



Na jaře roku 2020 se celý svět výrazně změnil vlivem pandemie způsobené koronavirem SARS-CoV-2. Kromě této katastrofy se v tomtéž období začal měnit mikrosvět Oddělení klinické biochemie Fakultní Thomayerovy nemocnice (OKB FTN), a to zahájením přípravy výměny hlavních analyzátorů. Dosavadní technika postupně dosluhovala, smlouvy nemilosrdně končily. Vědomi si krucální důležitosti analyzátorů, na kterých se bude měřit naprostá většina požadavků klientů OKB FTN, věnovali jsme již časově i personálně náročné přípravě zadání výběrového řízení maximální úsilí. Z mnoha dostupných zdrojů jsme sbírali informace o parametrech, základních odlišnostech, výhodách a nevýhodách jednotlivých systémů na trhu, poctivě jsme navštívili řadu laboratoří disponujících různými analyzátorů. Zvažovali jsme důkladně, zda poprvé v historii OKB FTN nezačneme pracovat také s preanalytickou linkou a nám dosud neznámým middlewareem. Řešili jsme statické a stísněné prostorové dispozice centrální laboratoře a možnosti stavebních úprav. Začali jsme formulovat požadavky a zadávací dokumentaci, jež následně v konzultacích s právním oddělením a oddělením přístrojové techniky ještě mnohokrát změnila podobu. Finální zadání bylo zveřejněno 27. 2. 2020, cca po roce intenzivní přípravy.

Výměna hlavních analyzátorů na Oddělení klinické biochemie Fakultní Thomayerovy nemocnice

MUDr. KLÁRA BOŘECKÁ, Ph.D.

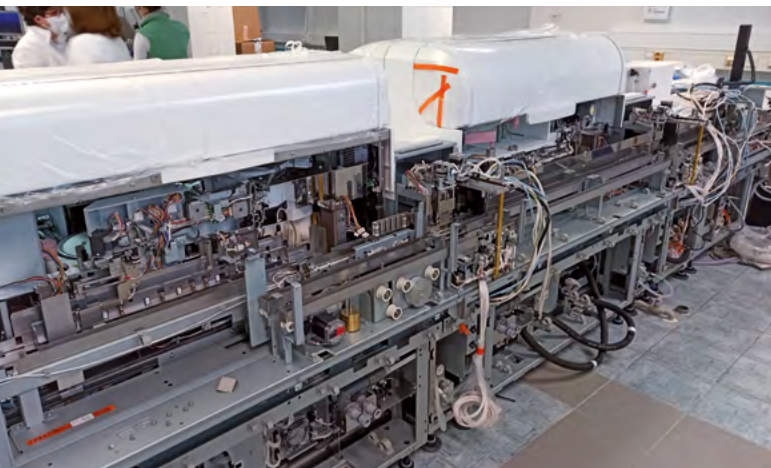
Oddělení klinické biochemie, Fakultní Thomayerova nemocnice Praha

Následovalo nelehké období odpovědí na mnohé dotazy, a především náročné a nekončící obhajování požadavků OKB FTN (celkem 40 dotazů a 2 námítky). Vzhledem k potřebám a záměrům laboratoře byla zadávací dokumentace logicky značně rozsáhlá, v některých oblastech ne zcela standardní. Základním společným jmenovatelem požadavků bylo zachování kvality měření minimálně shodné nebo

výšší v porovnání s výchozím stavem. Námítky byly řešeny až v Úřadu pro ochranu hospodářské soutěže, který však potvrdil plnou oprávněnost všech diskutovaných požadavků ze strany FTN. V listopadu 2020, po uplynutí ochranných lhůt, bylo tedy možné podepsat smlouvu. Vítězným uchazečem se stala firma Roche s.r.o., Diagnostics Division, s nabídkou dvou duplicitních analytických systémů

cobas® pro a preanalytickou linkou CCM **cobas® connection modules** (v osazení: 1 centrifuga, modul p 512 obsahující vstupní a výstupní část, odvíčkovač a zavíčkovač a třídící část s napojeným dopravníkem na analytické systémy), vše ovládáno middlewareem **cobas® infinity**. Přes opatření omezující výrobu a mezinárodní dopravu kvůli vrcholící covidové pandemii se firmě podařilo dodržet všechny závazné termíny dodávky.

