

VERIFIKACIJA HEMATOLOŠKOG BROJAČA

Ana Nikler
spec.med.biochem. i lab.med.

Zašto
verifikacija?

Osobitosti
verifikacije
brojača

Postoje li
smjernice?

Kako rade
laboratoriji
u praksi?

**Zašto
verifikacija?**

Provjera analitičke
kvalitete i pouzdanosti
rezultata mjerenja

Odgovornost
MEDICINSKOG
BIOKEMIČARA

Osobitosti
verifikacije
brojača

Postoje li
smjernice?

Kako rade
laboratoriji
u praksi?

**Zašto
verifikacija?**

**Osobitosti
verifikacije
brojača**

Postoje li
smjernice?

Kako rade
laboratoriji
u praksi?

Provjera analitičke
kvalitete i pouzdanosti
rezultata mjerenja

Odgovornost
MEDICINSKOG
BIOKEMIČARA

Uzorci – priroda i nestabilnost uzoraka pune krvi i
ekstravaskularnih tekućina

**Zašto
verifikacija?**

Provjera analitičke
kvalitete i pouzdanosti
rezultata mjerenja

Odgovornost
MEDICINSKOG
BIOKEMIČARA

**Osobitosti
verifikacije
brojača**

Uzorci – priroda i nestabilnost uzoraka pune krvi i
ekstravaskularnih tekućina

**Postoje li
smjernice?**

Nejasne smjernice - kako postupiti?

Kako rade
laboratoriji
u praksi?

**Zašto
verifikacija?**

Provjera analitičke
kvalitete i pouzdanosti
rezultata mjerenja

Odgovornost
MEDICINSKOG
BIOKEMIČARA

**Osobitosti
verifikacije
brojača**

Uzorci – priroda i nestabilnost uzoraka pune krvi i
ekstravaskularnih tekućina

**Postoje li
smjernice?**

Nejasne smjernice - kako postupiti?

**Kako rade
laboratoriji
u praksi?**

ANKETA

Vanja Radišić Biljak, Ivana Lapić*, Valentina Vidranski, Ivona Herceg, Franciska Tomić, Brankica Šimac, Martina Horvat, Helena Čičak, Dora Vuljanić, Adrijana Dorotić and Ana Nikler

Policies and practices in the field of laboratory hematology in Croatia – a current overview and call for improvement

<https://doi.org/10.1515/cclm-2021-1027>

Received September 20, 2021; accepted November 18, 2021;
published online December 1, 2021

- | | | |
|---|--|-------------|
| 18. Did you <u>perform verification of hematology analyzer(s)</u> prior its introduction into routine practice? | a) Yes | 89/129 (69) |
| | b) No | 40/129 (31) |
| 19. Please specify the <u>guidelines used</u> for verification of hematology analyzers. | a) Various CLSI guidelines (EP15-A2, EP15-A3, H20-A2, H26-A2, EP05-A2) | 42/83 |
| | b) National recommendations by CCMB | 22/83 |
| | c) ICSH guidelines | 4/83 |
| | d) In-house verification protocol | 15/83 |

31%

LABORATORIJA NIJE VERIFICIRALO ANALIZATOR KOJI KORISTE U SVAKODNEVNOJ RUTINI!





Verification and quality control of routine hematology analyzers

J. Y. VIS, A. HUISMAN



ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting

INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY, WRITING GROUP: C. BRIGGS*, N. CULP†, B. DAVIS†, G. D'ONOFRIO‡, G. ZINI‡, S. J. MACHIN§, ON BEHALF OF THE INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION OF HAEMATOLOGY

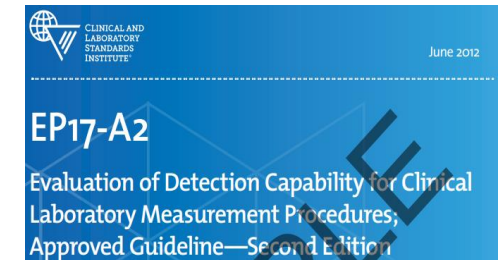


ICSH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids

G. BOURNER*, B. DE LA SALLE†, T. GEORGE‡, Y. TABE§.¶, H. BAUM**, N. CULP††, T. B. KENG‡‡, ON BEHALF OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN HEMATOLOGY (ICSH)



CLINICAL AND
LABORATORY
STANDARDS
INSTITUTE®



Comparative Study > Clin Chem Lab Med. 2015 Jun;53(7):1057-71. doi: 10.1515/clin-2014-0945

Comparison of five automated hematology analyzers in a university hospital setting: Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, and Sysmex XN-2000

Mathias Bruegel, Dorothea Nagel, Manuela Funk, Petra Fuhrmann, Johannes Zander, Daniel Teupser

Practical Laboratory Medicine 22 (2020) e00186

Contents lists available at ScienceDirect

Practical Laboratory Medicine

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/plabm

ELSEVIER

Check for updates

Comparative Study > Clin Lab. 2016 Dec 1;62(12):2449-2453. doi: 10.7754/clinlab

Evaluation of Cell Counting in Body Fluids: Comparison of Two Automated Hematology Analyzers with Manual Microscopy

Sema Genc, Elmire Dervisoglu, Dilara Omer, Emine Kucukates, Beyhan Omer, Evrim Ademoglu

Analytical validation of white blood cell differential and platelet assessment on the Sysmex DI-60 digital morphology analyzer

Ivana Lapić, Marija Miloš, Marija Dorčić, Valentina Drenški, Désirée Coen Herak, Dunja Rogić

First published: 31 May 2023 | <https://doi.org/10.1111/ijlh.14101> | Citations: 1

Evaluation of biological fluid analysis using the sysmex XN automatic hematology analyzer

Vicente Aguadero, Ruth Cano-Corres, Eugenio Berlanga, Montserrat Torra

Cytometry B Clin Cytom. 2018 Sep;94(5):680-688. doi: 10.1002/cyto.b.21587. Epub 2017 Aug 31.



