brno: Masarykova Univerzita, 2007, ISBN 978-80-210-4226-1.
- 13 *Automatický analyzátor XT-4000i - návod k použití*. Kobe: Sysmex Corporation, 2009, BQ190433 cs.
- 14 *Fluorescence flow cytometry in hematology* [online]. Sysmex, 2011. Dostupné z: http://www.sysmex.ru/files/articles/Xtra_online_Fluorescence_flow_cytometry_in_haematology.pdf [cit. 29. 4. 2014]
- 15 ZVÁROVÁ, Jana. *Základy statistiky pro biomedicínské obory I*. Praha: Karolínium, 1998, ISBN 80-7184-786-0.
- 16 GAŠKO, Rudolf a kol. *Štatistické metody pre klinickú epidemiológiu a laboratórnu prax*. Košice: APRILLA, 2008, ISBN 978-80-89346-00-4.
- 17 FRIEDECKÝ, Bedřich, KRATOCHVÍLA, Josef, MATÝŠKOVÁ, Miloslava a BOURKOVÁ, Ludmila. *Doporučený postup získávání dat laboratorní reprodukovatelnosti (pro uvádění vlastních nejistot v programu EHK)* [online]. SEKK, 2004. Dostupné z: http://www.sekk.cz/infoservis/Nejistoty_doporuceni.pdf [cit. 15. 3. 2014].

- 18 TNI 01 0115 *Mezinárodní metrologický slovník - Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM).*, 2009.
- 19 BOURKOVÁ, Ludmila, MATÝŠKOVÁ, Miloslava a KRATOCHVÍLA, Josef. *Doporučení ČHS ČLS JEP - Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátořech* [online]. Česká hematologická společnost ČLS JEP, 2013. Dostupné z: <http://hematology.cz/doporučení-chs-kcinnostem.php> [cit. 15. 3. 2014]
- 20 FRIEDECKÝ, Bedřich, ŠPRONGL, Luděk, KRATOCHVÍLA, Josef, PLZÁK, Zbyněk. *Doporučený k provádění validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích* [online]. ČSKB ČLS JEP, 2010. Dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/doporučení/valid/Validace_2010.pdf [cit. 15. 3. 2014]
- 21 DASTYCH, Milan, BREINEK, Petr, a kol. *Klinická biochemie*. Brno: Masarykova Univerzita, 2008, ISBN 978-80-210-4572-9.
- 22 TOKÁR Zdeněk. *Postup při validaci/verifikaci metody - standardní operační postup*. Strakonice: Nemocnice Strakonice a.s. – Centrální laboratoře, 2013, SOPO-C-06.
- 23 *Automatizovaný hematologický analyzátor XT-2000i/XT-1800i- provozní pokyny*. Kobe: Sysmex Corporation, 2008, AB355223 cs.
- 24 DOHNAL, Luděk. *Porovnání. Desatero pro porovnání výsledků* [online]. FONS 3:27-32, 2000. Dostupné z: http://www1.lf1.cuni.cz/~ldohna/publik/Kap_4_Desatero.pdf [cit. 10. 4. 2014].
- 25 DOHNAL, Luděk. *Lesk a bída lineární regrese* [online]. FONS 3, 1997. Dostupné z: <http://www.lf1.cuni.cz/~ldohna/dohnal/leskbida.html> [cit. 15. 3. 2014].

- 26 HENDL, Jan. *Statistické přístupy k porovnání biomedicínských metod měření*. [online]. Česká kinantropologie 6:87-96, 1997. Dostupné z: <http://www.ftvs.cuni.cz/hendl/metodologie/blandaltmanclanek1.pdf> [cit. 15. 3. 2014].
- 27 RACEK, Jaroslav a kol. *Klinická biochemie*. Praha: Galén, 1999. ISBN 80-7262-023-1.
- 28 ČSN EN ISO 15189. *Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost*. Český normalizační institut, 2007. Třídící znak 79 766.
- 29 *Laboratorní příručka Centrální laboratoře Nemocnice Strakonice, a.s.*, [online]. 2012. Dostupné na: <http://www.nemst.cz/lab/labprirucka.pdf> [cit. 20. 3. 2014].
- 30 TOKÁR, Zdeněk. *Příručka kvality CL*. 3. vyd. Strakonice: Nemocnice Strakonice, a.s. – Centrální laboratoře, 2012, PK.
- 31 *Plán EHK 2012: Nabídka programů a metodika provádění externího hodnocení kvality (EHK)* [online]. SEKK, 2012. Dostupné z: http://www.sekk.cz/eqa/2012_N_CZ.pdf [cit. 20. 8. 2012].
- 32 RICOS, Carmen, RAMON, Francisco, SALAS, Angel a kol. *Westgard QC: Minimum analytical quality specifications of inter-laboratory comparisons: agreement among Spanish EQAP organizers* [online]. Clin Chem Lab Med 50:485-461, 2012. Dostupné z <http://www.westgard.com/minimum-requirements.htm> [cit. 1. 5. 2014].

8 Klíčová slova

verifikace
validace
akreditace
reprodukovatelnost
opakovatelnost
preciznost

Key words

verification
validation
accreditation
repeatability
reproducibility
precision

9 Přílohy

Příloha 1: WBC – opakovatelnost - 20 měření každého vzorku během jednoho dne, reprodukovatelnost - 20 měření v průběhu 20 dnů

Opakovatelnost			Reprodukovatelnost		
Č. měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Den	Kontrolní materiál 1	Kontrolní materiál 2
1.	9,33	15,15	1.	3,19	7,19
2.	9,43	14,25	2.	3,19	7,24
3.	9,01	15,01	3.	3,17	7,26
4.	9,07	15,13	4.	2,96	7,06
5.	9,27	15,19	5.	3,15	7,13
6.	9,30	15,14	6.	3,10	7,08
7.	9,37	14,98	7.	3,13	7,04
8.	9,55	14,98	8.	3,17	7,03
9.	9,45	14,98	9.	3,05	7,01
10.	9,11	14,97	10.	3,06	6,84
11.	9,10	14,79	11.	3,08	6,81
12.	9,05	14,56	12.	3,12	6,95
13.	9,01	14,86	13.	3,08	7,04
14.	9,25	14,79	14.	3,14	6,96
15.	9,23	14,92	15.	3,14	6,98
16.	9,13	14,6	16.	2,98	7,09
17.	9,14	14,96	17.	3,15	7,31
18.	9,24	14,96	18.	3,06	7,11
19.	9,10	15,06	19.	2,88	7,01
20.	9,23	14,77	20.	2,93	7,22
Průměr	9,22	14,90	Průměr	3,09	7,07
SD	0,153	0,229	SD	0,089	0,132
CV %	1,66	1,54	CV%	2,88	1,87
CV_O%	1,60		CV_R%	2,42	

Příloha 2: RBC – opakovatelnost - 20 měření každého vzorku během jednoho dne,
reprodukovatelnost - 20 měření v průběhu 20 dnů.

Opakovatelnost			Reprodukovatelnost		
Č. měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Den	Kontrolní materiál 1	Kontrolní materiál 2
1	2,96	5,14	1.	2,28	4,41
2	2,97	5,18	2.	2,31	4,37
3	2,95	5,11	3.	2,34	4,43
4	2,95	5,10	4.	2,31	4,42
5	2,94	5,10	5.	2,34	4,43
6	2,97	5,15	6.	2,30	4,44
7	2,97	5,17	7.	2,32	4,46
8	2,95	5,12	8.	2,30	4,45
9	2,92	5,09	9.	2,30	4,50
10	2,94	5,14	10.	2,33	4,44
11	2,93	5,12	11.	2,31	4,46
12	2,95	5,09	12.	2,33	4,42
13	2,95	5,13	13.	2,34	4,42
14	2,94	5,14	14.	2,35	4,43
15	2,93	5,12	15.	2,34	4,43
16	2,93	5,13	16.	2,35	4,43
17	2,93	5,10	17.	2,37	4,47
18	2,90	5,08	18.	2,34	4,45
19	2,93	5,03	19.	2,34	4,45
20	2,93	5,08	20.	2,32	4,41
Průměr	2,94	5,12	Průměr	2,33	4,44
SD	0,018	0,034	SD	0,022	0,027
CV %	0,61	0,67	CV%	0,95	0,60
CV_O%	0,64		CV_R%	0,79	

Příloha 3: PLT - opakovatelnost - 20 měření každého vzorku během jednoho dne,
reprodukovatelnost - 20 měření v průběhu 20 dnů