Vlastní výměnu bylo nutné provést za plného provozu laboratoře, resp. při aktuálním nárůstu počtu vzorků na cca 700–800 denně, a to při omezení covidovými opatřeními. Bylo nutné provést statické zpevnění podlahy části laboratoře a menší stavební úpravy (odstranění zídky, nová dispozice rozvodů). Před vlastní výměnou probíhala ve spolupráci s firmou Roche pracná příprava konfigurace nového systému, tj. teoretické definování toku vzorků a distribuce metod pro jednotlivé analyzátorů a dny. Harmonogram plánované výměny byl detailně rozplánován tak, aby bylo do poslední chvíle možné měřit alespoň na původním menším analyzátoru, přičemž část původních přístrojů byla provizorně přestěhovávána do dalších laboratoří nebo chodby. Stěhování chladicích a mrazicích zařízení samozřejmě muselo být synchronizováno s přemístěním a kalibrací čidel centrálního monitoringu teplot. V určité fázi byla část centrální laboratoře uzavřena protiprašnou stěnou a zřízen vstup oknem.





Jakkoliv však byla vlastní výměna detailně naplánována a připravena, jednotlivé fáze na dny a hodiny všemi zúčastněnými potvrzeny (domluvena byla i záložní spolupráce s laboratoří IKEM pro případ havarijního stavu), na realitu jsme se beze zbytku samozřejmě připravit nemohli.

Bez problému byla instalována a zprovozněna první analytická linka **cobas® pro** „rutinní“, ale instalaci druhé linky **cobas® pro** „statimové“ bohužel již od počátku provázely neočekávané problémy. V časovém tlaku jsme provedli verifikace a porovnání výsledků všech metod s předchozím systémem **cobas® 8000 / cobas® 6000** (Roche) a mezi novými linkami navzájem. Byl zahájen plný provoz celého nového analytického systému (zatím bez preanalytické části), byl deinstalován a odvezen původní hlavní analyzátor **cobas® 8000**. Avšak po několika dnech řešení opakovaných poruch nového „statimového“ **cobas® pro** se instalační tým nakonec rozhodl po poradě s laboratoří uspořádat plný funkční provoz kompletní výměnou této linky, kterou pracovníci fy Roche v této vypjaté situaci zvládli obětavě prakticky přes noc.

Bylo nutné znovu instalovat aplikace, provést kalibrace, porovnání výsledků, včetně statistického vyhodnocení, a verifikace metod, tentokrát již většinou z čerstvých vzorků. Zatížení zbylé „rutinní“ analytické linky a instalace ovladačů SW **cobas® infinity** a LIS **OpenLIMS** (Stapro s.r.o.) vedly v pátek odpoledne k výpadku komunikace analyzátoru s LIS. Odstranění tohoto problému a nastolení normální provozní funkce na straně **cobas® infinity** provedli zaměstnanci fy Roche kolem druhé hodiny ranní v sobotu. Avšak vážné poruchy přenosu dat nás ještě provázely, tentokrát na rozhraní LIS. Pondělí a úterý byly naprosto kritické, **cobas® pro** „rutinní“ byl sice funkční (s poloviční kapacitou celého systému), ale nepřijímaly se požadavky z LIS ani výsledky do LIS. Bylo tedy nutné manuálně zadávat všechny požadavky a přepisovat

všechny výsledky, přičemž v tyto dny laboratoř standardně dostává nejvíc vzorků. Záložní původní **cobas® 6000** v jednu chvíli též havaroval a zhruba 30 statimových vzorků bylo nutné odeslat do laboratoře IKEM.

Současně s těmito nepředvídatelnými komplikacemi nás zhruba za týden čekal náročný audit R3 NASKL (nový typ auditu s nejvyšším možným rozsahem), který kvůli smlouvám s pojišťovnou nebylo možné odsunout. V tuto kritickou dobu si skutečně celý laboratorní personál sáhl na dno – pracovali jsme denně do noci a osobní oběti šly mnohdy vysoce nad rámec pracovních povinností časově i fyzickou a psychickou výdrží.