A comparison of Sysmex-XN 2000 and Yumizen H2500 automated hematology analyzers

Milena Malecka, Olga Ciepiela

*Department of Laboratory Medicine, Medical University of Warsaw, Poland
 *General Laboratory of Central Clinical Hospital, University Clinical Center, Warsaw, Poland

Received: 20 August 2020 | Revised: 29 October 2020 | Accepted: 9 November 2020

ISIJ International Journal of Laboratory Hematology

WILEY

Check for updates

ORIGINAL ARTICLE

Evaluation and comparison of the new Mindray BC-6200 hematology analyzer with ADVIA 2120i

Katarzyna Kulik, Iwona Kwieciński, Beata Chelstowska, Eżbieta Rutkowska, Piotr Rzepecki

Received: 20 August 2020 | Revised: 29 October 2020 | Accepted: 9 November 2020

ISIJ International Journal of Laboratory Hematology

WILEY

Check for updates

Research Article

Said Inzir and Kerim Ehan Palaoglu

Evaluation of the performance of sysmex XN-3100 automated hematology analyzer regarding the sysmex XE-2100 and microscopic examination

Keywords: biological variation; blood cell count; comparability; hematology; verification.

https://doi.org/10.1111/ijlh.2020.00004

Received January 21, 2020; accepted October 1, 2020; published online November 12, 2020

Check for updates

Evaluation of the New Beckmann Coulter Analyzer DxH 900 Compared to Sysmex XN20: Analytical Performance and Flagging Efficiency

Maite Serrando Queral, Javier Nieto-Moragas, Anna Marull Arnall, Meritxell Deulofeu Figueras, Orlando Jiménez-Romero

Diagnosics (Basel). 2021 Sep 24;11(10):1756. doi: 10.3390/diagnostics11101756.

Performance evaluation of the new Sysmex XR-Series haematology analyser

Kenichi Fujimaki, Kornelia Hummel, Immaculate Magonde, Katharina Dammert, Yoshiko Hamaguchi, Konstantinos Mintzas, Jarob Saker, Ondrej Valina, Klaus-Martin Otte

Received: 3 August 2020 | Revised: 16 November 2020 | Accepted: 26 November 2020

ISIJ International Journal of Laboratory Hematology

WILEY

Check for updates

ORIGINAL ARTICLE

Performance evaluation of the new hematology analyzer UniCel DxH 900

Alicia Martínez-Iribarren, Xavier Tejedor, Angels Sala Sanjaume, Alba Leis, Maria Doladé Botias, Cristian Morales-Indiano

Received: 3 August 2020 | Revised: 16 November 2020 | Accepted: 26 November 2020

ISIJ International Journal of Laboratory Hematology

WILEY

Check for updates

Original Article

Performance evaluation of the new hematology analyzer Sysmex XN-series

J. Y. Seo, S.-T. Lee, S.-H. Kim

First published: 12 May 2014 | <https://doi.org/10.1111/ijlh.12254> | Citations: 77

Validation of the body fluid module on the new Sysmex XN-1000 for counting blood cells in cerebrospinal fluid and other body fluids

Chérina Fleming, Rob Brouwer, Jan Lindemans, Robert de Jonge

Clin Chem Lab Med. 2012 Oct 1;50(10):1791-8. doi: 10.1515/clin-2011-0927.

Verification of a 6-part differential haematology analyser Siemens Advia 2120i

Helena Čičak, Vanja Radšić Biljak, Ana-Maria Šimundić

¹Department of Medical Laboratory Diagnostics, University Hospital "Sveti Duh", Zagreb, Croatia
²Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia



Dobra
organizacija
plana
provedbe
ispitivanja



Pažljiv
odabir i
manipulacija
uzorcima



**USPJEŠNA
VERIFIKACIJA**

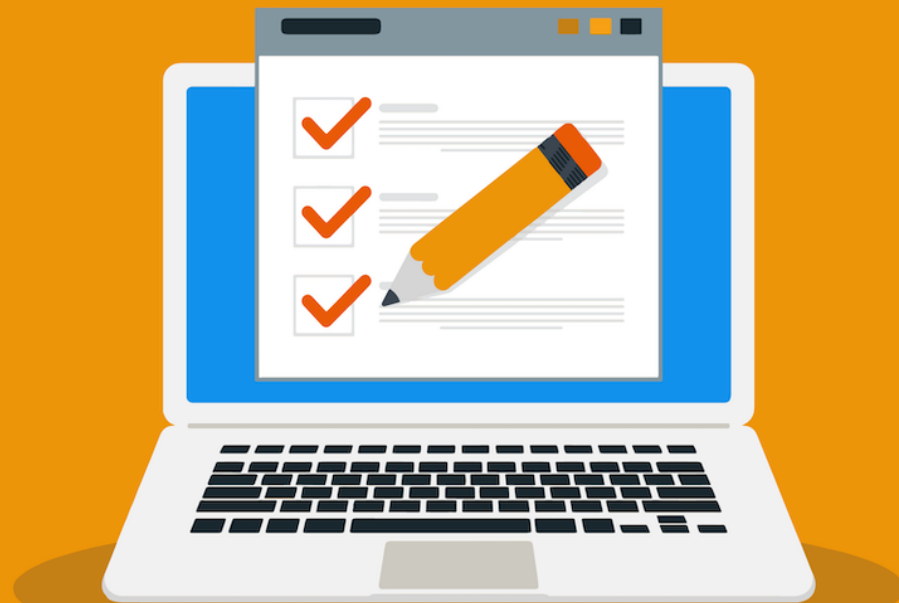


GLAVNE SASTAVNICE VERIFIKACIJSKOG PROTOKOLA

- Procjena preciznosti mjerenja
- Procjena točnosti mjerenja
- Provjera linearnosti mjerenja
- Verifikacija granice slijepe probe
- Određivanje granice detekcije
- Određivanje granice kvantifikacije
- Procjena utjecaja prijenosa analita (carryover)
- Verifikacija morfoloških upozorenja



ACCEPTANCE CRITERIA



KRITERIJI PRIHVATLJIVOSTI

- preporuke proizvođača
- biološka varijabilnost
- literaturni podaci
(state-of-the-art)

Procjena preciznosti mjerenja

SMJERNICE ?

SMJERNICE	PONOVLJIVOST	UKUPNA PRECIZNOST	UZORCI	Napomena
1)	1 serija 20x	20 dana 1x	kontrolni materijali	SOTA kriteriji
2)	1 serija 10x	20-30 dana 1x	kontrolni materijali Svi parametri – niska, normalna, visoka	-
3)	1 serija 31x	25 dana 2x (razmak 5-12h)	<u>PONOVLJIVOST</u> 4 različita normalna uzorka i 3 s anemijom (60-100 g/L), trombocitopenijom (0-50) i leukopenijom (0-2) <u>PRECIZNOST</u> kontrolni materijali	-

- 1) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int Jnl Lab Hem 2016;38:100-109.
- 2) Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ, on behalf of the International Council for Standardization in Haematology. ICHS guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int Jnl Lab Hem 2014;36:613-627.
- 3) CLSI H26-A2:2010 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard—Second Edition.

Procjena preciznosti mjerenja

ŠTO
NAPRAVITI?