Opakovatelnost			Reprodukovatelnost		
Č. měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Den	Kontrolní materiál 1	Kontrolní materiál 2
1.	457	270	1.	55	206
2.	450	273	2.	53	209
3.	458	262	3.	59	199
4.	454	275	4.	57	205
5.	452	276	5.	56	210
6.	468	280	6.	57	207
7.	456	279	7.	55	203
8.	450	288	8.	59	203
9.	456	292	9.	54	210
10.	463	279	10.	56	213
11.	463	280	11.	59	214
12.	459	282	12.	58	209
13.	471	287	13.	58	198
14.	461	280	14.	58	207
15.	462	295	15.	65	207
16.	455	284	16.	59	205
17.	456	286	17.	64	204
18.	456	284	18.	63	196
19.	466	289	19.	68	205
20.	463	293	20.	63	200
Průměr	458,8	281,7	Průměr	58,2	205,5
SD	5,745	8,151	SD	2,687	4,785
CV %	1,25	2,89	CV%	4,62	2,33
CV_O	2,23		CV_R	3,66	

Příloha 4: HGB – opakovatelnost -20 měření každého vzorku během jednoho dne,
reprodukovatelnost - 20 měření v průběhu 20 dnů

Opakovatelnost			Reprodukovatelnost		
Č. měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Den	Kontrolní materiál 1	Kontrolní materiál 2
1.	95	150	1.	61	124
2.	95	150	2.	59	124
3.	93	150	3.	59	124
4.	94	150	4.	60	124
5.	94	150	5.	60	124
6.	94	149	6.	59	124
7.	94	150	7.	59	124
8.	93	149	8.	59	124
9.	93	149	9.	59	125
10.	93	150	10.	59	124
11.	93	150	11.	59	123
12.	94	150	12.	60	123
13.	93	149	13.	60	123
14.	92	149	14.	60	123
15.	92	150	15.	60	122
16.	92	150	16.	60	123
17.	93	151	17.	60	123
18.	92	151	18.	60	124
19.	93	151	19.	59	124
20.	92	152	20.	59	124
Průměr	93,2	150,0	Průměr	59,6	123,7
SD	0,951	0,795	SD	0,605	0,671
CV %	1,02	0,53	CV%	1,02	0,54
CV_o	0,81		CV_R	0,82	

Příloha 5: HCT- opakovatelnost -20 měření každého vzorku během jednoho dne,
reprodukovatelnost - 20 měření v průběhu 20 dnů

Opakovatelnost			Reprodukovatelnost		
Č. měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Den	Kontrolní materiál 1	Kontrolní materiál 2
1.	0,288	0,460	1.	0,180	0,364
2.	0,289	0,465	2.	0,182	0,361
3.	0,289	0,460	3.	0,185	0,366
4.	0,290	0,460	4.	0,182	0,367
5.	0,288	0,460	5.	0,184	0,364
6.	0,292	0,466	6.	0,182	0,365
7.	0,291	0,468	7.	0,181	0,367
8.	0,290	0,466	8.	0,181	0,367
9.	0,288	0,464	9.	0,181	0,371
10.	0,291	0,468	10.	0,183	0,367
11.	0,293	0,467	11.	0,182	0,368
12.	0,294	0,464	12.	0,186	0,369
13.	0,294	0,469	13.	0,185	0,367
14.	0,293	0,470	14.	0,185	0,370
15.	0,293	0,469	15.	0,185	0,369
16.	0,294	0,470	16.	0,185	0,372
17.	0,294	0,468	17.	0,187	0,370
18.	0,293	0,468	18.	0,185	0,369
19.	0,296	0,463	19.	0,184	0,365
20.	0,297	0,466	20.	0,183	0,369
Průměr	0,292	0,466	Průměr	0,183	0,367
SD	0,003	0,003	SD	0,002	0,003
CV %	0,92	0,74	CV%	1,07	0,73
CV_O	0,83		CV_R	0,92	

Příloha 6: MCV – opakovatelnost - 20 měření každého vzorku během jednoho dne, reprodukovatelnost - 20 měření v průběhu 20 dnů

Opakovatelnost			Reprodukovatelnost		
Č. měření	Vzorek 1	Vzorek 2	Den	Kontrolní materiál 1	Kontrolní materiál 2
1.	97,3	89,5	1.	78,9	82,5
2.	97,3	89,8	2.	78,8	82,6
3.	98,0	90,0	3.	79,1	82,6
4.	98,3	90,2	4.	78,8	83,0
5.	98,0	90,2	5.	78,6	82,2
6.	98,3	90,5	6.	79,1	82,2
7.	98,0	90,5	7.	78,0	82,3
8.	98,3	91,0	8.	78,7	82,5
9.	98,6	91,2	9.	78,7	82,4
10.	99,0	91,1	10.	78,5	82,7
11.	100,0	91,2	11.	78,8	82,5
12.	99,7	91,2	12.	79,8	83,5
13.	99,7	91,4	13.	79,1	83,0
14.	99,7	91,4	14.	78,7	83,3
15.	100,0	91,6	15.	79,1	83,5
16.	100,3	91,6	16.	78,7	83,3
17.	100,3	91,8	17.	78,9	83,2
18.	101,0	92,1	18.	79,1	83,1
19.	101,0	92	19.	78,6	82,9
20.	101,4	91,7	20.	78,9	82,8
Průměr	99,2	91,0	Průměr	78,8	82,8
SD	1,259	0,760	SD	0,347	0,417
CV %	1,27	0,84	CV%	0,44	0,50
CV_O%	1,08		CV_R%	0,47	

Příloha 7: WBC - pravdivost - měření referenčního materiálu za podmínek opakovatelnosti

Číslo měření	Hodnota signálu ref. materiálu 1	Hodnota signálu ref. materiálu 2
1	3,09	12,31
2	3,09	12,11
3	3,10	12,17
4	3,09	11,94
5	3,15	12,02
6	3,07	11,89
7	2,99	11,61
8	3,04	11,55
9	3,06	11,74
10	3,15	11,95
Průměr	3,08	11,93
Cílová hodnota	3,03	11,50
Směrodatná odchylka	0,048	0,242
Koeficient variace %	1,55	2,03
Bias	1,75	3,73

Příloha 8: RBC – pravdivost - měření referenčního materiálu
za podmínek opakovatelnosti

Číslo měření	Hodnota signálu ref. materiálu 1	Hodnota signálu ref. materiálu 2
1	4,90	4,11
2	4,88	4,15
3	4,82	4,13
4	4,88	4,15
5	4,86	4,14
6	4,88	4,14
7	4,83	4,14
8	4,87	4,15
9	4,83	4,17
10	4,84	4,12
Průměr	4,86	4,14
Cílová hodnota	4,75	4,06
Směrodatná odchylka	0,027	0,017
Koeficient variace %	0,56	0,41
Bias	2,29	1,97

Příloha 9: PLT – pravdivost - měření referenčního materiálu
za podmínek opakovatelnosti

Číslo měření	Hodnota signálu ref. materiálu č. 1	Hodnota signálu ref. materiálu č. 2
1.	357	204
2.	366	200
3.	360	197
4.	362	194
5.	356	199
6.	363	201
7.	357	192
8.	344	186
9.	353	199
10.	353	197
Průměr	357,1	196,9
Cílová hodnota	365	183
Směrodatná odchylka	6,262	5,131
Koeficient variace %	1,75	2,61
Bias	-2,16	7,60

Příloha 10: HGB - pravdivost - měření referenčního materiálu podmínek opakovatelnosti

Číslo měření	Hodnota signálu ref. materiálu č. 1	Hodnota signálu ref. materiálu č. 2
1	144	115
2	144	115
3	143	115
4	143	115
5	143	114
6	142	115
7	142	114
8	143	114
9	142	114
10	141	114
Průměr	142,7	114,5
Cílová hodnota	142	114
Směrodatná odchylka	0,949	0,527
Koeficient variace %	0,66	0,46
Bias	0,49	0,44

Příloha 11: HCT – pravdivost - měření referenčního materiálu
za podmínek opakovatelnosti

Číslo měření	Hodnota signálu ref. materiálu č.1	Hodnota signálu ref. materiálu č.2
1	0,417	0,327
2	0,416	0,332
3	0,412	0,33
4	0,416	0,332
5	0,415	0,331
6	0,417	0,332
7	0,412	0,332
8	0,416	0,332
9	0,413	0,333
10	0,414	0,33
Průměr	0,415	0,331
Cílová hodnota	0,404	0,322
Směrodatná odchylka	0,002	0,002
Koeficient variace %	0,47	0,52
Bias	2,67	2,83

Příloha 12: MCV – pravdivost - měření referenčního materiálu
za podmínek opakovatelnosti

Číslo měření	Hodnota signálu ref. materiálu č. 1	Hodnota signálu ref. materiálu č. 2
1.	85,1	79,6
2.	85,2	80,0
3.	85,5	80,9
4.	85,2	80,0
5.	85,4	80,0
6.	85,5	80,2
7.	85,3	80,2
8.	85,4	80,0
9.	85,5	80,9
10.	85,5	80,1
Průměr	85,4	80,2
Cílová hodnota	85,4	79,6
Směrodatná odchylka	0,151	0,409
Koeficient variace %	0,18	0,51
Bias	-0,05	0,74

