

**Bogumiła Hajdrowska¹, Eusebio Makandiou-Ola¹,
Piotr Kuna², Mirosława Pietruczuk¹**

¹ Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej UM Łódź

² Klinika Pneumonologii i Alergologii Instytutu Medycyny Wewnętrznej UM w Łodzi

Przegląd błędów fazy przedanalizycznej, analizycznej i poanalizycznej na przykładzie oznaczania antygenu HBs i przeciwciał anti-HCV

Streszczenie

Na jakość uzyskiwanych wyników, niezależnie od rodzaju zastosowanej metody analizycznej mają wpływ błędy popełniane w poszczególnych etapach procesu diagnostycznego. W ostatnich kilku dekadach pracy medycznego laboratorium diagnostycznego doszło do znacznego zmniejszenia błędów metodycznych, co spowodowało większe zainteresowanie błędami występującymi w fazie przedanalizycznej i poanalizycznej.

Celem pracy jest przegląd błędów w fazie przedanalizycznej, analizycznej i poanalizycznej występujących w medycznym laboratorium diagnostycznym związanych z wykrywaniem antygenu HBs i przeciwciał anti-HCV.

Przedmiotem analizy były błędy zarejestrowane podczas pobierania materiału, przeprowadzania analizy i wydawania sprawozdań z badań, oznaczania antygenu HBs i przeciwciał anti-HCV, zlecanych przez lekarzy Poradni Podstawowej i Wielospecjalistycznej Opieki Zdrowotnej. W pracy przedstawiono wykazy błędów fazy przedanalizycznej, analizycznej i poanalizycznej zarejestrowane w okresie od 2008 do 2014, w czasie którego wykonano 8100 oznaczeń wyżej wymienionych parametrów. Badania wykonano na analizatorze Elecsys 2010 firmy Roche metodą elektrochemiluminescencji.

Obliczono odsetek błędów popełnianych w poszczególnych fazach, który stanowił dla wszystkich faz 0,39%, w fazie przedanalizycznej 0,18%, w fazie analizycznej 0,11 i w fazie poanalizycznej 0,10% na 8100 oznaczeń.

Pomimo tego, że trudno jest ocenić przez medyczne laboratorium diagnostyczne wpływ stwierdzonych błędów na decyzje kliniczne, to wykazanie ich zwróciło uwagę na obszary w laboratorium, które wymagają doskonalenia.

Słowa kluczowe: błędy fazy przedanalizycznej, błędy fazy analizycznej, błędy fazy poanalizycznej

Wstęp

Medycyna laboratoryjna jest obecnie integralną częścią medycyny klinicznej, logiczne więc jest, że reguły EBM (*Evidence-Based Medicine*) odgrywają ważną rolę w racjonalnym używaniu testów laboratoryjnych (Muller 2008).

Evidence Based Laboratory Medicine (EBLM) scala rozpoznanie problemu klinicznego związanego ze stanem pacjenta, decyzję diagnostyczną i wyniki postępowania diagnostyczno- terapeutycznego w postaci korzyści zdrowotnych. (Muller 2008, Price 2003).

Dostarcza wiarygodnych informacji na temat przydatności testów laboratoryjnych w rozwiązywaniu problemów diagnostycznych, prognostycznych lub terapeutycznych (Solnica 2000).

Test diagnostyczny jest częścią interakcji pomiędzy lekarzem a pacjentem, co ilustruje schemat:

Problem kliniczny -----> Test diagnostyczny -----> Decyzja -----> Działanie
(Price, Christenson 2011).

W chwili obecnej jedynymi dostępnymi wytycznymi, które określają zasady postępowania i wskaźniki jakości w medycznych laboratoriach diagnostycznych są obowiązujące od 21.01.2009 standardy jakości dla medycznych laboratoriów oraz możliwość akredytowania medycznych laboratoriów diagnostycznych zgodnie z normą PN-EN ISO 15189: 2013. Według w/w normy wymaganiem jest to, że „Kierownictwo laboratorium powinno wdrożyć wskaźniki jakości dla systematycznego monitorowania i oceny udziału laboratorium w opiece nad pacjentem” (norma PN-EN ISO15189:2013) (Gerand 2011).

Polskie Centrum Akredytacji udziela akredytacji w odniesieniu do wymagań normy PN-EN ISO 15189:2013 na usługi laboratoryjne (w zakresie opieki nad pacjentem), obejmujące badanie próbek klinicznych materiału pochodzenia ludzkiego, wykonywane łącznie z procedurami przedanalizycznymi i poanalizycznymi, świadczonymi przez laboratoria medyczne.