Nakonec se však podařilo společnými silami, včetně mezinárodní spolupráce s vývojáři SW, tuto nelehkou situaci a nečekané technické problémy zvládnout a atmosféra se uklidnila. Proběhlo zaškolení, zcela nová organizace provozu (především pro nás nové automatické

preanalytické zpracování) se ustálila, vyladili jsme detaily. Komunikaci LIS **OpenLIMS**, **cobas® pro** a middleware **cobas® infinity** se ve spolupráci s firmami Stapro s.r.o. a Roche s.r.o., Diagnostics Division, podařilo po počátečních problémech nastavit jako plně funkční, včetně reflexního testování, všech výpočtů a rozporů, sledování duplicit, automatických komentářů, náhrady výsledku textem apod. Auditem NASKL jsme úspěšně prošli. Vyskytují se již jen zcela běžné provozní problémy. Od března 2021 máme k dispozici moderní plně automatický komplexní analytický a preanalytický systém, který je schopen naplnit potřeby velké fakultní nemocnice, a to jak v rozsahu spektra prováděných metod, tak i kvality a rychlosti měření. Na začátku května 2021 byla nová technika slavnostně představena vedení Fakultní Thomayerovy nemocnice, v čele s ředitelem doc. MUDr. Zdeňkem Benešem, CSc.

Srovnání parametrů původního a nového systému ukazuje tabulka č. 1.

	Původní systém	Nový systém
Název	cobas® 8000: c 702, c 502, ISE, 2x e 602 cobas® 6000: c 501, ISE, e 601	2x cobas® pro: c 503, ISE, e 801 - nově preanalytická linka CCM: centrifuga cobas p 471 + cobas p 512 (vstupní modul, odvíčkovač + zavíčkovač, třídící modul) - nově cobas® infinity
Organizace provozu	cobas® 8000 pro rutinní i statimové analýzy v pracovní době, výjma několika málo požadovaných metod, které je nutno provádět statimově (etanol, bílkovina a glukóza v likvoru apod.) – ty na cobas® 6000, cobas® 6000 pro pohotovost	- oba cobas® pro v provozu do cca 16:00 hod., poté pouze cobas® pro „statimový“ - základní metody na obou cobas® pro, rutinní metody rozděleny rovnoměrně mezi obě linky
Výkon	Celkem: - biochemie 3 200 testů/h - ISE 1 800 testů/h - imunochemie 510 testů/h	Celkem: - biochemie 2 000 testů/h - ISE 1 800 testů/h - imunochemie 600 testů/h
Počet pozic pro reagenty na palubě	Celkem: - biochemie 190 - imunochemie 75	Celkem: - biochemie 120 - imunochemie 96
Objem vzorku	1,5–50 µl/test	1–30 µl/test (≤3 µl u 95% biochemických metod)
Mrtvý objem	- biochemie 50 µl - imunochemie 100 µl	50 µl