Příloha 13: Porovnání měření - zaváděný Sysmex XT-4000i

Se Sysmex XT-2000i, číslo měření 1-20

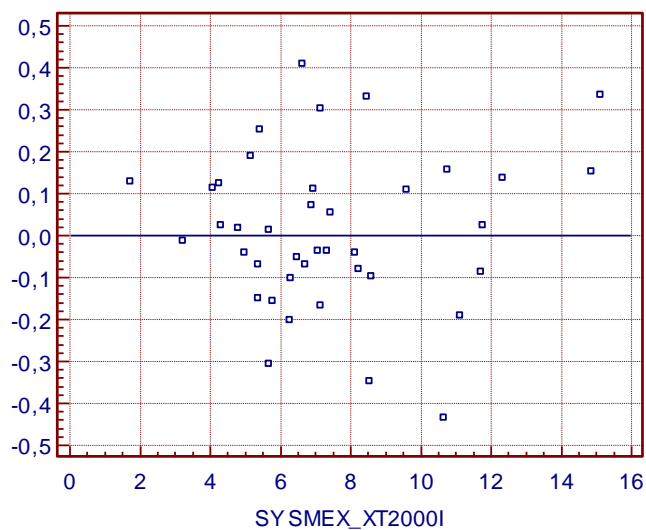
Číslo měření	WBC	WBC	RBC	RBC	PLT	PLT	HGB	HGB	HCT	HCT	MCV	MCV
	2000i	4000i	2000i	4000i	2000i	4000i	2000i	4000i	2000i	4000i	2000i	4000i
1.	8,13	8,15	5,00	5,07	215	178	142	148	0,422	0,431	91,3	85,0
2.	11,71	11,66	3,92	4,06	464	457	151	148	0,378	0,389	96,4	95,8
3.	7,33	7,36	4,36	4,46	143	150	141	138	0,392	0,400	89,9	89,7
4.	6,63	7,11	4,14	4,26	228	250	127	124	0,376	0,386	90,8	90,6
5.	14,86	15,03	5,97	6,11	232	224	177	173	0,537	0,548	89,9	89,7
6.	8,47	8,86	5,22	5,34	213	214	160	154	0,448	0,455	85,8	85,2
7.	7,43	7,55	5,48	5,61	154	144	165	161	0,475	0,487	86,7	86,8
8.	15,12	15,47	5,16	5,29	301	291	152	149	0,447	0,456	86,6	86,2
9.	5,69	5,46	3,36	3,50	127	138	109	108	0,329	0,341	97,9	97,4
10.	3,22	3,30	3,12	3,18	180	181	105	108	0,315	0,322	101,0	101,3
11.	6,93	7,11	5,13	5,19	262	251	139	135	0,418	0,422	81,5	81,3
12.	4,08	4,28	4,93	5,06	254	247	159	154	0,453	0,463	91,9	91,5
13.	4,32	4,43	4,92	5,06	179	177	134	131	0,392	0,401	79,7	79,2
14.	5,67	5,76	4,79	4,90	352	349	125	123	0,369	0,377	77,0	77,9
15.	7,15	7,52	4,58	4,59	173	166	161	157	0,463	0,455	101,1	99,1
16.	1,74	1,97	2,35	2,41	33	28	83	83	0,239	0,243	101,7	100,8
17.	5,41	5,74	4,56	4,67	110	105	143	140	0,419	0,428	91,9	91,6
18.	5,38	5,39	3,68	3,78	276	295	97	96	0,304	0,311	82,6	82,3
19.	10,66	10,27	4,04	4,12	1180	1212	102	100	0,322	0,329	79,7	79,9
20.	8,54	8,25	3,33	3,37	150	157	101	100	0,302	0,308	90,7	91,4

Příloha 14: Porovnání měření - zaváděný Sysmex XT-4000i

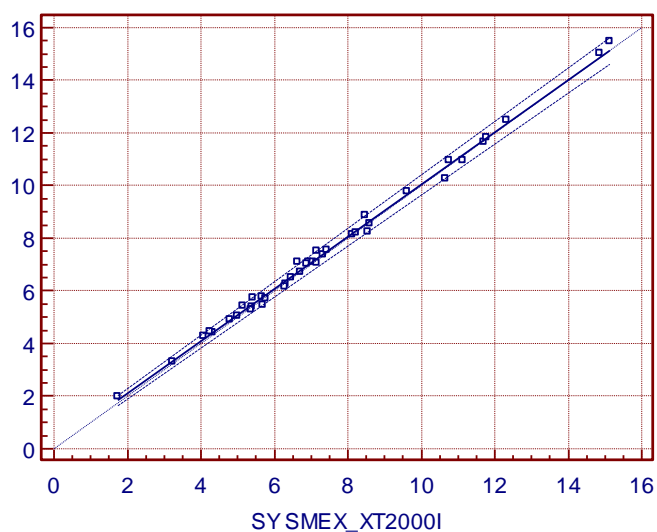
Se Sysmex XT-2000i, číslo měření 21-40

Číslo měření	WBC 2000i	WBC 4000i	RBC 2000i	RBC 4000i	PLT 2000i	PLT 4000i	HGB 2000i	HGB 4000i	HCT 2000i	HCT 4000i	MCV 2000i	MCV 4000i
21.	11,12	10,97	4,01	4,08	412	424	101	100	0,317	0,324	79,1	79,4
22.	11,77	11,83	3,84	3,95	380	407	117	114	0,347	0,357	90,4	90,4
23.	5,77	5,69	4,62	4,70	100	105	149	146	0,435	0,442	94,2	94,0
24.	7,06	7,09	5,22	5,34	280	304	126	123	0,394	0,406	75,5	76,0
25.	6,30	6,27	4,74	4,85	205	215	144	142	0,419	0,431	88,4	88,9
26.	4,80	4,90	3,76	3,82	246	254	122	120	0,368	0,374	97,9	97,9
27.	4,99	5,03	4,39	4,50	145	152	137	134	0,402	0,414	91,6	92,0
28.	6,70	6,70	4,16	4,24	202	214	138	134	0,414	0,425	99,5	100,2
29.	6,28	6,15	5,21	5,36	266	287	151	148	0,440	0,455	84,5	84,9
30.	8,60	8,56	3,96	4,06	176	186	119	118	0,348	0,357	87,9	87,9
31.	7,15	7,05	3,22	3,30	350	357	101	99	0,310	0,317	96,3	96,1
32.	8,22	8,20	3,44	3,57	261	276	100	97	0,319	0,332	92,7	93,0
33.	12,33	12,50	3,87	3,98	255	267	113	111	0,341	0,352	88,1	88,4
34.	6,47	6,49	5,10	5,14	263	265	161	158	0,452	0,461	88,6	89,7
35.	10,75	10,95	4,40	4,51	341	333	147	144	0,413	0,424	93,9	94,0
36.	6,89	7,03	5,34	5,51	287	294	151	148	0,439	0,451	82,2	81,9
37.	9,61	9,77	5,01	5,09	221	214	154	151	0,445	0,451	88,8	88,6
38.	4,25	4,46	4,66	4,80	325	329	144	140	0,417	0,428	89,5	89,2
39.	5,37	5,30	5,46	5,46	196	197	168	162	0,464	0,465	85,0	85,2
40.	5,15	5,42	3,85	3,96	210	214	119	118	0,367	0,376	95,3	94,9

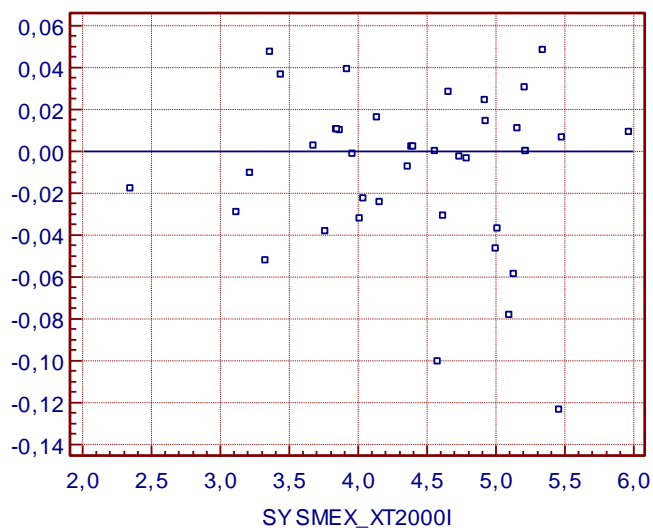
Příloha 15: WBC - Passing-Bablok regrese porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, graf spolehlivosti stanovení parametru WBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