Rozwój technologiczny w dziedzinie immunochemicznej diagnostyki serologicznej zakażeń był w ostatnich latach bardzo dynamiczny. Najważniejszymi i łatwymi do zaobserwowania zmianami jest zwiększona czułość testów i w ślad za tym idąca możliwość coraz wcześniejszego wykrywania zakażeń. Wysoka czułość analityczna metod immunochemicznych pozwalająca na wykrywanie bardzo niewielkich stężeń czynników zakaźnych stawia jednak coraz większe wymagania co do standardów jakości stosowanych testów. Stąd wiodąca potrzeba określenia ilości popełnianych błędów w zakresie rutynowo stosowanych metod immunologicznych do diagnostyki zakażeń wirusowych.

Na jakość uzyskiwanych wyników niezależnie od rodzaju metody analitycznej ma istotny wpływ przebieg fazy przedanalizycznej. Zgodnie z definicją ISO 15189 faza ta rozpoczyna się od momentu zlecenia badania przez lekarza i obejmuje przygotowanie pacjenta, pobranie próbki pierwotnej, zebrania informacji o pacjencie, transport materiału do badań, sposób oznakowania próbki, przyjęcie próbki do laboratorium i przygotowania jej do analizy i kończy się w momencie rozpoczęcia analizy. W ostatnich kilku dekadach pracy laboratoryjnej obserwuje się znaczne zmniejszenie odsetka błędów ana-

litycznych, co pozwoliło na zwrócenie większej uwagi na zmienność związaną z fazą przedanalityczną i fazą poanalityczną.

Powszechnie stosowane metody immunochemiczne charakteryzują się zróżnicowaną czułością i swoistością i w różny sposób mogą być wrażliwe na zmienne warunki przedanalityczne, różnorodność stosowanego materiału referencyjnego, przeciwciał, roztworów buforowych i roztworów służących do rozcieńczania. Istotny wpływ na wynik badania mogą mieć również białka występujące w surowicy osób chorych, a podobieństwa w strukturze antygeny mogą być przyczyną reakcji krzyżowych. Nawet sam rodzaj stosowanego systemu do pobierania krwi może mieć duże znaczenie dla uzyskania wiarygodnego wyniku (probówka szklana lub plastikowa; różne rodzaje antykoagulantów i żele separujące). Cztery najbardziej znane w oznaczaniu antygenów HBs i przeciwciał anti-HCV, przyczyny endogennej interferencji (hemoliza, bilirubinemia, lipemia i paraproteinemia) są z reguły brane pod uwagę przy interpretacji wyników oznaczeń metodami immunochemicznymi, choć mogą nie być tak znaczące, jak inne czynniki (Sztefko 2001, Junger 2010).

Szacuje się, że prawie 40% populacji posiada przeciwciała heterofilne, anty-zwierzęce i autoprzeciwciała (Sztefko 2002). Przeciwciała obecne w surowicy pacjenta mogą interferować w metodach immunochemicznych poprzez działanie jako wewnętrzne odbicie antygeny, naśladujące jego wiązanie i funkcje w miejscu łączenia, rozpoznając i wiążąc antygen, mogą pełnić rolę ligandu lub interferując w miejscu wiązania działać jako przeszkoda w reakcji wiązania antygeny z przeciwciałem (Sztefko 2007).

Z wymienionych wyżej powodów celem przedstawionej pracy był przegląd błędów w fazie przedanalitycznej, analitycznej i poanalitycznej związanych z metodami immunochemicznymi na przykładzie oznaczania antygeny HBs i przeciwciał anti-HCV w medycznym laboratorium diagnostycznym. Parametry te wytypowano ze względu na to, że są wskazane zgodnie z Rekomendacją Polskiej Grupy Ekspertów „Diagnostyka Laboratoryjna zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu C” jako testy przesiewowe w diagnostyce wirusowego zapalenia wątroby.

Materiał i metody

Wykazy błędów faz: przedanalitycznej, analitycznej i poanalitycznej przygotowano w oparciu o:

- publikację W.G. Guder, S. Narayanan, H. Wisse, B. Zawita *Próbki: od pacjenta do laboratorium* MedPharm Polska 2009
- wymagania normy PN EN ISO 15189:2008 *Laboratoria medyczne Szczególne wymagania dotyczące jakości i kompetencji*
- rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych (Dz. U. Nr 61, poz. 435 ze zm.)

1. Faza przedanalizyczna

Wykaz błędów fazy przedanalizycznej zawierał następujące obszary:

- formularz skierowania na badania laboratoryjne
- pobieranie próbek do badań laboratoryjnych
- transport próbek do laboratorium
- postępowanie z próbkami pierwotnymi
- przygotowanie próbek do analizy
- komunikacja interpersonalna

Materiał badany w fazie przedanalizycznej stanowiły:

- papierowa wersja formularzy skierowań na badania laboratoryjne na obecność antygeny HBs i przeciwciał anti-HCV, zlecane przez lekarzy Poradni Podstawowej i Wielospecjalistycznej Opieki Zdrowotnej
- krew żylna pobrana od pacjentów Poradni Podstawowej i Wielospecjalistycznej Opieki Zdrowotnej do diagnostyki serologicznej wirusowego zapalenia wątroby (wzw)

Krew do badań pobierano w siedzibie Laboratorium oraz w punktach pobrań zlokalizowanych w odległości nie przekraczającej 10 km.