- **preciznost u seriji uzoraka (ponovljivost)**

- kontrolni materijali različitih konc.razina
- uzorci EDTA-pune krvi pacijenata
- broj stanica na granicama kliničke odluke i kritičnih vrijednosti
- **10-20 mjerenja**
 - ovisno o aspiracijskom volumenu analizatora

- **preciznost iz dana u dan (ukupna preciznost)**

- kontrolni materijali različitih konc.razina
 - duljina ispitivanja ovisi o deklariranoj stabilnosti
- **uzorci pacijenata NE !**
 - zbog nestabilnosti stanica

KS + DKS + eritroblasti
(svi mjerni parametri koji
se izdaju na nalazu)

Koristiti različite načine
aspiriranja ako su dostupni !

PRIMJER

PARAMETAR	PONOVLJIVOST (%)				UKUPNA PRECIZNOST (%)				
	\bar{x}	CV%	BC-5310	SOTA*	CV%	BIOLOŠKA VARIJABILNOST			SOTA*
						OPT	POŽ	MIN	
Leukociti	3,41	2,4	2,0	2,5	2,8	2,8	5,6	8,3	2,5
Neutrofilni granulociti %	53,0	1,4	4,0	2,5	3,2	3,5	7,1	10,6	2,5
10 ⁹ /L	1,67	2,8	4,0	2,5	2,7	3,5	7,1	10,6	2,5
Limfociti %	34,9	6,9	3,0	3,5	4,8	2,7	5,4	8,1	3,5
10 ⁹ /L	2,82	3,4	3,0	3,5	3,6	2,7	5,4	8,1	3,5
Monociti %	5,8	7,8	2,0	8,5	13,6	3,3	6,7	10,0	8,5
10 ⁹ /L	0,18	8,8	2,0	8,5	10,8	3,3	6,7	10,0	8,5
Eozinofilni granulociti %	5,9	13,5	1,5	10	15,9	3,8	7,5	11,3	10
10 ⁹ /L	0,19	15,3	1,5	10	14,4	3,8	7,5	11,3	10
Bazofilni granulociti %	24,8	2,3	0,8	20	3,3	3,1	6,2	9,3	20
10 ⁹ /L	0,78	3,6	0,8	20	1,6	3,1	6,2	9,3	20
Eritrociti	1,97	1,5	1,5	1,1	0,9	0,7	1,4	2,1	1,1
Hemoglobin	54	1,5	1,5	0,9	1,0	0,7	1,4	2,0	1,0
Hematokrit	0,158	1,6	/	1,2	0,9	0,7	1,4	2,1	1,4
MCV	80,6	0,5	1,0	0,6	0,5	0,1	0,4	0,6	0,8
MCH	27,4	1,3	/	1,1	0,9	0,2	0,4	0,5	1,1
MCHC	339	1,4	/	/	1,0	0,3	0,5	0,8	/
RDW	16,1	0,8	/	2,0	1,0	0,4	0,9	1,3	2,0
Trombociti	46	6,6	6,0	4,5	5,9	/	/	/	4,5
MPV	8,8	3,8	4,0	2,5	3,6	0,6	1,2	1,7	2,5

*SOTA- engl. state-of-the-art- kriteriji iz literaturnih podataka.

OPT- optimalni, POŽ- poželjni, MIN- minimalni kriteriji.

Crvena boja – nije zadovoljen kriterij. Zelena boja – kriterij je zadovoljen.

Mindray BC-5310

QC level 1



PRIMJER

PARAMETAR	PONOVLJIVOST (%)				UKUPNA PRECIZNOST (%)				
	\bar{x}	CV%	Advia 2120i	SOTA*	CV %	BIOLOŠKA VARIJABILNOST			SOTA
						OPT	POŽ	MIN	
Leukociti	3,52	2,4	2,7	2,5	2,3	2,8	5,6	8,3	2,5
Neutrofilni granulociti 10 ⁹ /L	1,8	3,3	/	2,5	3,0	3,5	7,1	10,6	2,5
%	50,9	1,9	/	2,5	2,6	3,5	7,1	10,6	2,5
Limfociti 10 ⁹ /L	1,1	3,4	/	3,5	5,4	2,7	5,4	8,1	3,5
%	32,1	2,8	/	3,5	7,0	2,7	5,4	8,1	3,5
Monociti 10 ⁹ /L	0,3	9,5	/	8,5	11,7	3,3	6,7	10,0	8,5
%	8,3	8,1	/	8,5	10,3	3,3	6,7	10,0	8,5
Eozinofilni granulociti 10 ⁹ /L	0,1	14,7	/	10	20,0	3,8	7,5	11,3	10
%	1,7	12,2	/	10	18,1	3,8	7,5	11,3	10
Bazofilni granulociti 10 ⁹ /L	0,0	28,1	/	20	17,4	3,1	6,2	9,3	20
%	0,6	25,8	/	20	20,0	3,1	6,2	9,3	20
Eritrociti	2,30	0,7	1,2	1,1	0,8	0,7	1,4	2,1	1,1
Hemoglobin	53	1,12	0,93	0,9	1,7	0,7	1,4	2,0	1,0
Hematokrit	0,17	0,8	/	1,2	1,2	0,7	1,4	2,1	1,4
MCV	72	0,54	0,78	0,6	0,7	0,1	0,4	0,6	0,8
MCH	23	1,1	/	1,1	1,3	0,2	0,4	0,5	1,5
RDW	19,3	0,9	/	2,0	0,9	0,4	0,9	1,3	2,0
Trombociti	74	4,8	/	4,5	4,4	/	/	/	4,5
MPV	7,1	4,6	/	2,5	4,7	0,6	1,2	1,7	2,5

*SOTA- engl. state-of-the-art- kriteriji iz literaturnih podataka.

OPT- optimalni, POŽ- poželjni, MIN- minimalni kriteriji.

Crvena boja – nije zadovoljen kriterij. Zelena boja – kriterij je zadovoljen.