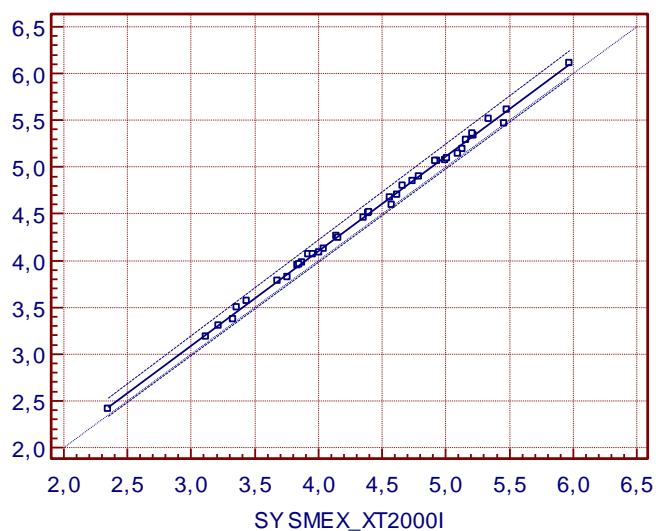
Příloha 16: WBC - Passing-Bablok regrese - porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, regresní přímka parametru WBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



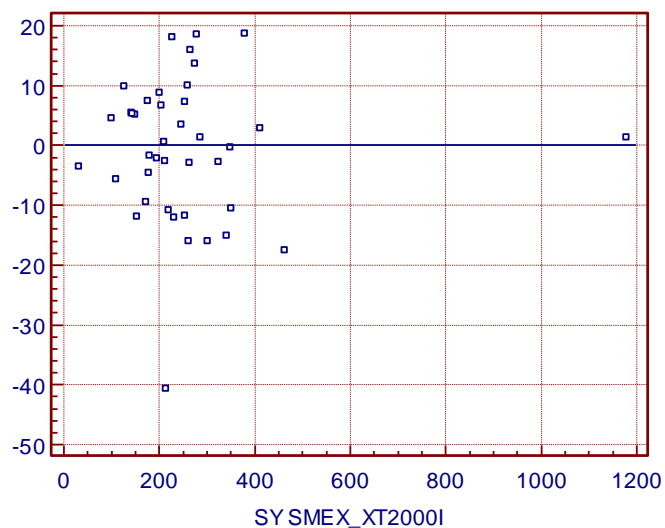
Příloha 17: RBC - Passing-Bablok regrese porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, graf spolehlivosti stanovení parametru RBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



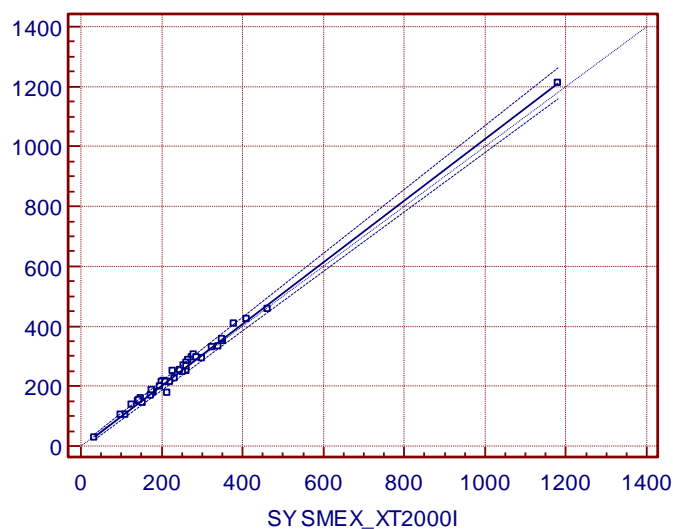
Příloha 18: RBC - Passing-Bablok regrese - porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, regresní přímka parametru RBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



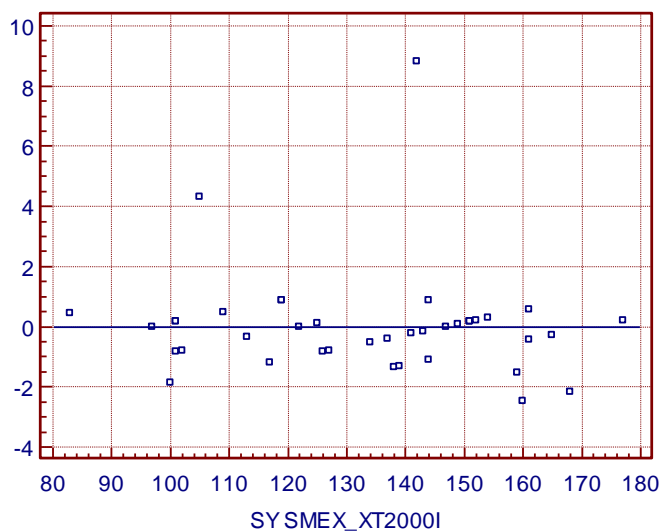
Příloha 19: PLT - Passing-Bablok regrese porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, graf spolehlivosti stanovení parametru PLT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



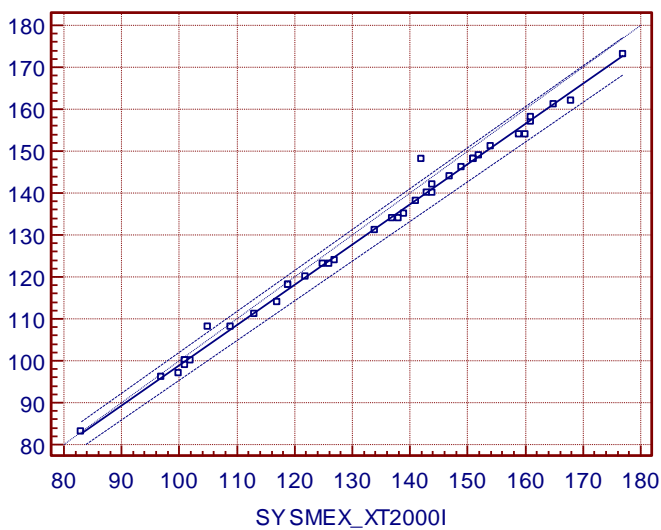
Příloha 20: PLT - Passing-Bablok regrese - porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, regresní přímka parametru PLT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



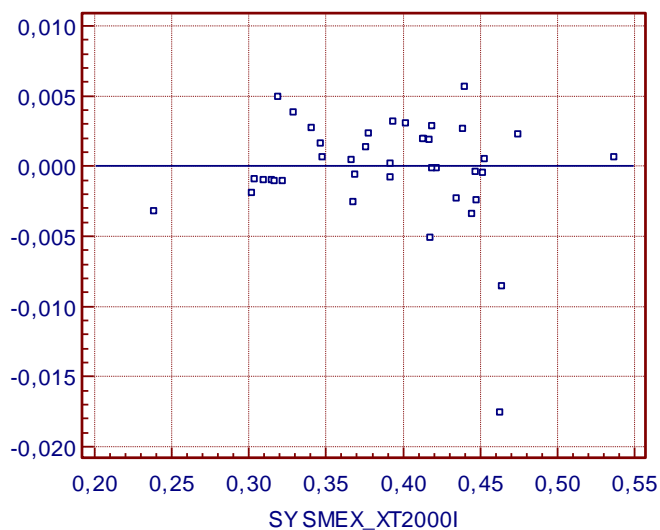
Příloha 21: HGB - Passing-Bablok regrese porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, graf spolehlivosti stanovení parametru HGB, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



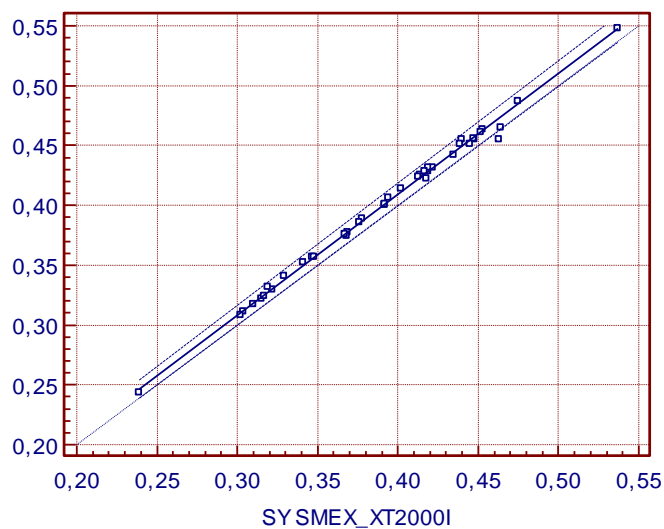
Příloha 22: HGB - Passing-Bablok regrese - porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, regresní přímka parametru HGB, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



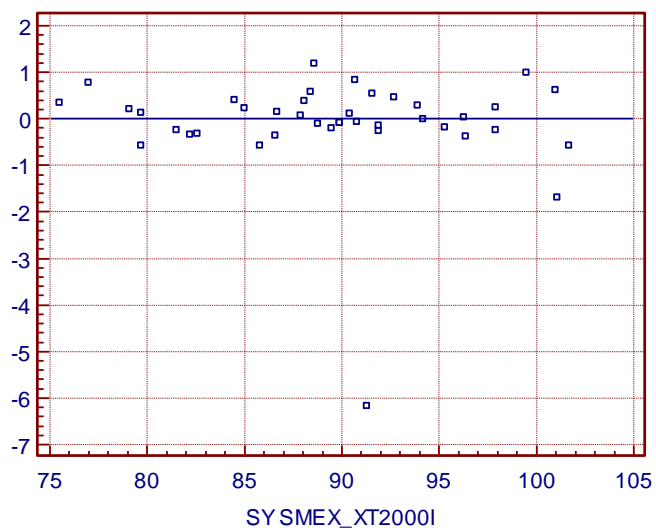
Příloha 23: HCT - Passing-Bablok regrese porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, graf spolehlivosti stanovení parametru HCT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