Krew do badań pobierano z żyły łokciowej do probówek z wykrzepiaczem firmy Profilab w ilości 4ml na podstawie skierowań lekarzy, po identyfikacji danych pacjenta (imię, nazwisko, PESEL). Skierowanie i probówkę oznaczano kodem paskowym. Krew pobierali fachowi pracownicy laboratorium, posiadający wieloletnie doświadczenie, którzy regularnie są szkoleni w zakresie pobierania, identyfikacji i przygotowania materiału do badań laboratoryjnych. Z punktów pobrań materiał do badań laboratoryjnych dostarczany był w czasie nie dłuższym niż 2 godziny, w izolowanych termicznie torbach, w zamkniętych korkiem probówkach. Temperatura transportu nie przekraczała 10°C w okresie letnim i nie spadała poniżej 4°C w okresie zimowym. Po dostarczeniu materiału do laboratorium, na podstawie kodu na skierowaniu, dane pacjenta i zleczone badania były wprowadzane do Laboratoryjnego Systemu Informatycznego. Celem uzyskania surowicy próbki krwi były odwirowywane przez 10 minut przy 3000 obrotów w wirówkach typ MPW 221. Probówki po odwirowaniu umieszczane były na pokładzie analizatora Elecsys 2010.

- dane dotyczące pacjenta i materiału do badań z Laboratoryjnego Systemu Informatycznego
- lista błędów fazy przedanalizycznej, które wystąpiły w Laboratorium

2. Faza analityczna

Wykaz błędów fazy analitycznej zawierał następujące obszary:

- błędy związane z pracą personelu (przestawienie próbki, pomylenie próbki pierwotnej, nie wystarczająca objętość próbki wtórnej, niespełnienie kryteriów kontroli jakości)
- obecność czynników interferujących (hemoliza, bilirubinemia, lipemia)
- awarie techniczne związane z pracą analizatora lub systemem informatycznym

Materiał badany w fazie analitycznej stanowiły:

- raporty walidacji metod badawczych:
 - a) Oznaczania poziomu antygeny HBs
 - b) Oznaczania poziomu przeciwciał anti-HCV potwierdzające, że są one odpowiednie dla zamierzonego zastosowania
- 7077 wyników z okresu od 01.09.2008 do 28.02.2014 oznaczeń poziomu antygeny HBs pacjentów Poradni Podstawowej i Wielospecjalistycznej Opieki Zdrowotnej,
- 1023 wyników z okresu od 01.07.2009 do 28.02.2014 oznaczeń poziomu przeciwciał anti- HCV pacjentów Poradni Podstawowej i Wielospecjalistycznej Opieki Zdrowotnej
- materiały kontrolne: PC HBSAG 1, PC HBSAG 2, PC AHCV 1, PC AHCV 2
- wyniki kontroli jakości wewnątrzlaboratoryjnej i zewnątrzlaboratoryjnej oznaczeń antygeny HBs i przeciwciał anti-HCV
- raporty serwisowe dotyczące pracy systemu informatycznego
- raporty serwisowe dotyczące pracy analizatora Elecsys 2010
- lista błędów fazy analitycznej, które wystąpiły w Laboratorium

Przygotowany w fazie przedanalitycznej materiał do badań-surowica umieszczona została w analizatorze Elecsys 2010 firmy Roche. Automatycznie odczytany został z próbki kod pacjenta i wykonana analiza. Wewnętrzna kontrola dla różnych zakresów stężeń przeprowadzana była zgodnie z przyjętym harmonogramem (raz dla każdego zestawu odczynnikowego oraz po każdej kalibracji).

Badania poziomu antygeny HBs metodą elektrochemiluminescencji wykonano zgodnie instrukcją producenta na analizatorze Elecsys 2010 zestawem HBsAg II Antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B, firmy Roche. Metoda polega na wykorzystaniu przeciwciał monoklonalnych i poliklonalnych anti-HBsAg znakowanych kompleksem rutenu a i biotyny. Próbki o wskaźniku wartości odcięcia w zakresie ≥ 0.90 do < 1.0 w teście Elecsys HBsAg II uważane były za próbki o wartościach granicznych. Próbki z $COI \geq 1.0$ to próbki reaktywne.