▲ Tab. č. 1: Srovnání parametrů původního a nového systému



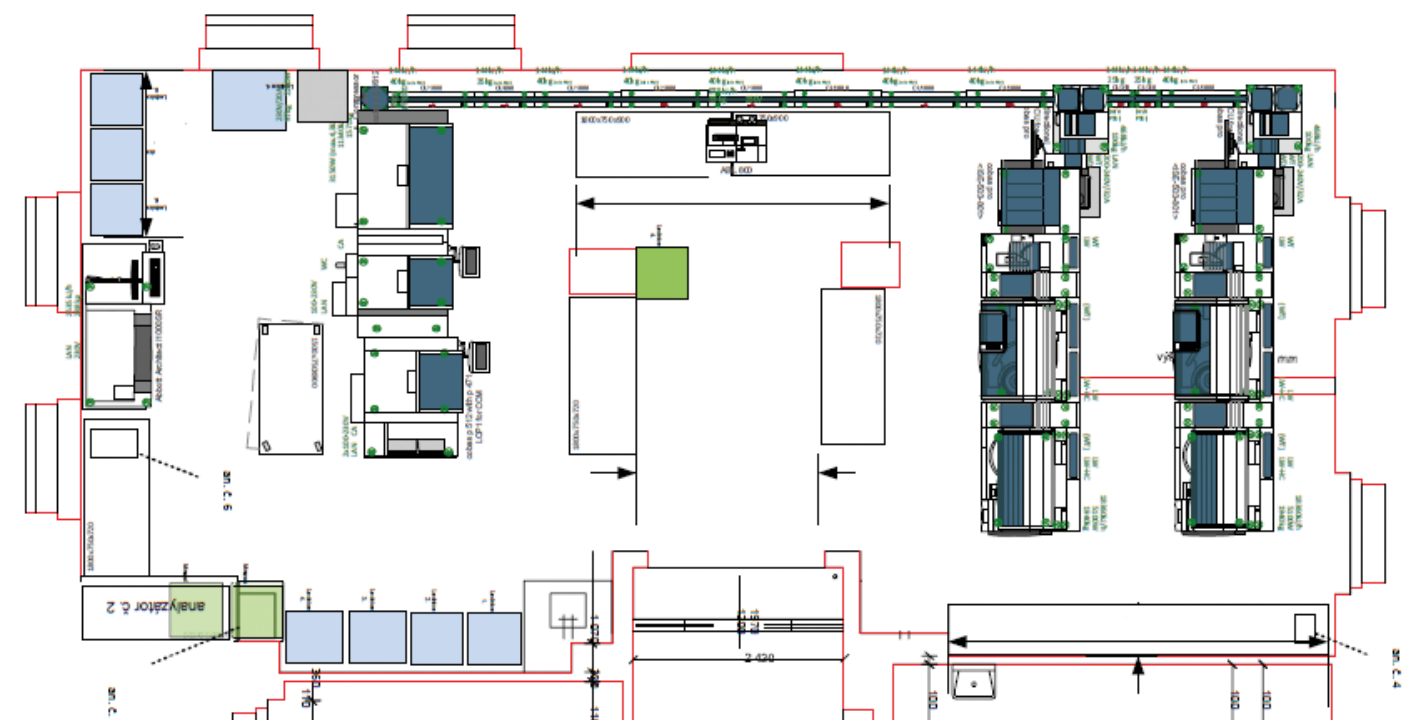
Uspořádání přístrojové techniky a rovněž pracovních míst v centrální laboratoři bylo nutné zcela změnit. Velkým omezením se ukázaly být dva nosné sloupy ve středu laboratoře, přesto se podařilo najít uspokojivý model, viz obr. č. 1.

Čas dodání výsledku od přijetí vzorku do laboratoře (TAT, Turn Around Time) je na Oddělení klinické biochemie FTN

historicky pečlivě sledován a detailně vyhodnocován vždy po uplynutí aktuálního měsíce. Zatímco u statimových vzorků činí maximální čas odeslání výsledků běžných 60 minut, uvolňování výsledků rutinních vzorků laboratoř garantuje již do (značně nestandardních) 150 minut. Nižší výkon nového systému (viz tab. č. 1) je nyní vyvážen automatizací preanalytického zpracování a automatickou distribucí vzorků mezi dvě linky podle jejich aktuálního vytížení a podle požadavků v daném vzorku pomocí middlewaru a dopravníku. Původní průměrný TAT dosahoval u rutinních krevních vzorků 83–93 minut, u statimových 43–46 minut; na novém systému po ustálení provozu t. č. dosahuje cca 82 minut u rutinních vzorků a cca 44 minut u vzorků statimových. TAT rutinních vzorků se tak ještě zkrátí, TAT u vzorků statimových je zhruba stejný nebo mírně vyšší (stále však s dostatečnou rezervou pod stanoveným limitem). Middleware **cobas® infinity** přinesl užitečný a využívaný nástroj pro sledování času zpracování vzorku z dalšího pohledu oproti LIS – umožňuje sledovat čas od příjmu vzorku do laboratoře do prvního načtení v preanalytické nebo analytické lince

s možností různého barevného rozlišení dle přiblížení k nastavenému limitu.

