

**RNDr. Petra Vojvodová**

Transfuzní oddělení, Laboratoř infekčních markerů, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady

cobas® pro modul e 801 – první instalace a zkušenosti v zařízení transfuzní služby FNKV

Transfuzní služba je v České republice jednou z integrálních součástí poskytování komplexní zdravotní péče. V celém systému fungování této oblasti je zahrnuta řada pracovišť různých velikostí a zaměření. Od jednotlivých odběrových míst až po velká transfuzní oddělení, která zajišťují velmi širokou škálu činností. Jejich fungování má v rámci zdravotnictví mnoho specifických prvků, které generují i specifické požadavky na partnerské a dodavatelské organizace.

Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady (dále „TO FNKV“) je pracovištěm, které zabezpečuje odběr krve a jejích složek. Zajišťuje komplexní zpracování a vyšetření transfuzních odběrů, výrobu standardních i speciálních transfuzních přípravků, jejich skladování a distribuci. Dále zde probíhají základní a speciální imunohematologická vyšetření včetně testů kompatibility před výdejem transfuzních přípravků pacientům. Nadto je TO FNKV součástí systému registrace dárců vzácných krevních skupin do Národního registru dárců.

Je třeba si především uvědomit, že transfuzní přípravky jsou léčivem, a tudíž všechny kroky jejich výroby podléhají závazným předpisům definovaným legislativními pravidly a příslušnými normami. Jednou z povinností každého pracoviště transfuzní služby, které zpracovává odebranou krev na transfuzní přípravky, je zajistit jejich bezpečnost. Legislativně je stanoveno sérologické vyšetření krve přenosných infekčních markerů – protilátek proti viru hepatitidy C (anti-HCV), protilátek a antigenu viru lidské imunodeficiency (anti-HIV 1/2 + p24 antigen), povrchového

antigenu hepatitidy B (HBsAg) a protilátek proti původci syfilis (anti-TP). Pracoviště TO FNKV v rámci programu zvýšené bezpečnosti krevních přípravků zařadilo i další testování nepovinného markeru, tedy protilátek proti core antigenu viru hepatitidy B (anti-HBc). Nadto od roku 2017 pracoviště TO FNKV zavedlo nepovinné testování metodou vyšetřování nukleových kyselin (NAT) kvůli snížení rizika tzv. diagnostického okna. Lze konstatovat, že takto vyšetřené transfuzní přípravky splňují všechna požadovaná kritéria na bezpečnost z hlediska potenciální infekce pacientů krví přenosnými infekčními chorobami.

Sérologická vyšetření jsou na úseku virologické laboratoře TO FNKV v současné podobě prováděna plně automatizovanými systémy. Ne vždy tomu tak v minulosti bylo. Navíc do r. 1988–1990 nebyla žádná možnost výběru vyšetřovacích setů, neboť vše bylo řízeno a dodáváno centrálně, zahraniční soupravy mohly přicházet teprve po roce 1990. Vlastní historie vyšetřování infekčních markerů na pracovišti TO FNKV spadá až do roku 1972, kdy bylo ministerstvem zdravotnictví nařízeno povinné vyšetřování odebraných vzorků krve na přítomnost HBsAg. To bylo tehdy prováděno metodou elektroforetické separace (ELFO) v agarózovém gelu. V letech 1982 a 1988 došlo k přechodu na vyšetřování pomocí souprav ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent

Assay). S rostoucími poznatky o krví přenosných infekcích se postupně do testování na TO FNKV povinně zařazovaly i další testy. Z pokynu hlavního hygienika v roce 1987 přišly první testovací soupravy na HIV 1/2, od roku 1992 i testy na průkaz protilátek proti HCV (metodou ELISA testů). Povinné testování přítomnosti protilátek proti původci syfilis bylo zařazeno na TO FNKV až roku 2005. Stanovení přítomnosti nepovinného markeru anti-HBc je na pracovišti datováno rokem 1995. Testy formátu ELISA na mikrotitračních destičkách byly prováděny na analyzátoch EVOLIS dodaných firmou Bio-Rad. Tato metodika přes svoji robustnost a ekonomickou výhodnost postupně přestala vyhovovat nejnovějším nárokům pracoviště, zejména z důvodu nižší flexibility pracovních protokolů. Vystal zde tedy poměrně naléhavý požadavek plně automatizace virologického laboratorního provozu.