Wszystkie próbki reaktywne lub o wartościach granicznych oznaczone zostały ponownie w duplikacie testem Elecsys HBsAg II. Jeśli w obu przypadkach wartość punktu odcięcia wynosiła < 0.90 , próbka uznana była jako ujemna dla HBsAg. Próbki reaktywne lub o wartościach granicznych, dla których wskaźnik wartości odcięcia w ponownych oznaczeniach wyniósł ≥ 0.90 , uważane były za próbki wykazujące powtórna reaktywność w teście. Próbki powtórnie reaktywne zostały następnie oznaczone przy pomocy testu Elecsys HBsAg Confirmatory Test. Próbki, których neutralizacja ludzkim anti-HBs potwierdziła obecność HBsAg uznawane były za HBsAg dodatnie.

Badania poziomu przeciwciała anti-HCV metodą elektrochemiluminescencji wykonano zgodnie instrukcją producenta na analizatorze Elecsys 2010 zestawem Anty-HCV Przeciwciała przeciw wirusowi zapalenia wątroby typu C, firmy Roche.

Testy anti-HCV polegają na wiązaniu przeciwciał zawartych w próbce, znakowanych biotyną i rutenem a antygenami.

Próbki o punkcie odcięcia pomiędzy ≥ 0.9 i < 1.0 uważane były w teście Elecsys Anti-HCV za próbki szarej strefy. Próbki o wskaźniku wartości odcięcia ≥ 1.0 uważane były w teście Elecsys Anti-HCV za reaktywne.

Wszystkie próbki reaktywne lub w szarej strefie oznaczono ponownie w duplikacie testem Elecsys Anti-HCV. Jeżeli w obu wypadkach nie potwierdzono reaktywności, oznaczało to, że próbka jest ujemna dla przeciwciał anti-HCV. Jeżeli wyniki z jednego lub dwóch powtórzonych oznaczeń były reaktywne lub graniczne, to próbki uznano jako powtórnie reaktywne. Powtórnie reaktywne próbki oznaczano metodami dodatkowymi (np. met. immunoblot lub poprzez wykrycie HCV RNA). W wypadku, gdy oba pomiary pozostawały w strefie granicznej, materiał pobierano ponownie i oznaczano z dodatkowej, późniejszej próbki.

3. Faza poanalizacyjna

Wykaz błędów fazy poanalizacyjnej zawierał następujące obszary:

- postępowanie z próbką pierwotną i wtórną
- przedstawianie wyników
- prowadzenie dokumentacji i przechowywanie kopii wydanych sprawozdań
- dokumentacja niezgodności związanych z odbieraniem i interpretacją wyniku

Materiał badany w fazie poanalizacyjnej stanowiły:

- 7077 sprawozdań z badań laboratoryjnych oznaczeń poziomu antygenu HBs
- 1023 sprawozdań z badań laboratoryjnych oznaczeń poziomu przeciwciał anti-HCV
- ankieta przeprowadzona wśród lekarzy Poradni Podstawowej i Wielospecjalistycznej Opieki Zdrowotnej
- lista błędów fazy poanalizacyjnej, które wystąpiły w Laboratorium

Po sprawdzeniu i uwolnieniu wyników w Laboratoryjnym Systemie Informatycznym drukowane były wersje papierowe i autoryzowane przez diagnostę laboratoryjnego. Jednocześnie zlecający lekarze mieli dostęp do elektronicznej formy wyniku w swoich placówkach.

4. Metody obliczania błędów

a) obliczenie liczby błędów fazy przedanalizacyjnej, analitycznej, poanalizacyjnej

W celu analizy błędów występujących w poszczególnych fazach procesu diagnostycznego zsumowano liczbę błędów tych faz w oparciu o dane z formularza „niezgodności” obowiązującego w Laboratorium.

b) obliczenie odsetka błędów w poszczególnych fazach

$$X_1 \times 100/X, \quad X_2 \times 100/X, \quad X_3 \times 100/X$$

c) obliczenie odsetka błędów z uwzględnieniem ich rodzaju w odniesieniu do procentowego udziału błędów w każdej fazie