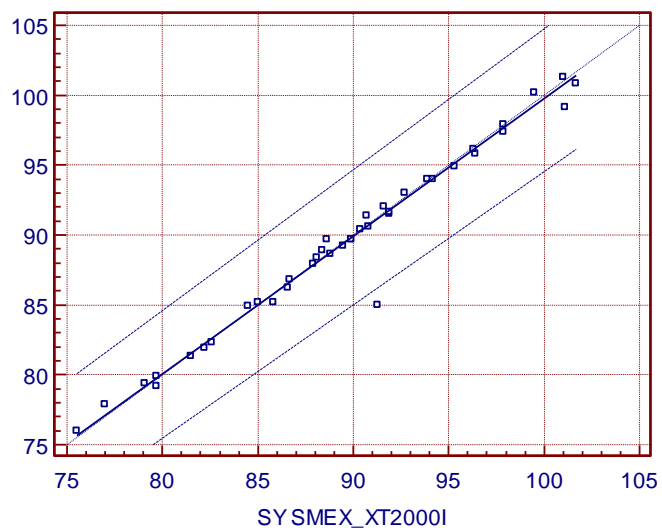
Příloha 24: HCT - Passing-Bablok regrese - porovnání měření Sysmex XT-4000i s Sysmex XT-2000i, regresní přímka parametru HCT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



Příloha 25: MCV - Passing-Bablok regrese porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, graf spolehlivosti stanovení parametru MCV, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



Příloha 26: MCV - Passing-Bablok regrese - porovnání měření Sysmex XT-4000i se Sysmex XT-2000i, regresní přímka parametru MCV, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



Příloha 27: Porovnání měření uzavřený mód 1 a otevřený mód 2

Sysmex XT-4000i, číslo měření 1-28

Č. měření	WBC 1	WBC 2	RBC 1	RBC 2	PLT 1	PLT 2	HGB 1	HGB 2	HCT 1	HCT 2	MCV 1	MCV 2
1.	1,67	1,80	1,53	1,49	13	7	42	47	0,132	0,144	61,5	61,8
2.	1,97	1,89	1,55	1,68	22	22	47	48	0,146	0,142	64,6	64,8
3.	1,98	1,98	1,90	1,90	49	45	53	53	0,175	0,175	64,8	64,3
4.	2,33	2,38	1,93	1,92	55	61	61	61	0,175	0,175	65,8	65,6
5.	2,38	2,45	2,07	2,05	60	59	63	63	0,191	0,187	66,8	66,8
6.	2,42	2,39	2,20	2,16	62	59	65	65	0,207	0,205	70,4	70,3
7.	2,55	2,59	2,32	2,31	65	67	65	66	0,208	0,207	70,6	70,5
8.	3,18	3,10	2,36	2,31	70	69	65	66	0,209	0,212	72,1	71,9
9.	3,34	3,40	2,37	2,37	79	70	66	67	0,218	0,217	72,7	72,6
10.	3,36	3,56	2,42	2,44	80	78	70	70	0,219	0,214	74,4	74,4
11.	3,37	3,25	2,46	2,50	81	84	70	71	0,219	0,217	75,3	75,4
12.	3,79	3,71	2,48	2,51	82	82	71	71	0,219	0,219	76,2	75,9
13.	3,97	4,02	2,50	2,54	82	82	71	71	0,219	0,221	76,5	76,6
14.	3,98	4,18	2,52	2,51	91	88	71	72	0,225	0,226	76,7	76,8
15.	4,00	3,93	2,52	2,52	96	96	73	74	0,225	0,227	76,8	76,2
16.	4,09	4,16	2,55	2,58	97	93	73	74	0,226	0,223	76,9	76,7
17.	4,09	4,00	2,57	2,55	100	100	74	73	0,228	0,230	77,5	77,5
18.	4,18	4,09	2,58	2,59	102	90	74	74	0,230	0,231	78,9	79,1
19.	4,22	4,14	2,58	2,60	106	109	76	75	0,231	0,228	79,5	79,6
20.	4,23	4,40	2,59	2,58	109	112	76	78	0,233	0,233	79,6	79,5
21.	4,24	4,59	2,59	2,61	114	109	77	77	0,233	0,235	80,1	80,4
22.	4,37	4,33	2,63	2,60	115	120	77	78	0,238	0,241	80,7	80,5
23.	4,39	4,55	2,65	2,67	116	125	77	78	0,240	0,239	80,8	80,8
24.	4,40	4,56	2,65	2,67	118	120	78	77	0,241	0,241	80,9	81,0
25.	4,42	4,54	2,72	2,70	127	120	78	77	0,243	0,241	81,0	80,7
26.	4,50	4,76	2,73	2,70	129	138	78	78	0,247	0,249	81,5	81,5
27.	4,53	4,47	2,74	2,77	134	141	80	81	0,252	0,253	81,6	81,4
28.	4,57	4,47	2,75	2,75	136	141	81	81	0,253	0,249	81,6	81,6

Příloha 28: Porovnání měření uzavřený mód 1 a otevřený mód 2

Sysmex XT-4000i, číslo měření 29-56

Č. měření	WBC 1	WBC 2	RBC 1	RBC 2	PLT 1	PLT 2	HGB 1	HGB 2	HCT 1	HCT 2	MCV 1	MCV 2
29.	4,62	4,76	2,75	2,76	137	127	82	82	0,253	0,252	81,7	81,7
30.	4,63	4,72	2,77	2,80	137	131	83	83	0,253	0,253	81,7	81,6
31.	4,67	4,78	2,80	2,83	140	142	83	83	0,253	0,256	81,8	81,9
32.	4,72	4,64	2,84	2,84	140	149	83	83	0,254	0,252	82,6	82,4
33.	4,83	4,90	2,87	2,93	143	137	83	84	0,257	0,257	82,6	82,4
34.	4,89	5,12	2,88	2,85	154	162	84	84	0,258	0,255	82,9	83,0
35.	4,91	5,14	2,89	2,89	157	159	84	84	0,258	0,260	83,0	83,2
36.	4,99	4,96	2,89	2,91	158	153	84	85	0,259	0,263	83,4	83,4
37.	5,03	5,22	2,93	2,92	161	153	85	85	0,260	0,258	83,5	83,7
38.	5,07	5,01	2,93	2,94	162	156	85	85	0,260	0,264	83,5	83,7
39.	5,11	5,07	2,97	2,99	162	158	86	86	0,261	0,257	83,6	83,3
40.	5,14	5,01	2,97	2,99	162	162	86	86	0,261	0,262	83,6	83,5
41.	5,15	5,15	2,98	2,96	163	161	86	86	0,262	0,260	83,6	82,7
42.	5,22	5,65	2,98	2,99	163	174	87	88	0,263	0,263	83,7	83,9
43.	5,36	5,52	3,04	3,02	164	161	87	89	0,263	0,264	83,7	83,6
44.	5,40	5,63	3,04	3,02	166	171	88	88	0,263	0,268	83,8	83,5
45.	5,40	5,70	3,08	3,09	170	176	88	88	0,263	0,269	83,9	83,8
46.	5,54	5,46	3,12	3,10	171	166	88	89	0,264	0,263	84,1	84,1
47.	5,63	5,54	3,15	3,16	172	177	89	89	0,265	0,268	84,3	84,0
48.	5,70	5,72	3,16	3,13	172	179	89	90	0,266	0,270	84,3	83,9
49.	5,73	5,95	3,16	3,21	174	169	90	90	0,267	0,268	84,4	84,2
50.	5,76	5,74	3,19	3,22	175	182	90	90	0,269	0,266	84,6	84,4
51.	5,82	5,82	3,20	3,17	177	168	90	91	0,273	0,273	84,7	84,5
52.	5,82	5,82	3,20	3,21	179	177	90	91	0,273	0,276	84,7	84,8
53.	5,83	5,85	3,21	3,17	181	180	91	90	0,273	0,279	84,8	84,6
54.	5,84	5,73	3,21	3,22	184	181	91	91	0,274	0,273	84,8	84,8
55.	5,93	5,85	3,21	3,27	184	193	92	93	0,282	0,281	84,9	84,8
56.	6,08	6,32	3,23	3,32	187	179	93	93	0,282	0,282	85,1	85,0