K plně automatizaci testování došlo na pracovišti až s příchodem analyzátorů firmy DiaSorin roku 2017. Přístroje využívaly metodu chemiluminiscence (CLIA) v klasickém formátu za použití paramagnetických mikročastic jako pevné fáze.

Jak dlouholetá praxe na TO FNKV ukázala, je pro transfuzní pracoviště klíčové nepodceňovat technickou stránku vyšetřování. A to jak tu přístrojovou, tak i stránku výběru diagnostik pro testování, resp. specifitu diagnostických testů. Pokud zájemci o darování krve a jejích složek projdou vstupními podmínkami, jsou považováni pro účely dárcovství za skupinu zdravých lidí. V tomto případě je potřebné u testovacích diagnostik brát v úvahu kvalitu specifity testu, tedy spolehlivost v určení skutečně nemocných. Primárním úkolem takového testu je zaručit, aby negativní výsledek byl opravdu negativní, tedy s maximální mírou spolehlivosti. Tato snaha se tedy logicky kříží se schopností určit s maximální mírou spolehlivosti opačný stav, tj. určení pozitivitu na některé infekční onemocnění. Na první pohled se může zdát, že vyšší míra falešně pozitivních stanovení je akceptovatelná daň za vysokou míru spolehlivosti při určení negativity. Je však třeba si uvědomit, že falešně pozitivní výsledek testu v některém z infekčních markerů nevyřazuje pouze dárce krve dočasně/trvale



ze systému dárcovství, ale je také současně důvodem k likvidaci transfuzního přípravku. A to nejen v den konkrétního odběru, ale i zpětně v tzv. režimu look-back. Lze proto hovořit o významné ztrátě lidské a hmotné. Nehledě již na problém etický, kdy „z nějakého“ pro laika těžko pochopitelného důvodu dochází k vyřazení z dárcovské kohorty. Tento krok je často vnímán dárce jako jakási stigmatizace a může vzbuzovat řadu obav o vlastní zdravotní stav.

V rámci nutnosti výběru nového vyšetřovacího systému se pracoviště TO FNKV zaměřilo na hledání řešení, jak při zachování vysoké specifity (tedy schopnosti určit spolehlivě negativitu) snížit co nejvíce množství falešných reaktivit v sérologickém testování.

Jedním ze zásadních kroků k výběru nové vhodné testovací platformy byla účast našeho pracoviště v Serum Evaluation Program (SEP), organizovaném firmou Roche. Tento program umožňuje všem potenciálním zájemcům o technická řešení firmy Roche vyzkoušet si vše „na vlastní kůži“. Program nabízí porovnání produktů Roche s konkurenčními testy, a to na reálných vzorcích od dárců. Celé testování probíhá v dostatečném objemu vzorků tak, aby získané výsledky byly dostatečně validní pro případné rozhodnutí do budoucna. V rámci tohoto programu byly porovnávány testy

provedené pomocí většiny nyní v ČR běžně dostupných firemních platform. Výsledky programu a naše účast v něm pak byly pro naše pracoviště určitým vodítkem pro specifikaci našich kvalitativních požadavků.

Firma Roche nabízí v současné době technologii Elecsys® založenou na principu elektrochemiluminiscence (ECLIA). Tato technologie splňuje všechny náročné požadavky kladené na zajištění kvalitního testování. Vlastní technické řešení analyzátorů v modulovém uspořádání dovoluje každému pracovišti vytvořit si „laboratoř na míru“, a to jak z pohledu kapacitního, tak i z pohledu možného prostorově ergonomického uspořádání.