$$Z_1 \times Y_1 / X_1 \quad Z_2 \times Y_2 / X_2 \quad Z_3 \times Y_3 / X_3$$

gdzie

X- całkowita liczba wszystkich błędów 32

X₁- całkowita liczba błędów stwierdzonych w fazie przedanalizacyjnej 15

Y₁- poszczególne błędy w fazie przedanalizacyjnej

X₂- całkowita liczba błędów stwierdzonych w fazie analitycznej 9

Y₂- poszczególne błędy w fazie analitycznej

X₃- całkowita liczba błędów stwierdzonych w fazie poanalizacyjnej 8

Y₃- poszczególne błędy w fazie poanalizacyjnej

Z₁- procent błędów w fazie przedanalizacyjnej 47%

Z₂- procent błędów w fazie analitycznej 28%

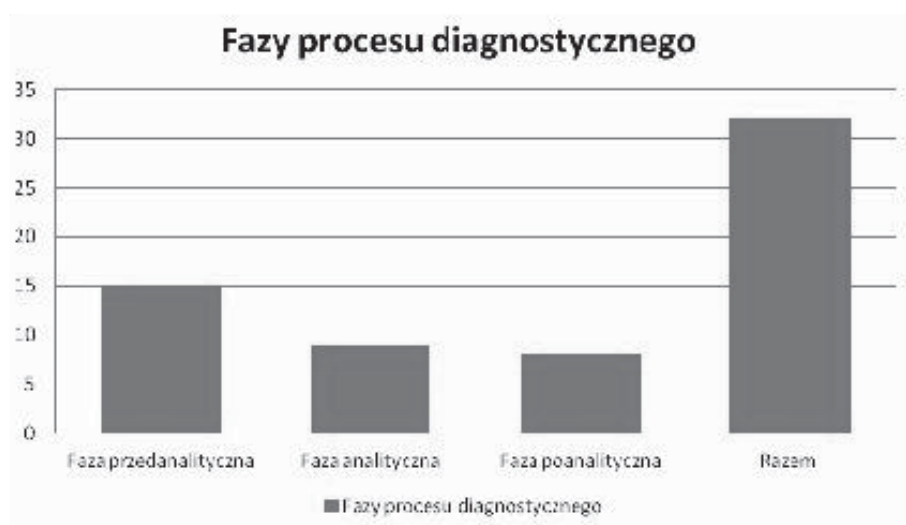
Z₃- procent błędów w fazie poanalizacyjnej 25%

Wyniki

Ze względu na identyczne warunki pobierania materiału, transportu, wykonania oznaczeń na tym samym analizatorze, przez tego samego pracownika błędy fazy przedanalizacyjnej, analitycznej i poanalizacyjnej analizowano łącznie dla 7707 oznaczeń poziomu antygenu HBs i 1023 oznaczeń poziomu przeciwciał anti- HCV, co stanowiło w sumie 8100 oznaczeń. Pozwolił na to również fakt, że przygotowanie sprawozdań z badań, autoryzacja i przekazanie zleceniodawcom przeprowadzone było w tych samych warunkach przez przeszkolonego personel.

Całkowita liczba błędów procesu diagnostycznego oznaczania poziomu antygenu HBs i poziomu przeciwciał anti HCV z uwzględnieniem poszczególnych faz wyniosła 32, co stanowi 0,39% w odniesieniu do 8100 analizowanych badań. Ryc.1

Stwierdzono, że na 8100 badań, błędów w fazie przedanalizacyjnej było 15, co stanowi 0,18%, w fazie analitycznej 9, co stanowi 0,11% i fazie poanalizacyjnej 8, co stanowi 0,10%.



Rycina 1. Zestawienie błędów w poszczególnych fazach procesu diagnostycznego oznaczania obecności antygenu HBs i przeciwciał anti- HCV (n=8100).

W odniesieniu do wszystkich 32 stwierdzonych błędów faz przedanalizycznej, analizycznej i poanalizycznej stanowiących 100%, błędy fazy przedanalizycznej stanowiły 47% (15 błędów), fazy analizycznej 28% (9 błędów) i fazy poanalizycznej 25% (8 błędów).



Rycina 2. Procentowe zestawienie błędów w poszczególnych fazach procesu diagnostycznego oznaczania obecności antygenu HBs i przeciwciał anty- HCV (n=8100).

Struktura błędów fazy przedanalizycznej przedstawiała się następująco: najczęściej ok. 9% stanowiły nieprawidłowo zlecone badania i błędne dane identyfikacyjne pacjenta. Ok. 6% stanowiły błędy dotyczące nieprzygotowanego pacjenta. Nie stwierdzono błędów jakościowych dotyczących próbki i nie właściwego podziału na próbki wtórne. Wynika to z organizacji pracy laboratorium, w którym bardzo znaczną część materiału pobiera doświadczony personel laboratorium, który następnie dokonuje selekcji i opracowania pobranych próbek. Również z tego powodu hemolizę jednej próbki i zmętnienie spowodowane lipemią wykryto tuż przed rozpoczęciem analizy. Ze względu na niewielką objętość próbki badanej i rozcieńczenie próbki odczynnikiem nie wycofano próbek z cyklu analizycznego. W trakcie pobierania krwi na badania oznaczania antygenu HBs i przeciwciał anty-HCV personel pytał pacjentów, czy stosują biotynę, która zgodnie z instrukcją producenta interferuje w przebieg reakcji, wiążąc się z awidyną i powodując zmniejszenie wartości wykrywanych antygenów i przeciwciał. Z własnych obserwacji wynika, że, w sytuacji, w której pacjent leczony jest preparatami przeciwkrzepliwymi, może pojawić się wynik dodatni wskazujący na obecność antygenu, a w ponownym wykonaniu badania na drugi dzień uzyskuje się wynik ujemny. Taka sytuacja występuje u chorych leczonych przewlekłe preparatami przeciwkrzepliwymi, które wydłużają czas powstania skrzepu lub powodują powstawanie drobnych skrzepin interferujących w przebieg reakcji (Tabela 1).