Příloha 29: Porovnání měření uzavřený mód 1 a otevřený mód 2

Sysmex XT-4000i, číslo měření 57-84

Č. měření	WBC 1	WBC 2	RBC 1	RBC 2	PLT 1	PLT 2	HGB 1	HGB 2	HCT 1	HCT 2	MCV 1	MCV 2
57.	6,30	6,24	3,24	3,29	188	183	93	94	0,285	0,286	85,2	85,2
58.	6,38	6,68	3,24	3,32	188	186	94	94	0,285	0,290	85,2	85,7
59.	6,49	6,62	3,25	3,24	191	197	94	95	0,288	0,289	85,3	85,0
60.	6,52	6,46	3,26	3,33	195	197	94	96	0,289	0,287	85,9	86,0
61.	6,53	6,58	3,28	3,26	199	197	95	95	0,292	0,291	85,9	85,7
62.	6,70	6,96	3,29	3,30	200	192	96	94	0,294	0,295	85,9	86,1
63.	6,76	7,01	3,31	3,28	201	195	96	96	0,295	0,292	86,0	86,0
64.	6,82	7,25	3,35	3,37	201	198	96	96	0,295	0,295	86,1	86,0
65.	6,86	6,87	3,37	3,35	201	204	97	97	0,297	0,291	86,2	89,1
66.	6,87	7,25	3,37	3,40	203	203	98	99	0,297	0,294	86,3	85,9
67.	6,91	7,12	3,38	3,38	206	200	99	99	0,297	0,299	86,5	86,5
68.	6,98	7,19	3,40	3,37	209	217	99	99	0,300	0,299	86,8	86,4
69.	7,08	7,12	3,40	3,37	210	206	100	101	0,304	0,302	86,8	87,0
70.	7,21	7,04	3,44	3,43	210	207	101	101	0,306	0,305	86,8	86,5
71.	7,21	7,26	3,45	3,40	211	214	103	103	0,306	0,316	87,0	87,1
72.	7,21	7,29	3,49	3,50	212	209	103	104	0,307	0,306	87,0	86,9
73.	7,25	7,55	3,50	3,53	212	221	103	102	0,307	0,307	87,1	87,2
74.	7,40	7,22	3,52	3,54	213	219	104	104	0,309	0,311	87,1	87,0
75.	7,42	7,40	3,53	3,58	214	208	104	105	0,313	0,311	87,2	86,7
76.	7,43	7,69	3,56	3,56	215	205	104	106	0,314	0,315	87,8	87,4
77.	7,45	7,39	3,59	3,59	215	214	105	105	0,315	0,319	87,9	87,8
78.	7,46	7,14	3,59	3,60	216	213	105	106	0,315	0,319	88,0	88,3
79.	7,48	8,16	3,63	3,67	216	214	105	109	0,316	0,320	88,1	87,9
80.	7,49	7,75	3,65	3,62	217	213	106	106	0,316	0,368	88,2	88,2
81.	7,51	7,93	3,69	3,67	218	222	107	107	0,318	0,318	88,3	87,7
82.	7,51	7,30	3,69	3,71	223	215	107	109	0,320	0,317	88,6	88,1
83.	7,66	7,56	3,70	3,68	224	230	108	109	0,320	0,319	88,6	88,3
84.	7,67	7,66	3,73	3,71	226	223	110	109	0,321	0,321	88,8	88,5

Příloha 30: Porovnání měření uzavřený mód 1 a otevřený mód 2

Sysmex XT-4000i, číslo měření 85-112

Č. měření	WBC 1	WBC 2	RBC 1	RBC 2	PLT 1	PLT 2	HGB 1	HGB 2	HCT 1	HCT 2	MCV 1	MCV 2
85.	7,69	7,87	3,74	3,72	226	226	110	109	0,326	0,322	88,8	88,4
86.	7,78	7,69	3,76	3,76	226	232	110	112	0,334	0,328	88,9	89,2
87.	7,80	8,00	3,78	4,45	228	223	111	128	0,334	0,335	88,9	88,9
88.	8,00	8,44	3,79	3,73	230	223	112	112	0,336	0,333	88,9	88,9
89.	8,05	7,76	3,80	3,79	231	230	112	112	0,339	0,342	89,0	88,8
90.	8,09	7,91	3,82	3,85	232	230	113	112	0,340	0,338	89,0	88,3
91.	8,28	8,49	3,83	3,86	233	218	113	114	0,340	0,339	89,1	89,1
92.	8,33	8,11	3,86	3,84	234	235	113	115	0,343	0,342	89,2	88,9
93.	8,33	8,67	3,91	4,03	236	234	114	114	0,343	0,346	89,2	89,1
94.	8,40	8,23	3,94	3,91	236	239	115	114	0,346	0,344	89,5	89,5
95.	8,44	8,64	3,94	3,91	237	235	116	116	0,346	0,347	89,5	89,5
96.	8,48	8,49	3,96	3,95	238	235	116	118	0,347	0,348	89,9	89,6
97.	8,61	8,35	3,97	4,00	241	238	117	117	0,348	0,356	89,9	90,1
98.	8,71	9,28	3,98	3,97	244	258	117	117	0,351	0,354	90,0	90,1
99.	8,77	8,79	3,99	3,98	245	244	117	118	0,354	0,353	90,2	90,2
100.	8,81	8,67	4,03	4,00	246	246	118	118	0,355	0,358	90,2	90,3
101.	8,94	8,89	4,03	4,07	247	247	118	118	0,356	0,356	90,3	90,0
102.	8,97	8,87	4,05	4,07	249	242	118	118	0,356	0,355	90,4	90,2
103.	8,98	8,95	4,15	4,16	249	246	119	118	0,358	0,357	90,4	90,5
104.	9,03	9,09	4,15	4,25	249	255	120	119	0,359	0,358	90,5	90,5
105.	9,08	9,36	4,15	4,13	250	254	121	121	0,361	0,363	90,6	90,8
106.	9,10	9,46	4,17	4,23	251	254	122	122	0,361	0,359	90,7	91,1
107.	9,21	9,55	4,20	4,19	253	246	122	122	0,363	0,367	90,9	90,8
108.	9,31	9,58	4,20	4,21	257	254	125	126	0,364	0,361	91,2	91,2
109.	9,39	9,34	4,22	4,21	260	253	125	127	0,367	0,366	91,2	91,1
110.	9,40	9,49	4,26	4,24	261	261	126	125	0,372	0,376	91,3	91,1
111.	9,42	9,15	4,27	4,23	264	250	126	125	0,375	0,379	91,5	91,2
112.	9,51	9,63	4,30	4,28	266	254	127	127	0,376	0,378	91,6	91,5

Příloha 31: Porovnání měření uzavřený mód 1 a otevřený mód 2

Sismex XT-4000i, číslo měření 113-140

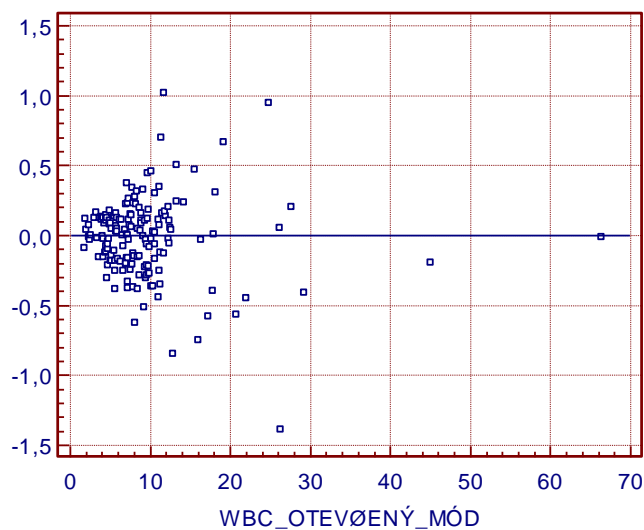
Č. měření	WBC 1	WBC 2	RBC 1	RBC 2	PLT 1	PLT 2	HGB 1	HGB 2	HCT 1	HCT 2	MCV 1	MCV 2
113.	9,53	9,86	4,38	4,38	270	278	128	127	0,378	0,377	91,6	91,8
114.	9,59	9,92	4,40	4,37	274	270	128	129	0,379	0,376	91,7	92,1
115.	9,59	9,87	4,41	4,42	275	277	128	127	0,381	0,377	91,7	91,9
116.	9,74	10,16	4,44	4,43	276	286	129	129	0,383	0,382	91,9	91,6
117.	9,80	9,94	4,54	4,60	277	280	130	130	0,386	0,384	91,9	91,8
118.	9,81	9,75	4,60	4,63	277	291	131	131	0,387	0,390	92,0	91,6
119.	9,91	9,78	4,61	4,63	279	282	132	131	0,389	0,390	92,1	92,3
120.	9,94	10,36	4,62	4,65	286	288	132	133	0,391	0,388	92,1	91,9
121.	10,04	10,12	4,64	4,77	287	297	134	134	0,391	0,395	92,1	92,1
122.	10,13	9,74	4,66	4,67	288	287	134	134	0,395	0,392	92,2	92,3
123.	10,32	10,35	4,78	4,79	294	299	134	136	0,399	0,396	92,2	92,2
124.	10,36	10,59	4,79	4,85	301	310	134	133	0,400	0,399	92,4	92,3
125.	10,51	10,63	4,79	4,79	311	313	135	135	0,401	0,401	92,4	92,4
126.	10,52	10,56	4,80	4,79	311	353	135	135	0,402	0,401	92,6	92,6
127.	10,52	11,02	4,80	4,81	315	287	137	139	0,402	0,401	92,6	92,6
128.	10,60	10,20	4,80	4,83	315	317	138	137	0,406	0,405	92,8	93,0
129.	10,84	10,60	4,80	4,85	315	320	140	140	0,406	0,426	92,8	92,7
130.	10,88	11,19	4,81	4,81	317	320	140	141	0,407	0,406	92,9	93,0
131.	10,91	11,32	4,81	4,88	326	328	141	142	0,407	0,407	93,0	93,3
132.	11,06	11,24	4,82	4,87	328	326	142	142	0,407	0,409	93,3	93,0
133.	11,09	11,04	4,83	4,71	331	337	143	142	0,411	0,414	93,4	93,6
134.	11,15	11,14	4,85	4,87	341	317	144	144	0,412	0,411	93,7	93,4
135.	11,45	11,16	4,85	4,90	343	331	145	145	0,412	0,427	94,0	93,6
136.	11,52	11,71	4,86	4,86	345	347	145	149	0,414	0,423	94,2	94,3
137.	11,59	11,49	4,87	4,91	352	354	147	146	0,416	0,419	94,4	93,9
138.	11,98	12,89	4,88	4,99	356	351	147	147	0,422	0,424	94,7	95,2
139.	12,00	11,92	4,90	4,89	365	306	147	148	0,423	0,435	95,1	94,8
140.	12,02	11,91	4,93	4,91	372	379	148	149	0,426	0,426	95,4	95,1