Dalším velmi rozhodujícím parametrem při výběru nového systému byl čas. Pracoviště TO FNKV je distributorem transfuzních přípravků pro klinické aj. účely se službou 24 h, poskytovaných přímo pro pacienty FNKV dle požadavků různých klinik, ale také mimo nemocnici (nasmlouvaní odběratelů, akutní požadavky jiných nemocnic), dále je i krizovým centrem. Významnou součástí produkce TO FNKV je odběr, výroba a distribuce tzv. trombokoncentrátů. Tento transfuzní přípravek má expiraci 5 dnů, což je limitující faktor při jeho výrobě a vydávání. Odtud tedy vychází požadavek na velice včasné a pružné získávání výsledků pro tuto konkrétní skupinu vzorků.





Pokud se při výrobě transfuzního přípravku jakýkoli článek výrobního a testovacího řetězce opozdí, zbrzdí se i výsledné vydání transfuzního přípravku pro požadovaný medicínský účel. Na úseku virologie je tedy limitní čas vydání výsledku vyšetření dle požadavku, přičemž právě výběr konkrétní přístrojové techniky může časové hledisko významně ovlivnit. Jakékoli technické řešení, které umožní pružnost a dostatečnou průchodnost provozu, je vítanou výhodou. Patří mezi ně např. možnost průběžného vkládání vzorků vč. STATIM, chlazený prostor pro reagenty, automatizované zadávání vyšetření (software), vysoká kapacita zásobníků pro reagenty, jednotné operační doby pro všechny testy, nulová časová náročnost při přípravě reagentů a v neposlední řadě dostatečná technická robustnost a spolehlivost analytických modulů, které tak nevyžadují časté návštěvy servisního technika a minimalizují prostojové časy.

TO FNKV začalo spolupracovat s firmou ROCHE již v roce 2017 při implementaci a instalaci nově zavedeného systému pro testování nukleových kyselin (NAT) **cobas**[®] 6800, přičemž NAT bylo uvedeno do ostřejího provozu v průběhu roku 2018 (odkaz na článek Mgr. Pištkové LA_03_18 **cobas** 6800 systém – první instalace a zkušenosti v řízení transfuzní služby v ČR). V rámci výběru nové diagnostiky pro vyšetřování

infekčních markerů byla na základě výběrového řízení v roce 2021 spolupráce rozšířena i na tuto oblast screeningu dárců. Naše transfuzní oddělení se tak stalo třetím pracovištěm v ČR, kde je bezpečnost transfuzních přípravků sledována kompletním řešením od firmy ROCHE.

Pro potřeby naší laboratoře firma nabídla řešení v podobě dvou plně automatizovaných linek analyzátorů **cobas**[®] pro integrated solutions. Pro laboratoř bylo z našeho pohledu ideální mít instalované 2 moduly **cobas e 801**, zcela oddělené kvůli zachování flexibility pracoviště. Na začátku proběhlo několik plánovacích schůzek kvůli zajištění kontinuálního provozu i při změně vyšetřovacího systému sérologie. Jak bylo výše zmíněno, TO FNKV je typem pracoviště, kdy vyšetřování vzorků dárců krve na virologické laboratoři musí být zajištěno nepřetržitě. Proto byla otázka hladkého přechodu na novou platformu bez přerušování práce v laboratoři naprosto zásadní.