Tabela 1. Charakterystyka błędów fazy przedanalizycznej oznaczania obecności antygenu HBs i przeciwciał anty- HCV

Rodzaje błędów fazy przedanalizycznej		Liczba błędów dla n=8100	Odsetek błędów dla n=15
1	niepełne lub błędne dane identyfikacyjne pacjenta: <ul style="list-style-type: none"> • błąd w nazwisku • błędny PESEL • nieczytelne nazwisko 	3	9,4%
2	niepełne lub błędne dane identyfikacyjne próbki: <ul style="list-style-type: none"> • brak kodu na próbówce 	1	3,13%
3	niepełne lub błędne dane identyfikacyjne lekarza zlecającego	0	0
4	nieprawidłowo przygotowany pacjent: <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci po szczepieniu przeciwko wirusowi typu B uzyskali wyniki „fałszywie” dodatnie 	2	6,3%
5	źle pobrana próbka, niewłaściwie dobrana próbówka	0	0
6	błędy rejestracji, błąd odczytu danych: <ul style="list-style-type: none"> • błąd w danych wprowadzonych do Laboratoryjnego Systemu Informatycznego 	1	3,13%
7	utrata próbki: <ul style="list-style-type: none"> • stwierdzono brak pobranej próbki krwi przy dostarczonym skierowaniu 	1	3,13%
8	nieprawidłowo zlecone badania: <ul style="list-style-type: none"> • zamiast HBsAg zlecono anty-HBs 	3	9,4%
9	brak informacji o lekach stosowanych przez pacjenta (biotyna)	0	0
10	stosowane przez pacjenta antykoagulanty: <ul style="list-style-type: none"> • fałszywie dodatni wynik z powodu przedłużonego procesu krzepnięcia krwi 	1	3,13%
11	przechowywanie materiału w nieodpowiednich warunkach,: <ul style="list-style-type: none"> • pobrana przez personel poradni próbka pozostawiona do następnego dnia w pomieszczeniu o temperaturze ok. 30°C 	1	3,13%
12	nieodpowiednie parametry wirowania próbki: <ul style="list-style-type: none"> • zbyt krótkie wirowanie spowodowało fałszywie dodatni wynik 	1	3,13%
13	przedłużający się transport próbki: <ul style="list-style-type: none"> • z powodu awarii samochodu materiał dotarł do laboratorium po 4 godzinach 	1	3,13%
14	niewłaściwy podział na próbki wtórne	0	0

Źródło: Opracowanie własne

W fazie analizycznej największy odsetek to błędy dotyczące niemożności wykonania oznaczenia z powodu obecności skrzepu. Z powodu złej jakości partii kryształków dodawanych do próbek celem przyspieszenia procesu krzepnięcia, w dwóch próbkach pobranych do oznaczenia antygenu HBs nie doszło do pełnego wykrzepienia krwi, co było przyczyną pojawienia się drobnych skrzeplin, które spowodowały niepowtarzalne wyniki. Kolejnymi błędami były problemy z aparaturą. Nie wykazano błędów w zakresie kalibracji i kontroli metody (Tabela 2).

Tabela 2. Charakterystyka błędów fazy analitycznej oznaczania obecności antygenu HBs i przeciwciał anty- HCV

Rodzaje błędów fazy analitycznej		Liczba błędów dla n=8100	Odsetek błędów dla n=9
1	niewłaściwe przechowywanie odczynników, kalibratorów i materiałów kontrolnych: • awaria lodówki	1	3,11%
2	błąd próbki (złe wymieszanie, obecność skrzepu): • niepowtarzalne wyniki badań	2	6,22%
3	lipemia	1	3,11%
4	hiperbilirubinemia	0	0
5	hemoliza	1	3,11%
6	brak kontroli i kalibracji metody	0	0
7	problemy techniczne z aparaturą: • awaria systemu podtrzymującego napięcie	2	6,22%
8	nieodpowiednie warunki środowiska: • przegrzanie rotora odczynnikowego	2	,22%

Źródło: Opracowanie własne

Na podstawie badania zmienności w serii oznaczeń dla materiałów kontrolnych dodatnich i ujemnych wyliczono współczynniki zmienności, które wyniosły dla materiałów kontrolnych oznaczeń antygenu HBs ujemnych 12%, dodatnich 7%, a dla materiałów kontrolnych oznaczeń przeciwciał anty- HCV ujemnych 2%, dodatnich 4%. Jako kryterium jakości metody przyjęto oczekiwaną wartość współczynnika zmienności poniżej 25% dla obu oznaczeń, co wskazuje na bardzo dobrą jej jakość.