Oproti předchozímu analytickému systému je vytížení obou linek jednoznačně rovnoměrnější. Základní metody jsou duplicitně na obou analyzátořech, speciální metody jsou stejným dílem rozděleny mezi analyzátoř, vlastní distribuci vzorků řídí middleware. Před zahájením provozu preanalytické linky, která byla instalována poslední, byla distribuce vzorků mezi dvě linky řešena pomocí middlewaru a barevného rozlišení stojánek, což lze s výhodou využít i pro případ výpadku preanalytické linky. Před spuštěním systému jsme pečlivě zvážili rozložení metod mezi analyzátoř, včetně statistického vyhodnocení předchozího období tak, aby v minimu případů docházelo k nutnosti zpracování jednoho vzorku na obou analyzátořech (metody byly rozděleny tak, aby funkční celky a obvykle společně ordinované skupiny analytů zůstaly zachovány). Zpětná analýza po zahájení provozu ukázala, že nutnost zpracovat jeden vzorek na obou analyzátořech skutečně nastává pouze v jednotkách případů za měsíc.



▲ Obr. č. 1: Uspořádání nové techniky v centrální laboratoři OKB FTN



Interní kontrolu kvality a denní údržbu provádíme u rutinní linky před spuštěním provozu (cca v 6:00 h, noční služba), u statimové linky cca ve 12:00 h. Pro většinu metod používáme nezávislé interní kontroly třetích stran. Denní údržba má oproti původnímu systému méně kroků, některé kroky údržby dokonce probíhají „na pozadí“ bez zásahu obsluhy.

Preanalytická linka nahradila manuální práci na příjmu vzorků. Ihned po načtení přes čárový kód do LIS (a tím do middleware) se naprostá většina uzavřených vzorků vkládá do preanalytické linky. Původní manuální zpracování zůstalo pouze pro vzorky s velmi malým množstvím materiálu a vzorky se speciálními preanalytickými požadavky (např. amoniak, homocystein, glykovaný hemoglobin apod.). Zvolili jsme rekurzivní mód zpracování vzorků, tj. nejprve je v daném vzorku z primární zkumavky zpracováno vše dostupné na **cobas® pro** (kde lze stanovit většinu všech metod laboratoře), poté následují další cíle – stanovení z primární zkumavky na dalších analyzátořech v centrální laboratoři a odlití alikvotů pro speciální analýzy. Pomocí middleware jsou nastaveny cílené profily zpracování vzorků dle dnů v týdnu a denní doby, tj. např. vzorky obsahující metody měřené v úterý jsou tento den v pracovní době distribuovány do příslušného **cobas® pro**, mimo tuto dobu naopak do cílového stojánu pro odlití alikvotů. Přepnutí profilu na konci směny v SW **cobas® infinity** je velmi jednoduché. Preanalytická linka a middleware přinesly rovněž významné zlepšení archivace vzorků. Finálním cílem kompletně zpracovaného vzorku v **cobas p 512** je archivační stojánek, určený po naplnění přímo k umístění v lednici. Každý vzorek je pevně uzavřen aluminiovou fólií, což zabraňuje odpařování a zmenšuje potenciální biologické riziko pro personál. Pozice každého vzorku v archivačním stojánu je zřetelně označena v LIS. Původní sestavu jsme změnili na dva 75poziční archivační stojánky, aby byla nutnost výměny minimalizována.

Po ustálení provozu zvládá preanalytickou linku kontrolovat a obsluhovat tatáž laborantka, která má na starosti kontrolu statimových výsledků.

