



Vyšetření infekčních markerů u dárců krve je klíčovým opatřením k omezení rizika přenosu infekce krevní transfuzí. Mezi další, neméně důležitá standardní opatření, patří bezpříspěvkové dárcovství krve a krevních složek a důsledný výběr jejich dárců. V České republice je povinné testování dárců na kreví přenosné infekce stanoveno vyhláškou č. 143/2008 Sb., dle které se povinně vyšetřuje sérologicky HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1/2 + Ag p24 a syfilis. Negativita těchto markerů je nepřekročitelným kritériem pro propuštění transfuzních přípravků a léčivých látek. Správné a rychlé stanovení markerů infekčních onemocnění je proto nezbytné pro bezproblémový provoz zařízení transfuzní služby.

Analyzátor cobas e 601 jsme se rozhodli zařadit do našeho provozu po posouzení uživatelských kritérií. Našimi požadavky na nový analyzátor byla jeho dostatečná kapacita odpovídající počtu vyšetřovaných vzorků, rychlost analýzy a možnost předřazovat statické vzorky.

Screening markerů infekčních onemocnění u dárců krve na analyzátoru cobas e 601

MUDr. RENATA PROCHÁZKOVÁ, Ph.D., RNDr. DAGMAR KUŤKOVÁ

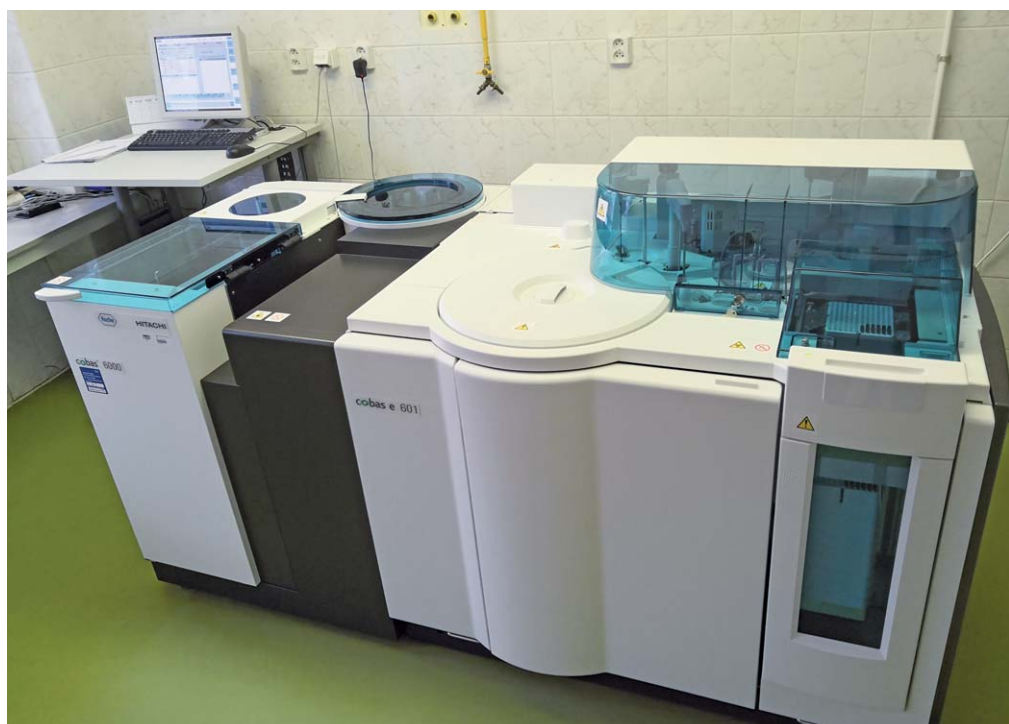
Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

Popis systému

Analyzátor **cobas**[®] 6000 je modulární analytický systém, skládá se z tzv. ovládací konzole, Core jednotky – obslužného

modulu a modulu pro heterogenní analýzu (**cobas e 601**).

Příbalové letáky a návody lze přečíst a v případě potřeby vytisknout prostřednictvím tzv. e-library, která je instalována přímo do počítače **cobas link** u analyzátoru, takže při vlastní instalaci se pouze aktivují potřebné metody, kalibrátory, resp. kontroly. Jejich update, vkládání nových šarží kalibrátorů a kontrol se provádí elektronicky, stejně jako úprava hodnot při případné reassignaci (ta však neprobíhá automaticky, změnu hodnot kontrol je



▲ Obr. č. 1: **cobas**[®] 6000 v laboratoři TO Krajské nemocnice Liberec, a.s.