Siemens
Advia 2120i

QC level 1



PRIMJER

Ponovljivost
- uzorci pacijenata

ANALIZATOR	PARAMETAR	NISKA KONCENTRACIJA				SREDNJA KONCENTRACIJA				VISOKA KONCENTRACIJA			
		\bar{x}	CV%	proizvođač	SOTA*	\bar{x}	CV%	proizvođač	SOTA*	\bar{x}	CV%	proizvođač	SOTA*
Siemens Advia 2120i	Leukociti	0,5	4,7	/	6,0	6,3	2,0	2,7	2,5	30,5	2,4	/	1,5
	Eritrociti	2,4	0,8	1,2	1,1	4,2	0,6	1,2	1,1	6,0	0,7	1,2	1,1
	Hemoglobin	84	0,8	0,9	0,9	124	0,6	0,9	0,9	175	0,9	0,9	0,9
	MCV	81	0,3	0,8	0,6	91	0,3	0,8	0,6	102	0,3	0,8	0,6
	Trombociti	20	7,6	/	5,0	199	2,5	2,9	3,0	623	2,3	2,9	3,0
Sysmex XN-1000	Leukociti	4,3	2,3	3,0	2,5	7,1	1,7	3,0	2,5	24,4	0,4	3,0	1,5
	Eritrociti	2,7	0,9	1,5	1,1	4,9	0,6	1,5	1,1	6,4	0,8	1,5	1,1
	Hemoglobin	76	0,9	1,0	0,9	145	0,3	1,0	0,9	178	0,4	1,0	0,9
	MCV	61	0,2	1,0	0,6	89	0,2	1,0	0,6	92	0,1	1,0	0,6
	Trombociti	22	5,4	6,0	5,0	287	1,3	4,0	3,0	712	1,5	4,0	3,0
Mindray BC-5310CRP	Leukociti	0,9	5,2	1,5	6,0	7,3	1,2	2,5	2,5	35,5	1,8	1,5	1,5
	Eritrociti	3,3	1,2	/	1,1	4,8	0,9	1,5	1,1	5,9	0,7	/	1,1
	Hemoglobin	95	0,9	/	0,9	141	0,5	/	0,9	170	0,6	1,5	0,9
	MCV	75	0,4	/	0,6	86	0,6	/	0,6	102	0,3	/	0,6
	Trombociti	60	6,1	/	4,5	287	2,6	4	3,0	835	1,9	/	3,0
Beckman Coulter DxH 900	Leukociti	2,9	0,7	5,0	2,5	8,4	1,8	3,0	2,5	19,5	1,3	3,0	1,5
	Eritrociti	3,7	0,6	1,5	1,1	4,5	0,5	1,5	1,1	5,8	0,6	1,5	1,1
	Hemoglobin	100	0,5	1,5	0,9	138	0,3	1,5	0,9	172	0,2	1,5	0,9
	MCV	73	0,3	1,0	0,6	88	0,3	1,0	0,6	90	0,3	1,0	0,6
	Trombociti	11	9,7	12	5,0	129	1,2	3,5	3,0	522	1,9	3,5	3,0

*SOTA- engl. state-of-the-art- kriteriji iz literaturnih podataka.

OPT- optimalni, POŽ- poželjni, MIN- minimalni kriteriji.

Crvena boja – nije zadovoljen kriterij. Zelena boja – kriterij je zadovoljen.



Procjena točnosti mjerenja

SMJERNICE ?

SMJERNICE	TOČNOST	Napomena
1)	- što veći broj uzoraka > 400	- jednak udio normalnih i abnormalnih uzoraka - SOTA kriteriji
2)	- min. 250-300 - tijekom barem tjedan dana	- normalni uzorci čine 1/2 do 1/3 uzoraka
3)	-	- tablica distribucije vrijednosti –Lkc, Erc, Hb, Trb- usporedba s drugim analizatorom

1) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int Jnl Lab Hem 2016;38:100-109.

2) Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ, on behalf of the International Council for Standardization in Haematology. ICHS guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int Jnl Lab Hem 2014;36:613-627.

3) CLSI H26-A2:2010 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard—Second Edition.

Procjena točnosti mjerenja

ŠTO
NAPRAVITI?

- nedostupna referentna metoda
- usporedba s prethodno korištenim analizatorom
- broj uzoraka- što veći **> 300-400**
- duljina: minimalno tjedan dana
- obuhvatiti cijeli raspon mjerenja !
- napraviti **plan distribucije** uzoraka !

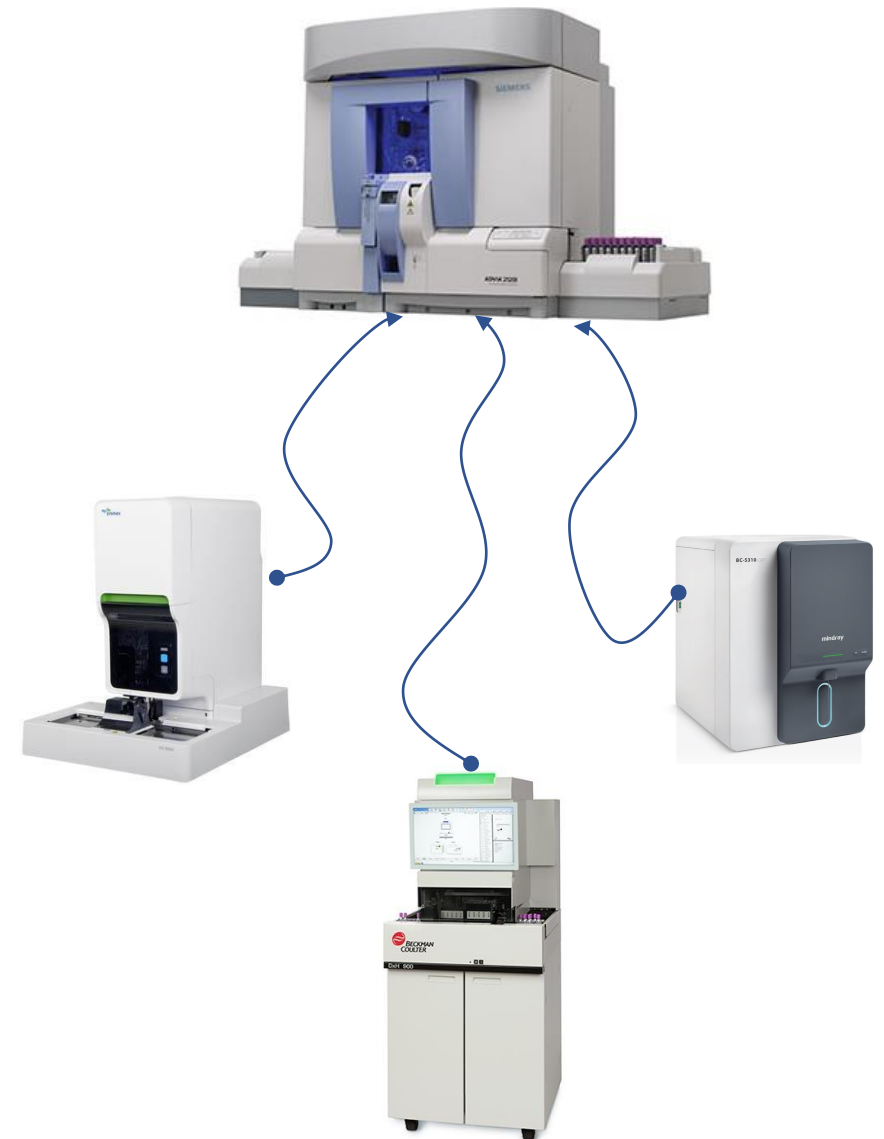
Parametar	Raspon	% distribucije	Primjer apsolutnog broja uzoraka
Leukociti (x 10 ⁹ /L)	<2,0	10	30
	2,0 – 5,0	10	30
	5,1 – 11,0	45	135
	11,1 – 50,0	25	75
	>50,1	10	30
Eritrociti (x 10 ¹² /L)	<3,00	5	15
	3,00 – 4,00	15	45
	4,01 – 5,00	55	165
	5,01 – 6,00	20	60
	>6,01	5	15
Hemoglobin (g/L)	<100	10	30
	100 – 120	15	45
	121 – 160	60	180
	161 – 180	10	30
	>181	5	15
Trombociti (x 10 ⁹ /L)	<40	10	30
	40 – 125	20	60
	126 – 300	40	120
	301 – 500	20	60
	500 – 600	5	15
	>601	5	15