W fazie poanalitycznej główne błędy dotyczyły zagubienia sprawozdań z badań. Nie stwierdzono błędów dotyczących błędnych wartości referencyjnych i braku autoryzacji sprawozdania z badania (Tabela 3).

Tabela 3. Charakterystyka błędów fazy poanalitycznej oznaczania obecności antygenu HBs i przeciwciał anty- HCV

Rodzaje błędów fazy poanalitycznej		Liczba błędów dla n=8100	Odsetek błędów dla n=8
1	brak niezbędnego komentarza do wyniku: • nie podano: „wynik powtórnie reaktywny”	1	3,13%
2	błędne wartości referencyjne	0	0
3	przemilczenie faktu o niewłaściwym stanie aparatu pomiarowego	0	0
4	brak informacji o konieczności zgłoszenia się pacjenta do lekarza	1	3,13%
5	błędna interpretacja wyniku: • problemy z interpretacją wyniku „próbka reaktywna”	1	3,13%
6	brak autoryzacji	0	0
7	nieczytelne sprawozdanie z badań	1	3,13%

8	zagubienie sprawozdania z badań	3	9,37%
9	niedostarczenie sprawozdania z badań w odpowiednim czasie uzgodnionym pomiędzy zleceniodawcą a laboratorium	1	3,13%

Źródło: Opracowanie własne

Dyskusja

Z sumarycznego zestawienia błędów w poszczególnych fazach pracy laboratorium widać, że w fazie przedanalizycznej wykazano 47% błędów, w fazie analitycznej 28%, a w fazie poanalizycznej 25%. Otrzymane wartości są podobne do danych prezentowanych w pracach autorów Saurav, Hammerling, Carraro, którzy podają dla fazy przedanalizycznej 46-68%, dla fazy analitycznej 17-13% i dla fazy poanalizycznej 19-47%. (Saurav i.in. 2013, Hammerling 2012, Carraro i in. 2012). Pewna różnica dotyczy fazy analitycznej, co może być wynikiem wzięcia pod uwagę w cytowanych pracach całego profilu badań wykonywanych w omawianych w artykułach laboratoriach. Ograniczenie się do testów immunochemicznych mogło wyeksponować trudności związane ze stopniem skomplikowania metody elektrochemiluminescencji.

Na podstawie przeprowadzonych analiz można zaobserwować, że częstość błędów występujących w fazie przedanalizycznej była najwyższa i dotyczyła 10 obszarów na 14 podlegających analizie. Z tych 10, 3 rodzaje błędów wystąpiły najczęściej, tj. niepełne i błędne dane identyfikacyjne pacjenta, nieprawidłowo zlecone badanie oraz niewłaściwie przygotowany pacjent do badania. W większości prac na temat fazy przedanalizycznej ten rodzaj błędów występuje najczęściej (Lippi i in. 2011, Simundic i in. 2012). Podobną analizę błędów fazy przedanalizycznej w badaniach pochodzących od pacjentów z leczenia otwartego podaje Saurav P. (Saurav i in. 2013). Na pierwszym miejscu wymienia błędy identyfikacji pacjenta i nieprawidłowo zlecone badania. Analogiczna obserwacje przedstawiamy w naszej pracy, gdzie w trzech przypadkach błędnie zostały zapisane dane identyfikacyjne pacjenta (PESEL) lub jego imię. W przypadku nieprawidłowo zleconych badań, dotyczyło to zlecenia przeciwciał anti-HBs zamiast antygenu HBs. W punkcie dotyczącym nieprzygotowania pacjenta zdarzyło się zgłoszenie pacjentów na badanie w kierunku antygenu HBs po uprzednim pobraniu szczepionki przeciwko wzw typu B. Ze względu na pobieranie materiału przez personel laboratorium nie zdarzyła się źle pobrana próbka lub niewłaściwy podział na próbki wtórne.

W fazie analitycznej najczęściej występowały trzy rodzaje błędów. Pierwszy dotyczył wykrycia skrzepu przez aparat w trakcie pobierania surowicy do badania. Drugim błędem była zła jakość napięcia w ogólnodostępnej sieci elektrycznej pomimo stosowania systemu podtrzymującego napięcie UPS, która doprowadziła do dwukrotnej przerwy w pracy aparatu i utraty pobranych próbek. W cytowanych wcześniej pracach taka sytuacja się nie zdarzyła. Podobne trudności, również nie rejestrowane przez wyżej wymienionych autorów dotyczyły zjawiska niedotrzymania temperatury w rotorze odczynnikowym termostatowanym w temp. 20°C na pokładzie analizatora Elecsys 2010, w upalne dni. Sporadycznie stwierdzono hemolizę i lipemię, które jednak w przypadku metod immunoenzymatycznych nie miały wpływu na wynik pomiaru (Lippi i in.