Plánován byl nejen časový soulad jednotlivých etap změny, ale i konkrétní technické požadavky a kroky. Byla ověřena statická nosnost stropů při souběhu analyzátorů. Pro laboratoř bylo nově vytvořeno řešení zavedení přívodu demineralizované vody ze samostatné úpravy a svodu odpadu do centrálního odpadu pracoviště. Toto

řešení znamená pro laboratoř velký přínos, neboť původní systém vyžadoval ruční zásobování kanystry a ruční odnášení/likvidaci kapalného odpadu. Při pracovním objemu na našem pracovišti představovala tato činnost nezanedbatelnou zátěž pro obsluhu. Průtok vody novými přístroji dle technické specifikace např. i špičkově 30 l/h je už značný a potenciální fyzická zátěž kladená na laboranty by byla extrémně vysoká, a tak je uvedené řešení kontinuálního přívodu i odvodu optimální. Analyzátoři tak mohou mít i menší vnitřní odpadní meziasobníky a veškeré prostorové nároky se omezují pouze na systémové kapaliny a jednorázové špičky a kyvety.

Vlastní výměna původních a nových analyzátorů se uskutečnila nadvakrát. Na základě dopředu vytvořeného a domluveného postupu prací proběhla instalace rychle, efektivně a pružně. A to zejména díky technikům, kteří tuto instalaci prováděli a kterým také patří nemalé poděkování. Jako při každé přestavbě jsme narazili na neočekávané potíže (přívod elektrické energie v dostatečné kapacitě, způsob připojení úpravy vody a svodu odpadu – např. zde řešeno přečerpávací jednotkou, nebylo možné zabudovat spádem do stoupaček nebo protáhnout přes podlahu). Tady by bylo vhodné uvést jeden postřeh: Je dobré, resp. nutné při plánování umístění analyzátorů pamatovat i na dostatečný prostor pro pravidelné kontroly a případné opravy techniků. Obecně asi můžeme říci, že moderní přístrojová technika sice směřuje k miniaturizaci, ale při požadavku na určitý výkon se nedají fyzikální zákony obejít a je nutno věnovat všem potřebným přístrojům určitý prostor. Na spoustě pracovišť transfuzní služby v ČR je tento fakt podceňován a pro práci laboratoří se vyčleňují prostory, které jsou pro moderní technické platformy nedostačující.

V průběhu výměny bylo domluveno s instalací prvního modulu **cobas e 801** i zaškolení personálu. Instalace znamenala mimo jiné zavedení aplikačních kódů do přístrojů a unikátního kódu dané metody. Pro potřeby laboratoře byla využita funkce „ReRun“ – jedná se o automatické opakování vyšetření, pokud je první výsledek vyšetření reaktivní.



Tato funkce znamená zjednodušení pro pracovníky, a tedy i urychlení analýzy. Uvedený systém využívá pracovního meziasobníku na vzorky, který je součástí každého analytického modulu. Po celou dobu analýzy je vzorek uložen v tomto zásobníku a čeká na výsledky svého testování. V případě negativy u všech parametrů se vzorek uvolní pro další použití, v případě positivity se vzorek použije pro automatické retestování v dubletu. Z toho je tedy zřejmé, že se jedná o další zjednodušení obsluhy, navýšení pracovního komfortu i zvýšení bezpečnosti celého procesu testování.

Následná instalace druhého modulu byla plánována s časovým odstupem vzhledem k závazkům firmy ROCHE na jiných pracovištích, vše ale proběhlo rychle a efektivně, vyšetřovací systém už byl v laboratoři zavedený a pracovníci již byli obeznámeni s jeho obsluhou. Kromě nutnosti vypořádat se s počátečním nastavením přístrojů bylo nutné nastavit také tisk primárních dat přímo z přístrojů. Tato dokumentace podléhá pravidlům Vedení a archivace dokumentace v zařízení transfuzní služby (Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP

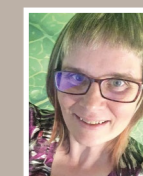
č. STL2017_13 ze dne 7. 12. 2017 verze 1) a i přes současné možnosti elektronické archivace dat je v transfuzní službě stále povinně vyžadovanou součástí předpisové dokumentace. U modulu **e 801** je přímý tisk z analyzátoru komplikovaný, resp. objemově náročný. Záznam přístroje přiřazuje ke každému výsledku značné množství dat, za jakých podmínek a stavu byl celý výsledek získán. To je sice vítaná věc při zpětných analýzách, ale přímý tisk neumožňuje tato data zestručnit, a tak je přímý výpis výsledků z analyzátoru pro běžnou „papírovou“ archivaci objemný, zvláště s přihlédnutím k poměrně velkému počtu vydaných výsledků. Možným řešením je elektronická archivace dat s prokazatelným písemným dokladem kontroly, který je autorizován např. elektronickým podpisem.