PRIMJER

ANALIZATOR	PARAMETAR	BIAS (%)	DOZVOLJENO ODSUPANJE PREMA PROIZVOĐAČU		BIOLOŠKA VARIJABILNOST (%)			SOTA* (%)
			APS	%	OPT	POŽ	MIN	
Sysmex XN-1000	Leukociti	-5,8	0,20	3	0,3	5,1	7,8	4,4
	Eritrociti	0,8	0,03	2	0,9	1,9	2,8	3,2
	Hemoglobin	3,5	2	2	0,8	1,7	2,5	1,3
	MCV	-0,3	2,0	3	0,5	1,0	1,5	2,0
	Trombociti	-5,5	/	5,0	2,2	4,5	6,7	6,4
Beckman Coulter DxH 900	Leukociti	-1,8	0,20	3	0,3	5,1	7,8	4,4
	Eritrociti	1,1	0,05	2	0,9	1,9	2,8	3,2
	Hemoglobin	4,6	2	2	0,8	1,7	2,5	1,3
	MCV	1,8	/	2	0,5	1,0	1,5	2,0
	Trombociti	-3,2	10	7	2,2	4,5	6,7	6,4
Mindray BC-5310CRP	Leukociti	-4,7	/	5,0	0,3	5,1	7,8	4,4
	Eritrociti	0,8	/	2,0	0,9	1,9	2,8	3,2
	Hemoglobin	-2,2	/	2,0	0,8	1,7	2,5	1,3
	MCV	6,9	/	/	0,5	1,0	1,5	2,0
	Trombociti	2,2	/	8,0	2,2	4,5	6,7	6,4

* SOTA- engl. state-of-the-art- kriteriji iz literaturnih podataka.

Crvena boja – nije zadovoljen kriterij. **Zelena boja** – kriterij je zadovoljen.



Provjera linearnosti mjerenja

SMJERNICE ?

SMJERNICE	LINEARNOST
1)	<ul style="list-style-type: none">- uzorak visoke koncentracije razrijediti diluentom (ili AB plazmom) i mjeriti u duplikatu.- potreban linearan odnos širokog konc. raspona pri različitim razrjeđenjima.- SOTA kriteriji
2)	<ul style="list-style-type: none">- uzorak visoke koncentracije razrijediti diluentom (ili AB plazmom)- komercijalni kit za ispitivanje linearnosti, ako je uzorak nedostupan (Streck, R&D Systems...)- potreban linearan odnos što šireg raspona pri različitim razrjeđenjima.- ispitati linearnost donjeg područja mjerenja za Lkc ($2,0 \times 10^9/L \rightarrow 0,2 \times 10^9/L$) i Trb ($50 \times 10^9/L \rightarrow 5 \times 10^9/L$).
3)	<ul style="list-style-type: none">- razrjeđenja krvi – laboratorij treba verificirati navode proizvođača

- 1) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int Jnl Lab Hem 2016;38:100-109.
- 2) Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ, on behalf of the International Council for Standardization in Haematology. ICHS guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int Jnl Lab Hem 2014;36:613-627.
- 3) CLSI H26-A2:2010 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard—Second Edition.

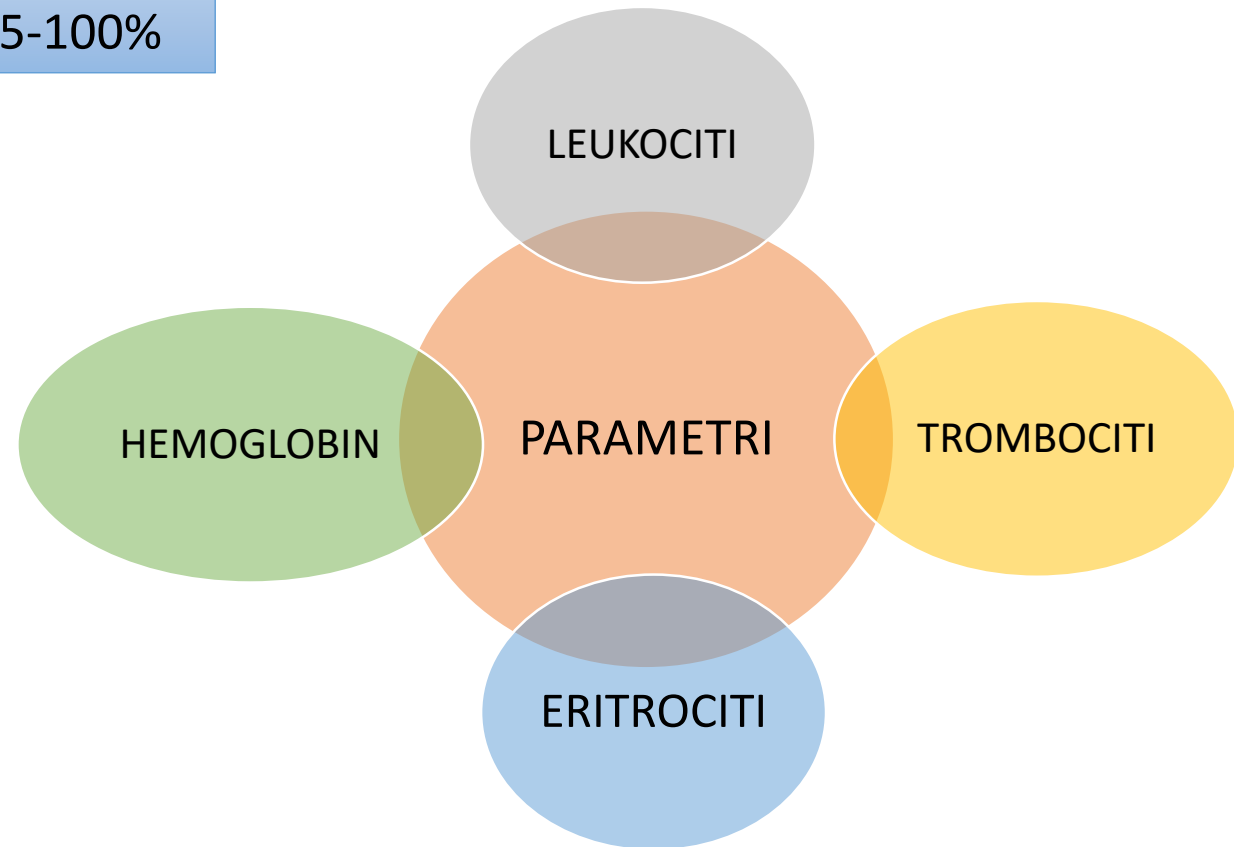
Provjera linearnosti mjerenja

- analiza serijskih razrjeđenja uzoraka visokog broja stanica
- diluent preporučen od proizvođača
- linearna regresija

5-100%

$r > 0,99$
 $r > 0,95$ ekstravask. tj.tek.