▲ Obr. č. 2: Vstup vzorků do analyzátoru (zelená šipka) a výstup (červená) přehledně z jednoho obslužného bodu. Kontinuální vkládání výrazně zrychluje vyšetření

nutné po reasignaci do analyzátoru zadat ručně). Tyto změny na aktuální databázi analyzátoru se provádějí po dvoustupňovém schválení – 1. na úrovni země, 2. na úrovni laboratoře. To znamená, že o každé změně se jak zastoupení firmy v dané zemi, tak odpovědný pracovník dané laboratoře nejen dozví, ale její aplikaci musí i schválit.

Core jednotka pracuje s 5pozičními stojánky. Na vstupu a výstupu se vkládá 1 nosič – každý maximálně pro 15 stojáneků (celkem tedy až 75 vzorků). Toto uspořádání umožňuje kontinuální vkládání vzorků a jejich odběr z paluby analyzátoru. Mimo to existuje statimový vstup pro vkládání urgentních vzorků.

Na vstupu je identifikační jednotka a za ní manipulační kruh pro 20 stojáneků. Určitý počet pozic lze vyčlenit pro statimy, resp. pro kontrolní vzorky. Díky tomu je zpracování statimových vzorků

skutečně urgentní a stálá dosažitelnost kontrolních vzorků umožňuje automatické zpracování QC. V naší laboratoři však možnost kontinuální přítomnosti kontrolních materiálů na palubě nevyužíváme, QC provádíme 1x denně před analýzami.

Modul má dvě měřicí cely s výkonem až 170 testů/hod. Pro jeden test je možno použít jen jednu nebo obě měřicí cely podle frekvence požadavků na příslušný test. Pro pipetování vzorků se používá špička na jedno použití, aby nedocházelo ke kontaminaci předchozím vzorkem. Špička je vybavena detekcí sraženiny, pěny a hladinovým senzorem. Analyzátor **cobas e 601** má dále tzv. předmycí stanici (PreWash), ve které se izolují paramagnetické částice, odstraní se reakční směs a částice se před měřením znovu resuspendují. Tím se odstraní případný matrix efekt.

Analyzátor **cobas e 601** využívá ke stanovení infekčních markerů kvalitativní analýzu založenou na principu elektrochemiluminiscence ECLIA s kvalitativním výstupem. Výsledky stanovuje automaticky software analyzátoru porovnáním elektrochemiluminiscenčního signálu získaného z produktu reakce vzorku a příslušných reagensů se signálem hodnoty cut-off získané kalibrací diagnostika. Kalibrátory jsou standardní součástí jednotlivých balení, kalibruje se každá nová šarže diagnostika. Stabilita kalibrace je průběžně ověřována v rámci QC – viz výše, v případě diskrepantních výsledků lze provést recalibraci. Výsledky jsou udávány slovně jako nereaktivní nebo reaktivní, případně hraniční (šedá zóna, u testů s vyznačenou šedou zónou v příbalovém letáku), a zároveň ve formě číselného výsledku, tzv. cut-off index (COI). Do LIS lze přenášet jak kvalitativní slovní hodnocení, tak číselný výsledek ve formě COI, přitom lze interpretaci výsledku regulovat nastavením v LIS (uživatel si může nastavit nebo zpřísnit šedou zónu).

Vlastní zkušenosti

Analyzátor **cobas e 601** jsme instalovali na TO KNL, a.s., 2. 10. 2017. Před vlastní instalací bylo třeba provést drobné stavební úpravy, které umožnily instalaci úpravny vody a napojení přístroje na odvod odpadních vod. Byl zaškolen personál, provedeny vstupní verifikace metod HIV Ag/Ab, anti-HCV, HBs Ag a protilátek proti syfilis a validace obousměrného převodu dat mezi analyzátozem a LIS. Do plného provozu byl analyzátor uveden 13. 11. 2017 a nahradil původní ELISA technologii.

Pro vyšetření uvedených markerů jsou jako primární vzorek používány vzorky séra nebo plazmy dárců krve. Vyšetření anti-HIV protilátky a antigenu p24 trvá u jednoho vzorku 27 minut, vyšetření ostatních infekčních markerů trvá 18 minut. První vzorek je tedy zpracován v rozmezí 30 až 40 minut, výsledky následných vzorků jsou k dispozici ve dvouminutových intervalech. Možnost kontinuálního vkládání vzorků umožňuje výrazně zrychlit vyšetření denního odběru.