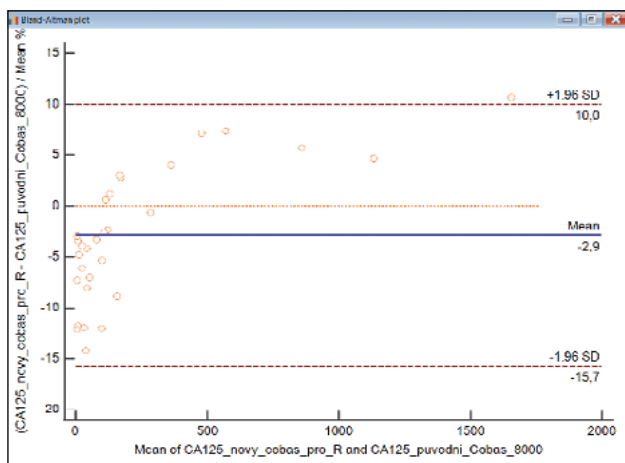
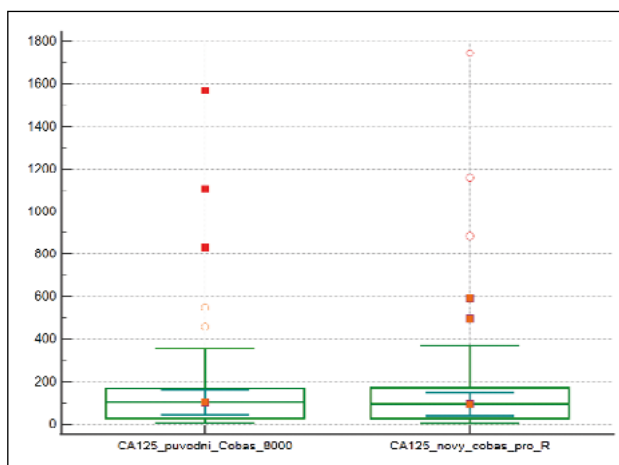
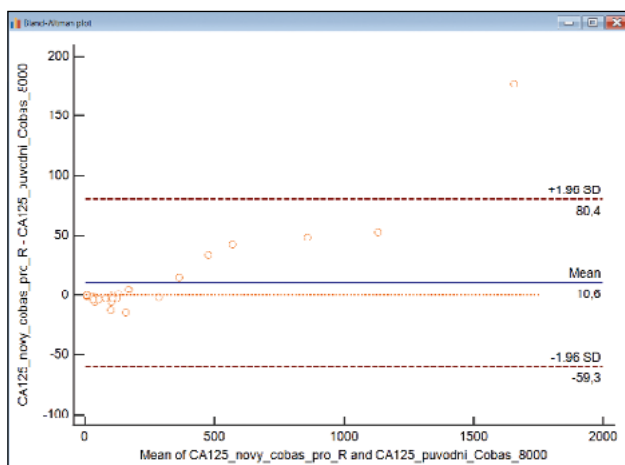
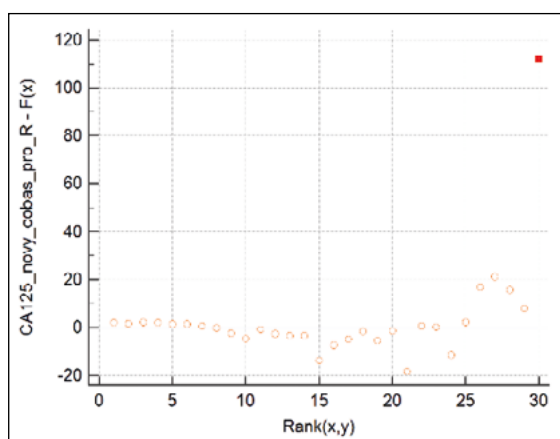
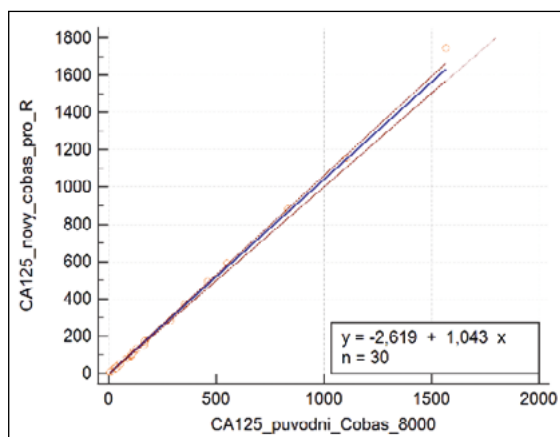
Před spuštěním ostrého provozu na novém systému jsme provedli nutné, časově velmi náročné porovnání všech metod proti měření na původním systému. Za tím účelem jsme průběžně sbírali vzorky, resp. alikvoty do hlubokomrazičích boxů a zapisovali výsledky do připravených tabulek. Matematicko-statistické procedury pro všech 115 výměnou dotčených metod byly provedeny pomocí