ŠTO
NAPRAVITI?



Razlike linearnosti mjerenja analizatora

Poznavati metodologiju i navode proizvođača!

Parametar	Analitički raspon			
	Siemens Advia 2120i	Sysmex XN-1000	Mindray BC-5310	Beckman Coulter DxH 900
Leukociti ($\times 10^9/L$)	0,02-400	0-440	0-400	0,05-400
Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	0,00-7,00	0,00-8,60	0-8,00	0,005-8,50
Hemoglobin (g/L)	0-225	0-260	0-250	1-255
Trombociti ($\times 10^9/L$)	5-3500	0-5000	0-1000	3-3000



PRIMJER



Analizator	Parametar	Početna vrijednost u uzorku	Koeficijent korelacije (95%CI)
Siemens Advia 2120i	Leukociti ($\times 10^9/L$)	280	1,00 (0,99 do 1,00)
	Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	7,06	1,00 (0,99 do 1,00)
	Hemoglobin (g/L)	220	1,00 (0,99 do 1,00)
	Trombociti ($\times 10^9/L$)	970	0,99 (0,99 do 1,00)
Sysmex XN-1000	Leukociti ($\times 10^9/L$)	145	1,00 (0,99 do 1,00)
	Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	7,34	0,99 (0,99 do 1,00)
	Hemoglobin (g/L)	183	1,00 (0,99 do 1,00)
	Trombociti ($\times 10^9/L$)	691	0,99 (0,99 do 1,00)
Mindray BC-5310CRP	Leukociti ($\times 10^9/L$)	104,1	0,99 (0,99 do 1,00)
	Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	7,58	0,99 (0,97 do 0,99)
	Hemoglobin (g/L)	187	0,99 (0,95 do 0,99)
	Trombociti ($\times 10^9/L$)	529	0,99 (0,98 do 0,99)
Beckman Coulter DxH 900	Leukociti ($\times 10^9/L$)	368	0,99 (0,99 do 1,00)
	Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	7,97	0,99 (0,99 do 1,00)
	Hemoglobin (g/L)	234	1,00 (0,99 do 1,00)
	Trombociti ($\times 10^9/L$)	4633	0,99 (0,99 do 1,00)



Verifikacija granice slijepe probe

SMJERNICE ?

SMJERNICE	GRANICA SLIJEPE PROBE
1)	- SOTA kriteriji - bitno odrediti kod ekstravaskularnih tjel.tek.
2)	- LoB i LoD odrediti iz ispitanih preciznosti i linearnosti. - bitno odrediti za Lkc, Erc, Trb i ekstravaskularne tjel.tek.
3)	- jednadžba prema CLSI EP17

- 1) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int Jnl Lab Hem 2016;38:100-109.
- 2) Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ, on behalf of the International Council for Standardization in Haematology. ICHS guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int Jnl Lab Hem 2014;36:613-627.
- 3) CLSI H26-A2:2010 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard—Second Edition.

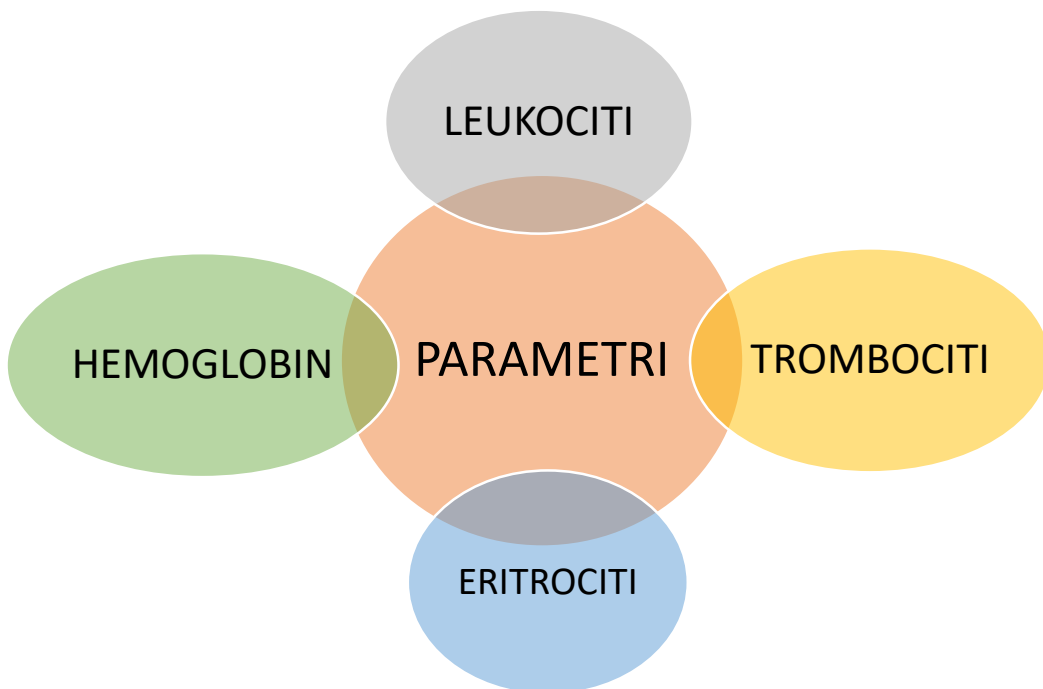
Verifikacija granice slijepe probe

ŠTO
NAPRAVITI?