Příloha 32: Porovnání měření uzavřený mód 1 a otevřený mód 2

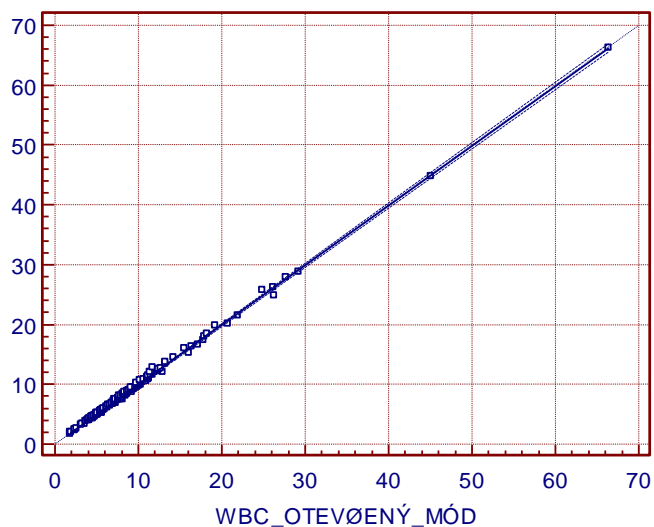
Sysmex XT-4000i, číslo měření 141-186

Č. měření	WBC 1	WBC 2	RBC 1	RBC 2	PLT 1	PLT 2	HGB 1	HGB 2	HCT 1	HCT 2	MCV 1	MCV 2
141.	12,03	11,39	4,96	4,93	372	386	150	150	0,427	0,430	95,4	95,3
142.	12,20	12,29	4,96	4,95	377	353	152	152	0,429	0,430	95,6	96,0
143.	12,31	12,43	4,97	4,95	385	380	152	152	0,431	0,433	95,6	95,8
144.	12,43	12,39	4,99	5,10	389	353	152	153	0,431	0,470	95,7	95,8
145.	12,47	12,48	5,00	5,11	389	396	153	155	0,434	0,434	96,3	96,8
146.	12,49	12,35	5,04	5,07	396	407	154	154	0,435	0,445	96,6	96,7
147.	12,66	12,68	5,05	5,06	404	395	155	154	0,438	0,440	96,7	96,6
148.	12,75	11,79	5,09	5,08	406	413	156	157	0,442	0,448	97,1	97,5
149.	13,45	13,27	5,12	5,13	420	436	158	158	0,443	0,440	97,4	97,9
150.	13,74	13,30	5,12	5,15	432	427	158	172	0,443	0,451	97,5	98,1
151.	14,45	14,28	5,15	5,18	434	420	159	161	0,444	0,443	98,7	99,1
152.	15,24	16,06	5,16	5,16	444	428	162	161	0,446	0,450	99,0	98,7
153.	15,93	15,53	5,22	5,20	447	439	163	165	0,451	0,454	99,1	98,6
154.	16,30	16,40	5,23	5,19	449	446	164	165	0,466	0,465	99,2	98,8
155.	16,57	17,22	5,27	5,30	454	452	166	166	0,468	0,469	99,2	99,2
156.	17,32	17,79	5,29	5,77	467	458	166	167	0,481	0,478	99,5	99,1
157.	17,90	17,97	5,35	5,56	471	435	167	167	0,481	0,478	99,6	99,6
158.	18,46	18,23	5,40	5,46	475	472	167	168	0,481	0,486	100,0	99,8
159.	19,80	19,21	5,44	5,45	483	498	168	167	0,482	0,481	100,0	100,0
160.	20,10	20,75	5,51	5,49	508	506	170	172	0,493	0,495	100,0	99,7
161.	21,44	21,97	5,59	5,65	522	523	172	172	0,493	0,500	100,4	100,0
162.	24,78	26,26	5,60	5,59	533	461	174	180	0,499	0,517	101,9	101,9
163.	25,71	24,85	5,68	5,79	573	563	175	176	0,508	0,520	102,2	102,2
164.	26,16	26,20	5,71	5,83	621	620	176	176	0,512	0,512	102,4	102,4
165.	27,78	27,67	5,76	5,71	623	617	177	178	0,519	0,538	103,8	105,7
166.	28,78	29,29	5,83	6,06	642	648	178	185	0,525	0,534	105,3	105,3
167.	44,73	45,06	5,87	6,01	712	740	180	189	0,528	0,529	105,3	105,2
168.	66,22	66,41	5,94	5,93	835	809	181	185	0,563	0,561	121,4	121,0

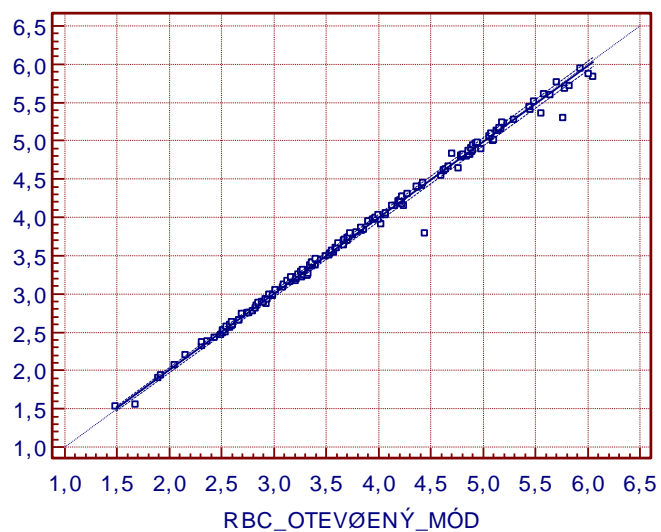
Příloha 33: WBC-Passing-Bablok regrese porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, graf spolehlivosti stanovení parametru WBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



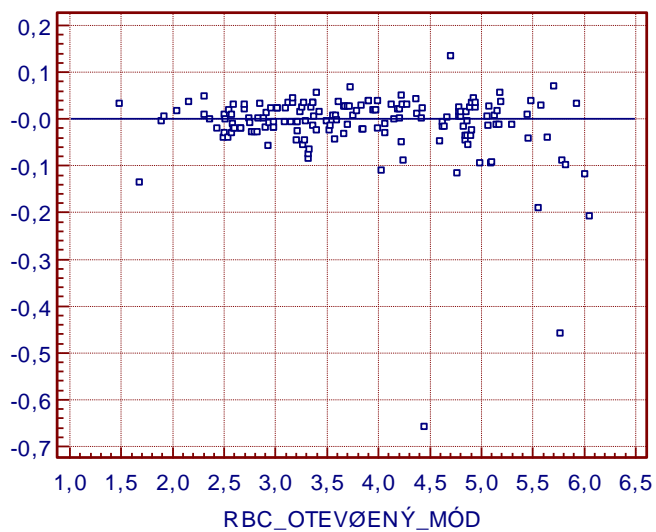
Příloha 34: WBC - Passing-Bablok regrese - porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, regresní přímka parametru WBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