aplikace Microsoft® Excel® a MedCalc Software verze 20; porovnávány byly výsledky z původního analyzátoru s výsledky z nového analyzátoru na 20–30 patientských vzorcích, u metod duplicitně zastoupených na obou nových analyzátořech i tyto proti sobě (u základních metod tedy trojí srovnání). Příklad záznamu statistického vyhodnocení viz obr. č. 2 – vedle základních popisných charakteristik byla vždy provedena korelační (Spearman) a regresní (Passing-Bablok) analýza, rozdílové (Bland-Altman relativní i absolutní) a krabíkové grafy, testy významnosti rozdílu výběrových





Passing and Bablok regression		
Variable X	CA125_puvodni_Cobas_8000	
Variable Y	CA125_novy_cobas_pro_R	
Sample size	30	
	Variable X	Variable Y
Lowest value	5,8000	5,3900
Highest value	1568,0000	1745,0000
Arithmetic mean	224,5600	235,1273
Median	104,4500	95,8000
Standard deviation	360,2298	393,5131
Standard error of the mean	65,7687	71,8453
Regression Equation		
$y = -2,619143 + 1,043009 x$		
Systematic differences		
Intercept A	-2,6191	
95% CI	-5,6898 to -0,8447	
Proportional differences		
Slope B	1,0430	
95% CI	1,0056 to 1,0618	
Random differences		
Residual Standard Deviation (RSD)	22,7426	
± 1.96 RSD Interval	-44,5756 to 44,5756	
Linear model validity		
Cusum test for linearity	No significant deviation from linearity (P=0,06)	
Spearman rank correlation coefficient		
Correlation coefficient	0,999	
Significance level	P<0,0001	
95% CI	0,998 to 1,000	



Wilcoxon test (paired samples)		
Sample 1	CA125_puvodni_Cobas_8000	
Sample 2	CA125_novy_cobas_pro_R	
	Sample 1	Sample 2
Sample size	30	30
Lowest value	5,8000	5,3900
Highest value	1568,0000	1745,0000
Median	104,4500	95,8000
95% CI for the median	41,5525 to 157,8804	36,7174 to 146,6752
Interquartile range	27,0000 to 169,2000	25,4000 to 174,0000
Hodges-Lehmann median difference	-0,3500	
95% Confidence interval	-2,0000 to 14,3000	
Wilcoxon test (paired samples)		
Number of positive differences	10	
Number of negative differences	20	
Large sample test statistic Z	0,298241	
Two-tailed probability	P = 0,7855	

▲ Obr. č. 2: Příklad statistického vyhodnocení porovnání výsledků na původním a novém analytickém systému



souborů (párový t-test / Wilcoxonův test) a závěrečné slovní zhodnocení. Všechny metody měly vzájemnou srovnatelnost velmi dobrou, v naprosté většině případů nebyly odchylky výsledků klinicky významné. Významnější posun hodnot byl nalezen u stanovení anti-TSHR (shoda ve vztahu ke cut-off pro Grawes-Basedowovu chorobu však byla vysoká), NSE, železa, žlučových kyselin a hydroxybutyrátu. Výsledky srovnání byly oznámeny klinickým partnerům. Rovněž jsme současně u všech metod revidovali referenční rozmezí doporučené výrobcem, technické meze (rozsah měření), stabilitu analytů a omezení analýzy kvalitou vzorku (hemolýzou, chylózou a iktericitou) a provedli a oznámili potřebné změny. Spektrum metod se (prozatím) rozšířilo o čtyři nová vyšetření, stanovení dvou analytů bylo ukončeno.