- uzorak koji sigurno ne sadrži stanice (voda)
- mean i SD

20 x

$$\text{LoB} = \text{srednja}_{\text{slijepa}} + 1.645(\text{SD}_{\text{slijepa}})$$



PRIMJER

ANALIZATOR	PARAMETAR	LoB	Kriterij proizvođača	SOTA*
Siemens Advia 2120i	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	0,01	<0,1	0,03
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	0	/	0,1
	Hemoglobin (g/L)	0	/	0,7
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	0,4	<5	0,5
Sysmex XN-1000	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	0	0	0,03
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	0	0	0,1
	Hemoglobin (g/L)	0	0	0,7
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	0	0	0,5
Mindray BC-5310CRP	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	0,01	≤0,2	0,03
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	0	≤0,02	0,1
	Hemoglobin (g/L)	0	≤1	0,7
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	0,4	≤10	0,5
Beckman Coulter DxH 900	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	0,01	≤0,05	0,03
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	0,001	≤0,005	0,1
	Hemoglobin (g/L)	0,2	≤1	0,7
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	0,5	≤3	0,5

Određivanje granice detekcije i granice kvantifikacije

SMJERNICE ?

SMJERNICE	LoD	LoQ	Napomena
1)	-	leukociti 15% CV trombociti 25% CV	Limit kvantifikacije koristiti kao donju granicu izvještavanja.
2)	LoB i LoD odrediti iz ispitanih preciznosti i linearnosti.	-	Bitno odrediti za Lkc, Erc, Trb i ekstravaskularne tjel.tek.
3)	jednadžba	leukociti 15% CV trombociti 25% CV	- Lkc, Trb – LLoD, LLoQ - barem 60 mjerenja na nekoliko uzoraka

1) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int Jnl Lab Hem 2016;38:100-109.

2) Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ, on behalf of the International Council for Standardization in Haematology. ICHS guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int Jnl Lab Hem 2014;36:613-627.

3) CLSI H26-A2:2010 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard—Second Edition.

Određivanje granice detekcije i granice kvantifikacije

ŠTO
NAPRAVITI?

- 6 uzoraka s niskim brojem stanica

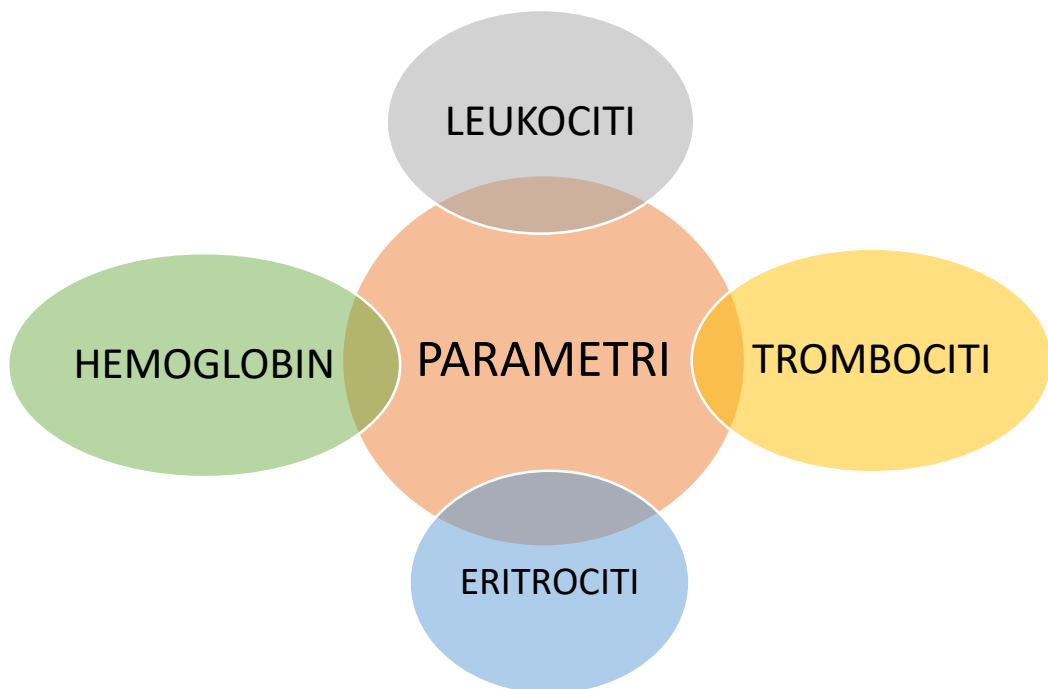
60 x

$$\text{LoD} = \text{LoB} + 1.645(\text{SD}_{\text{uzorka s niskom koncentracijom}})$$

- uzorci s vrlo niskim brojem stanica

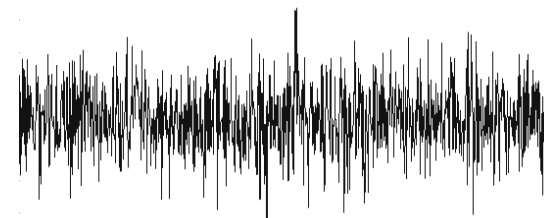
LoQ (leukociti) CV = 15%

LoQ (trombociti) CV = 25%



LLoD i LLoQ – točna kvantifikacija

vrlo niskog broja stanica !



PRIMJER



ANALIZATOR	PARAMETAR	LEUKOCITI ($\times 10^9/L$)				TROMBOCITI ($\times 10^9/L$)			
		\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI	\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI
Siemens Advia 2120i	Uzorak 1	0,13	0,02	14,97	CV 15%	3	0,378	12,03	CV 25%
	Uzorak 2	0,10	0,01	13,26		2	0,690	32,20	
	Uzorak 3	0,15	0,02	11,77		9	1,272	13,50	
	Uzorak 4	0,12	0,02	13,82		6	1,00	16,67	
	Uzorak 5	0,12	0,01	11,32		5	0,568	11,58	
	LoD*	$0,05 \times 10^9/L$				$2 \times 10^9/L$			
	LoQ	$0,10 \times 10^9/L$				$3 \times 10^9/L$			

ANALIZATOR	PARAMETAR	LEUKOCITI ($\times 10^9/L$)				TROMBOCITI ($\times 10^9/L$)			
		\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI	\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI
Sysmex XN-1000	Uzorak 1	0,1	0,02	17,35	CV 15%	1	0,8	63,33	CV 25%
	Uzorak 2	0,2	0,03	16,65		4	1,8	43,71	
	Uzorak 3	0,2	0,04	18,00		4	0,9	21,23	
	Uzorak 4	0,3	0,03	10,23		4	0,6	14,56	
	Uzorak 5	0,4	0,02	6,41		5	0,6	11,58	
	LoD*	$0,03 \times 10^9/L$				$1,3 \times 10^9/L$			
	LoQ	$0,3 \times 10^9/L$				$4 \times 10^9/L$ Deklarirani LoQ = $2 \times 10^9/L$			