Díky vkládání diagnostik ve formě kazet připravených k použití odpadá nutnost jejich další úpravy. Analyzátor automaticky načítá šarže diagnostik vkládaných na palubu, tím bylo možno odstranit manuální zadávání šarží pracovníkem laboratoře. To společně se zavedením deionizované vody přímo do analyzátoru snížilo nutné kroky prováděné pracovníkem laboratoře při obsluze analyzátoru.

V praxi oceňujeme rychlost provedení analýz, denní průměrný objem 80 vzorků je vyšetřen cca za 3,5 hodiny. Kompletní výsledky vyšetření jsou tak známy již v den odběru, vzorky s iniciálně reaktivním výsledkem jsou vyšetřeny opakovaně v jeden den, což navíc umožňuje vyřadit odběr s reaktivním výsledkem z použití při výrobě směsného trombocytového transfuzního přípravku.



Porovnali jsme záchyt nespecifických reaktivit u souboru dárců krve vyšetřených na analyzátoru **cobas e 601** v období 1. 1. – 31. 12. 2018 a na předchozím analyzátoru v období 1. 1. – 31. 12. 2016 (tab. č. 1).

analyzátor	cobas e 601	předchozí analyzátor
období vyšetření	2. 1. – 31. 12. 2018	4. 1. – 31. 12. 2016
počet vzorků celkem	17 070	18 010
počet negativních výsledků	17 023 (99,72%)	17 981 (99,84%)
počet reaktivních výsledků	47 (0,28%)	29 (0,16%)

▲ Tab. č. 1: Porovnání počtu zachycených opakovaných reaktivit

Na předchozím analyzátoru bylo ve sledovaném období zachyceno 29 opakovaně reaktivních výsledků (7x HIV, 8x HBsAg, 9x HCV, 5x syfilis), všechny vzorky byly potvrzeny Národní referenční laboratoří jako negativní. Na analyzátoru **cobas** bylo ve sledovaném období zachyceno 47 opakovaně reaktivních výsledků (12x HIV, 5x HBsAg, 15x HCV, 15x syfilis), všechny vzorky byly potvrzeny Národní referenční laboratoří jako negativní. Vyšší počet falešně reaktivních vzorků zachycených na analyzátoru **cobas e 601** je dle našich zkušeností způsoben krátkým intervalem, po který je analyzátor v provozu, a také tím, že obecně při zavedení nové metody do provozu vzrůstají zachycené reaktivity v porovnání s metodou používanou v minulosti. Výsledky konfirmací vzorků uvedených výše z NRL byly vždy negativní, zatím jsme se nesetkali s tzv. „nejasným“ výsledkem.

analyzátor	cobas e 601		předchozí analyzátor	
období vyšetření	2. 1. – 31. 12. 2018		4. 1. – 31. 12. 2016	
počet prvodárců	614		658	
reaktivní výsledky	počet	%	počet	%
celkem	6	0,98	5	0,76
HIV	2	0,003	2	0,003
HCV	2	0,003	2	0,003
HBsAg	0	0	0	0
syfilis	2	0,003	1	0,002

▲ Tab. č. 2: Porovnání nespecifických reaktivit zachycených u prvodárců

Výhodou je možnost zařadit dárce, kteří byli v minulosti vyřazeni pro nespecifické reaktivity, v programu re-entry zpět mezi aktivní dárce krve.

Závěr

Zavedení analyzátoru **cobas e 601** do provozu zařízení transfúzní služby hodnotíme jako přínosné pro rychlost a spolehlivost vyšetření a uživatelskou přívětivost. Oceňujeme významné urychlení vyšetření vzorků dárců krve, zvláště při větších objemech odběrů, dostupnost výsledků infekčních markerů v den odběru a s tím související možnost dříve uvolnit transfúzní přípravky pro použití.



Při porovnání reaktivit zachycených u prvodárců, kteří přišli na TO KNL, a.s., za jeden rok, jsme zachytili při vyšetření na analyzátoru **cobas e 601** celkem 6 nespecifických reaktivit, u předchozího analyzátoru 5, což pokládáme za srovnatelné výsledky (tab. č. 1).



MUDr. Renata Procházková, Ph.D.

Transfúzní oddělení KNL, a.s., Baarova 15, Liberec
Kontakt: renata.prochazkova@nemlib.cz

Oboru Hematologie a transfúzní služba se věnuje od roku 1990, čistě transfúzní problematice se věnuje od roku 1997. Odborná orientace zahrnuje zejména laboratorní problematiku, aferézy a klinickou transfúziologii. V současné době pracuje jako primářka transfúzního oddělení a přednostka Centra laboratorní medicíny Krajské nemocnice v Liberci, je vědeckým sekretářem Společnosti pro transfúzní lékařství ČLS JEP.