2008). Szczególnym zjawiskiem była awaria chłodni, w której przechowywane były odczynniki, gdzie wzrost temperatury doprowadziła do rozkładu odczynników, kalibratorów i materiałów kontrolnych.

Interesujące obserwacje dotyczyły fazy poanalizycznej, której odsetek jest bardzo podobny do danych występujących w pracy Carraro i Plebani (2007).

Główną przyczyną błędów w tej fazie było zagubienie sprawozdania z badań, co wymagało ponownego odtworzenia i groziło naruszeniem poufności wyniku. Pojedyncze przypadki to brak komentarza do wyniku, nieczytelny wydruk oraz opóźnienie w dostarczeniu sprawozdania z badania. W jednym przypadku lekarz zwrócił się o dodatkową interpretację wyniku badania przeciwciał anti-HCV, związaną z Rekomendacją Grupy Roboczej: Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego- Państwowy Zakład Higieny, Polskie Towarzystwo Wirusologiczne, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej, Polska Grupa Ekspertów HCV „Diagnostyka laboratoryjna zakażeń wątroby wirusem typu C”. Na jednym z patologicznych wyników nie umieszczono informacji o konieczności zgłoszenia się badanego pacjenta do lekarza prowadzącego. Podsumowując należy stwierdzić duże podobieństwo do częstości występowania błędów w poszczególnych fazach procesu diagnostycznego w laboratorium, które było przedmiotem badania a laboratoriami przedstawianymi w cytowanym piśmiennictwie. Również porównywalna z innymi opisanymi w piśmiennictwie laboratoriami, jest liczba stwierdzonych błędów na ogólną liczbę badań, która wynosi 1 błąd na 253 wyniki (Saurav i in. 2013).

Pomimo tego, że trudno jest ocenić przez laboratorium wpływ stwierdzonych błędów na decyzje kliniczne, to wykazanie ich zwróciło uwagę na słabe strony pracy laboratorium. Było podstawą do przeprowadzenia szeregu szkoleń personelu administracyjnego oraz fachowego i zwrócenia szczególnej uwagi na zaobserwowane wykazane źródła błędów. Laboratorium podjęło szereg korekcji i działań korygujących oraz działań zapobiegawczych służących doskonaleniu.

Piśmiennictwo

1. Carraro P, Zago T, Plebani M (2012) Exploring the initial steps of the testing process: frequency and nature of pre-preanalytic errors. *Clin Chem* ; 58, 3: 638-642.
2. Carraro P, Plebani M (2007) Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin Chem* ; 53, 7: 1338-1342.
3. Gernand W (2011) Wskaźniki jakości w laboratoryjnej diagnostyce medycznej. *Diag Lab*; 47 (1): 39-43.
4. Hammerling J A (2012) A review of medical errors in laboratory diagnostics and where we are today. *Lab Medicine*; 43, 2:41-44.
5. Junger D (2010) Clinical Chemistry: Challenges for Analytical Chemistry and the Nanosciences from Medicine. *Angewandte Chemie*:49.
6. Lippi G i wsp. (2011) Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med*; 49(7):1113-1126.
7. Lippi G i wsp. (2008) Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem and Lab Med*; 46 (6): 764-77.
8. Muller MM (2008) Book Review. *Clin Biochem* www.sciecedirect.com.2008.06.04.

9. PN-EN ISO15189:2013 Laboratoria medyczne – Szczególne wymagania dotyczące jakości i kompetencji. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 2008.
10. Price ChP (2003) Application of the principles of evidence-based medicine to laboratory medicine. *Clin Chem Acta*; 333: 147-154.
11. Price ChP, Robert H Christenson (2011) Medycyna laboratoryjna oparta na dowodach naukowych. *MedPharm Polska*, s. 29.
12. Saurav P, Brijesh M, Ashok K (2013) Pre-analytical errors in the clinical laboratory and how to minimize them. *Int J of Bioass*; 02 (03): 551-553.
13. Simundic AM, Lippi G (2012) Preanalytical phase—a continuous challenge for laboratory professionals. *Bioch Med*; 22 (2): 145-149.
14. Solnica B (2000) Badania laboratoryjne w praktyce medycznej opartej o udokumentowane informacje (Evidence-Based Medicine). *Bad Diagn*; 6 (10): 65-67.
15. Sztefko K (2002) Wykłady monograficzne z diagnostyki laboratoryjnej część 1. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
16. Sztefko K (2002) Interferencje w metodach immunochemicznych. *Przegląd Lekarski*; 59;6.
17. Sztefko K (2007) Wykłady monograficzne z diagnostyki laboratoryjnej część 2. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Liczba znaków ze spacjami: 30 803