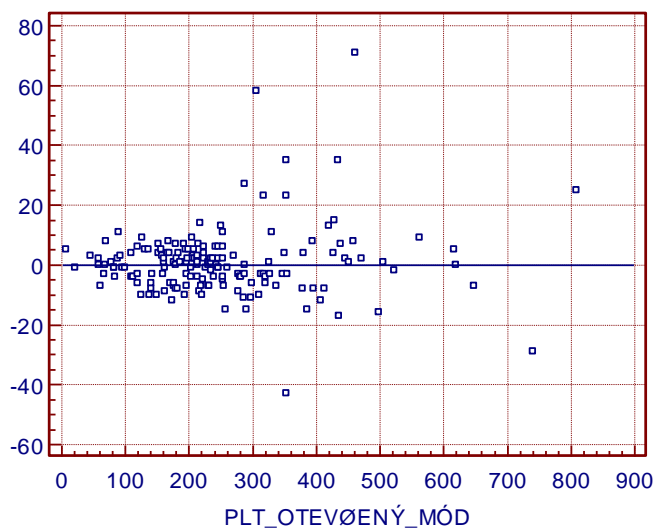
Příloha 35: RBC-Passing-Bablok regrese porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, graf spolehlivosti stanovení parametru RBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



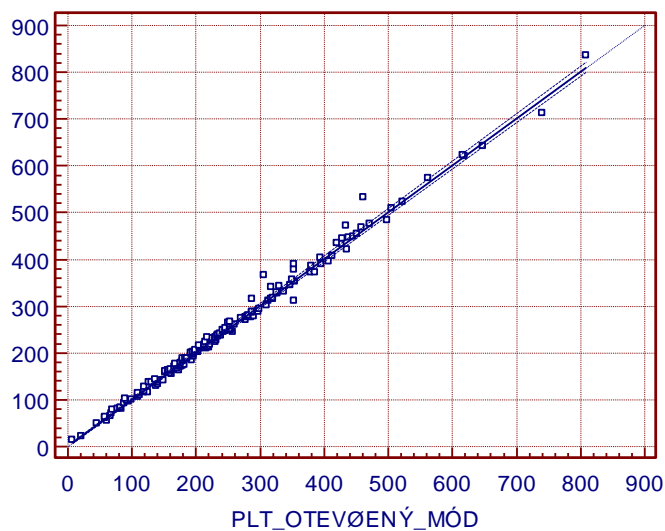
Příloha 36: RBC - Passing-Bablok regrese - porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, regresní přímka parametru RBC, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



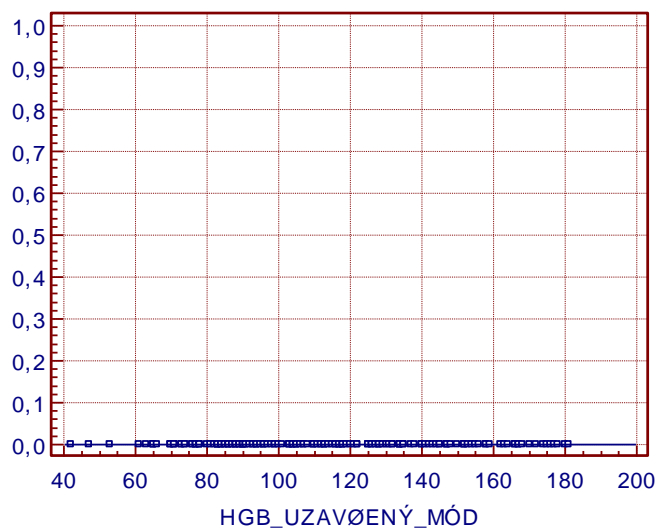
Příloha 37: PLT- Passing-Bablok regrese porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, graf spolehlivosti stanovení parametru PLT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



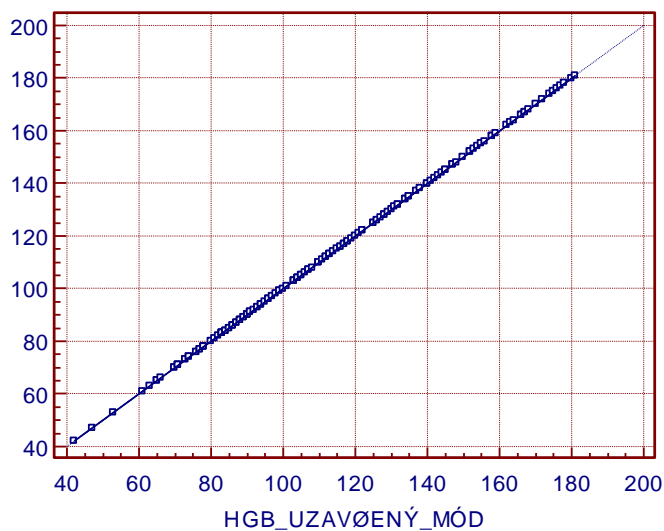
Příloha 38: PLT - Passing-Bablok regrese - porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, regresní přímka parametru PLT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



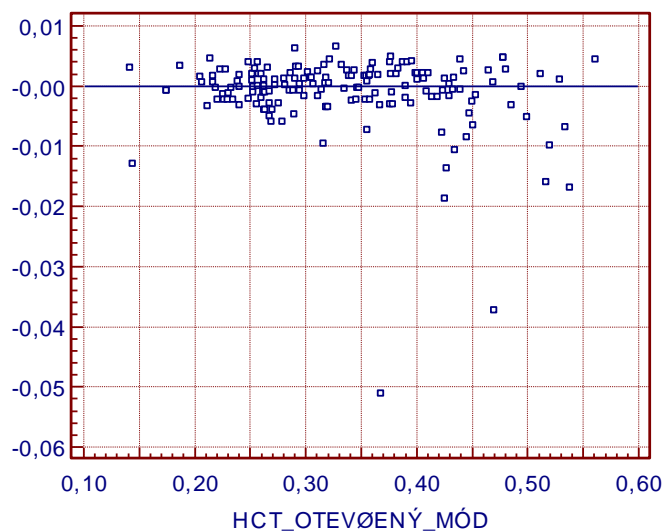
Příloha 39: HGB-Passing-Bablok regrese porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, graf spolehlivosti stanovení parametru HGB, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



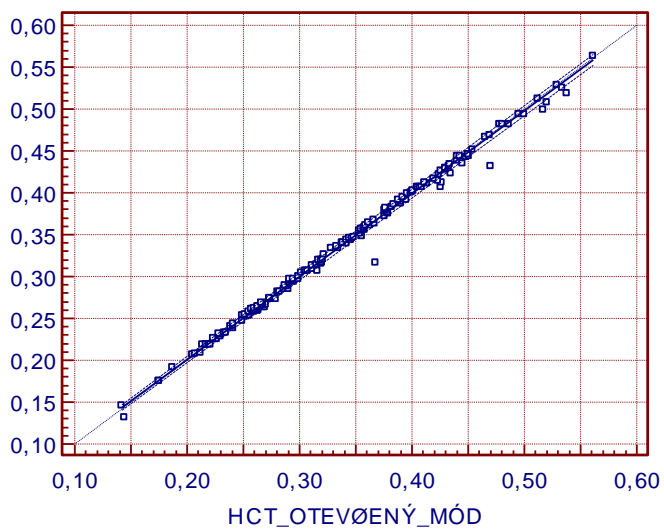
Příloha 40: HGB - Passing-Bablok regrese - porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, regresní přímka parametru HGB, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



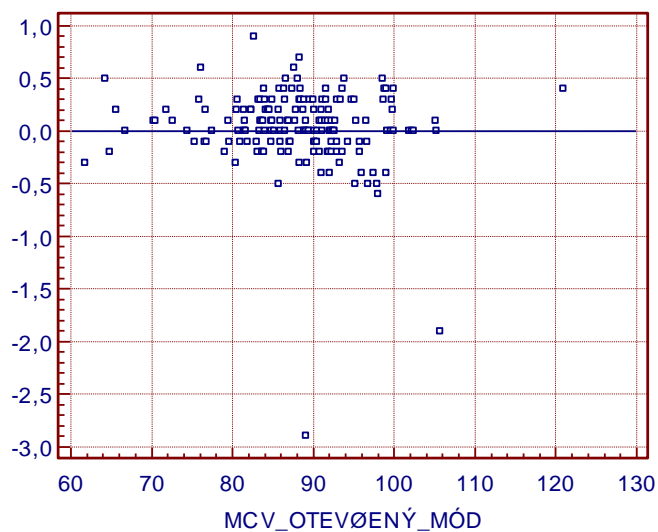
Příloha 41: HCT - Passing-Bablok regrese porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, graf spolehlivosti stanovení parametru HCT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



Příloha 42: HCT - Passing-Bablok regrese - porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, regresní přímka parametru HCT, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc.



Příloha 43: MCV-Passing-Bablok regrese porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, graf spolehlivost stanovení parametru MCV, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc



Příloha 44: MCV - Passing-Bablok regrese - porovnání měření uzavřený mód a otevřený mód Sysmex XT-4000i, regresní přímka parametru MCV, vyhodnoceno pomocí programu MedCalc