Ve srovnání s původním analytickým systémem jsme vyhodnotili především tato vylepšení: je prodloužena stabilita reagensů a tím je omezena nutná manipulace s nimi, je možnost vkládat reagenzie do všech modulů za chodu vyjma ISE, vkládat mikrokepy s minimálním objemem vzorku do všech analytických modulů, je výrazně menší spotřeba vzorku a menší mrtvý objem. Ačkoliv inkubační doby reakcí jsou shodné s původním systémem, vylepšením technických parametrů analyzátoru je celková doba měření kratší. Technologie „SonicWash“ (UZ čištění vzorkové jehly) umožňuje optimalizaci a další zrychlení procesu měření – již

není nutné předřazovat k pipetování nejprve imunochemické požadavky. Díky autokalibracím je snížena ekonomická zátěž a čas potřebný na kalibrace, reagenzie opatřené RFID čipy jsou shodné pro obě analytické linky. Je snížený počet kroků údržby, některé kroky údržby probíhají „na pozadí“. Velmi jsme uvítali možnost jednoduchého zadání vícečetných opakování měření analytu pro sledování opakovatelnosti. Preanalytická linka šetří práci pracovníků na příjmu laboratoře, podstatně redukuje možnost chyby vlivem lidského faktoru, minimalizuje kontakt pracovníků s potenciálně infekčním biologickým materiálem. Je k dispozici přehledný archiv vzorků s uzavřenými zkumavkami, což dále snižuje biologické riziko a odpařování vzorku pro případné dodatečné požadavky vyšetření, archivační stojánky uspořily místo v lednicích, vzorky jsou pro případné doordínace snadno dohledatelné. SW **cobas® infinity** umožňuje sledování cesty vzorku laboratoří a užitečnou kontrolu času od příjmu vzorku do laboratoře do prvního načtení v preanalytickém nebo analytickém systému, umožňuje sledování denních průměrů, „inteligentní“ dozor nad spotřebou reagensů (podle spotřeby v posledních 9 týdnech je vyhodnocena odhadovaná spotřeba konkrétní reagenzie podle jednotlivých dnů v týdnu a hlášeno upozornění na insuficientní množství).

Závěrem je zcela namístě poděkovat vedení FTN za profesní i lidskou podporu zejména v psychicky náročném období



přecházejícím vlastní výměně analytického systému, firmě Roche s.r.o., Diagnostics Division, za příkladnou spolupráci, vstřícnost k řešení našich požadavků a nebyvalou obětavost pracovníků firmy a samozřejmě našim klinickým partnerům za trpělivost především v počátečních fázích výměny. Zvláště však musím své velké díky směřovat ke všem pracovníkům Oddělení klinické biochemie FTN. Tak nesmírně obtížný úkol, jakým výměna hlavních analyzátorů v takto velkém rozsahu bezesporu je, za plného provozu laboratoře, a tedy s obrovským přidělem práce navíc, v provizorních podmínkách, při covidové pandemii a s nutným absolvováním externího auditu, zvládli opravdu se ctí. Děkuji!



MUDr. Klára Bořecká, Ph.D.

Oddělení klinické biochemie, Fakultní Thomayerova nemocnice Praha
Kontakt: klara.borecka@ftn.cz

Vystudovala 1. LF UK v Praze, atestace z klinické biochemie získala roku 1999 a 2007. Od roku 1996 pracuje ve Fakultní Thomayerově nemocnici, kde od roku 2010 zastává funkci primárky Oddělení klinické biochemie a od roku 2020 pozici vedoucího Úseku laboratorních metod. Ve volném čase ráda čte, běhá, dobře pije a jí a navštěvuje únikové hry.



Základní informace o IVD zdravotnickém prostředku firmy Roche – systémech **cobas® pro**, **cobas® 6000**, **cobas® 8000**, **cobas® connection modules (CCM)**, **cobas p 471 + cobas p 512** a software **cobas® infinity** naleznete na go.roche.com/CZ_eLabDoc. Základní informace o zmíněných IVD zdravotnických prostředcích jiných dodavatelů žádejte u zodpovědných firem.