Zajímavým a novým prvkem pro laboratoř je i tzv. **cobas**[®] link – jedná se o změnu způsobu propojení vyšetřovacího systému mezi firmou (aplikační aj. podpora), laboratoří (přístroje) a laboratorním informačním systémem (dále „LIS“) FNKV. V laboratoři může být „před“ **cobas**[®] linkem jakýkoli počet přístrojů, do sítě LIS je vedena pouze jedna linka, kterou spravuje ICT oddělení FNKV, tedy zjednodušení řešení pro FNKV. Zároveň **cobas**[®] link propojuje přístroje a firmu v rámci aplikačních služeb. Jedná se o jakékoli stahování nových dat pro nastavení přístrojů (např. hodnoty nových kalibrátorů, kontrol aj.). Pracovníci jsou přístrojem upozorněni vizuálně, jakmile je jakékoli stažení dat nutné.

Pro komunikaci s firmou máme nově k dispozici službu DataDialog, tzv. elektronický provozní deník, který je veden jak pro sérologické, tak pro NAT testování. Zápisem v této službě informujeme firmu o potížích, lze přiložit i soubory. Lze zvolit, zda je problém akutní a vyžaduje telefonickou konzultaci,

nebo zda se jedná jen o průběžný zápis. Celkově tak celá komunikace zjednodušuje a zprůhledňuje celý proces správy systémů a umožňuje obsluze vést detailní provozní deníky s dlouhodobou archivací.

Závěrem lze shrnout celkovou spokojenost pracoviště s touto změnou, kapacita obou modulů je více než dostatečná, a když se připočítá kapacita stávajícího vyšetřovacího systému NAT (**cobas**[®] 6800), je zde možnost pro úvahy k zařazení dalších odběrových center do systému vyšetřování na TO FNKV.



RNDr. Petra Vojvodová

Vedoucí laboratoře infekčních markerů Transfuzního oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady
Kontakt: petra.vojvodova@fnkv.cz
Vystudovala PřF UK, kde se 8 let zabývala vědeckou prací v rámci postgraduálního studia. Vzhledem ke středoškolskému vzdělání zdravotní sestry a k potřebě propojit práci s nabytými znalostmi a zkušenostmi zaměřila do zdravotnických laboratoří. Působení na TO FNKV jí poskytlo možnost propojit přímé služby lidem s laboratorní prací. Momentálně zde má na starost laboratoře virologie a bakteriologie. Mezi její zájmy patří rodinný život a rekreační sportování, zejména turistika a šnorchlování; kreativní tvorba všeho druhu a jakékoli propojování informací napříč spektrem. Dále se dlouhodobě věnuje všemu se zdravím spojenému, jako je umění taiči, aromaterapie a částečně jóga spojená s fyzioterapií.



Následující přístroje jsou zdravotnickými prostředky *in vitro*. Jsou určeny pouze k použití laboratorními profesionály vyškolenými v laboratorní technice a instruovanými v používání systému. Více informací najdete na go.roche.com/Navody.

cobas[®] pro – Série automatických analyzátorů je určena k provádění kvalitativních a kvantitativních stanovení v oblastech klinické chemie (modul **cobas c 503**) a imunochemie (modul **cobas e 801**), stejně jako k provádění iontové selektivních měření (**cobas**[®] ISE).

cobas[®] 6800 – Systém zajišťuje proces plně automatické izolace nukleové kyseliny přímo v primárních nebo sekundárních vzorkových zkumavkách s automatickým nastavením PCR a real-time PCR.