ANALIZATOR	PARAMETAR	LEUKOCITI ($\times 10^9/L$)				TROMBOCITI ($\times 10^9/L$)			
		\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI	\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI
Mindray BC-5310CRP	Uzorak 1	0,30	0,02	6,4	CV 15%	27	2,1	7,7	CV 25%
	Uzorak 2	0,48	0,02	4,6		10	1,2	11,5	
	Uzorak 3	0,59	0,08	13,0		13	1,2	9,6	
	Uzorak 4	0,61	0,06	9,1		26	2,0	7,6	
	Uzorak 5	0,53	0,04	6,8		23	1,6	7,0	
	LoD*	$0,04 \times 10^9/L$				$3 \times 10^9/L$			
	LoQ	$0,30 \times 10^9/L$				$10 \times 10^9/L$			

ANALIZATOR	PARAMETAR	LEUKOCITI ($\times 10^9/L$)				TROMBOCITI ($\times 10^9/L$)			
		\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI	\bar{x}	SD	CV (%)	CLSI
Beckman Coulter DxH 900	Uzorak 1	0,26	0,08	32,4	CV 15%	1	0,33	30,0	CV 25%
	Uzorak 2	0,30	0,00	0,0		3	1,92	57,0	
	Uzorak 3	0,43	0,04	8,3		3	1,07	41,3	
	Uzorak 4	0,44	0,02	5,0		3	0,93	30,9	
	Uzorak 5	0,56	0,02	3,3		5	1,15	23,1	
	LoD*	$0,14 \times 10^9/L$				$1 \times 10^9/L$			
	LoQ	$0,30 \times 10^9/L$				$5 \times 10^9/L$			



Procjena utjecaja prijenosa analita (carryover)

SMJERNICE ?

SMJERNICE	CARRYOVER	Napomena
1)	uzorak visokog broja (3x) i niskog broja (3x) analita = jednadžba	Lkc, Erc, Hb, Trb - SOTA kriteriji (>0,99)
2)	uzorak visokog broja (3x) i niskog broja (3x) analita = jednadžba	Postupak provesti barem 3x za Lkc, Hb, Trb, <u>Retic i NRBC</u>
3)	uzorak visokog broja (3x) i niskog broja (3x) analita = jednadžba	Postupak provesti barem 3x za Lkc, Erc, Hb, Trb. - preporučene koncentracije - koristiti <u>isključivo uzorke pacijenata</u>

- 1) Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. Int Jnl Lab Hem 2016;38:100-109.
- 2) Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ, on behalf of the International Council for Standardization in Haematology. ICHS guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int Jnl Lab Hem 2014;36:613-627.
- 3) CLSI H26-A2:2010 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; Approved Standard—Second Edition.

Procjena utjecaja prijenosa analita (carryover)



VISOKA

NISKA

3x

3x

H1,H2,H3

L1,L2,L3

L1 – L3

H3 – L3

x 100

Parametar

Visoka
koncentracija analita

Niska
koncentracija analita

Leukociti (x 10⁹/L)

> 90

0-3

Eritrociti (x 10¹²/L)

> 6,20

0-1,50

Hemoglobin (g/L)

> 220

0-50

Trombociti (x 10⁹/L)

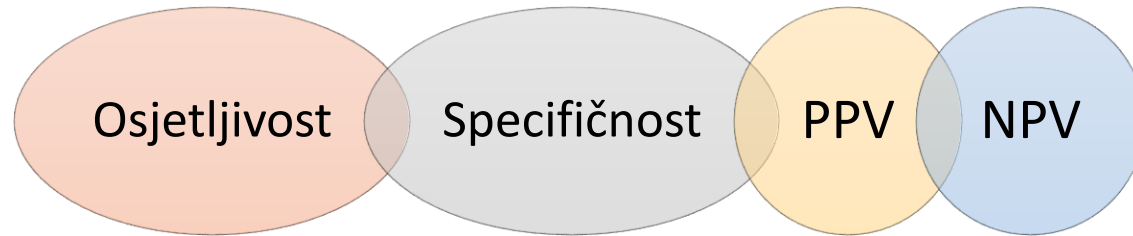
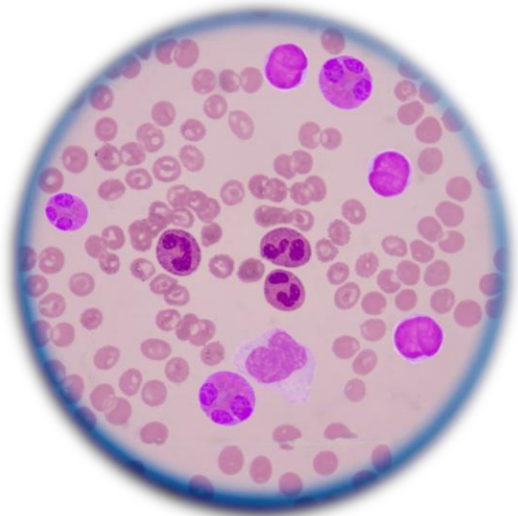
> 900

0-30

PRIMJER

ANALIZATOR	PARAMETAR	\bar{x}	CV%	KRITERIJI	
				PROIZVOĐAČ	SOTA*
Siemens Advia 2120i	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	281,4	0,1	≤1	<0,2
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	7,11	0,3	≤1	<0,5
	Hemoglobin (g/L)	233	0,5	≤1	<0,4
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	1007	0,1	≤1	<0,5
Sysmex XN-1000	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	133,2	0,02	≤1,0	<0,2
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	7,53	0	≤1,0	<0,5
	Hemoglobin (g/L)	228	0	≤1,0	<0,4
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	842	0	≤1,0	<0,5
Mindray BC-5310CRP	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	176,8	0	≤0,5	<0,2
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	7,63	0,4	≤1	<0,5
	Hemoglobin (g/L)	221	0	≤1	<0,4
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	1082	0,1	≤1	<0,5
Beckman Coulter DxH 900	Leukociti (x 10 ⁹ /L)	124,7	0,06	≤0,5	<0,2
	Eritrociti (x 10 ¹² /L)	7,50	0,03	≤0,5	<0,5
	Hemoglobin (g/L)	188	0,20	≤1,0	<0,4
	Trombociti (x 10 ⁹ /L)	930	0,05	≤1,0	<0,5

Verifikacija morfoloških upozorenja



Hematološki brojč	Ručno mikroskopiranje (referentna metoda)		
		Negativan	Pozitivan
	Negativan	SN	LN
	Pozitivan	LP	SP



	SOTA* (%)		
Osjetljivost	>70		
Specifičnost	>90		
PPV	>95		
NPV	>60		

SOTA* (%)	Blasti	Atipični limfociti	Nakupine trombocita
Osjetljivost	>95	>80	>80
Specifičnost	>95	>95	>98



Ekstravaskularne tekućine



ICSH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids

G. BOURNER*, B. DE LA SALLE†, T. GEORGE‡, Y. TABE§,¶, H. BAUM**, N. CULP††, T. B. KENG‡‡,
ON BEHALF OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN HEMATOLOGY (ICSH)

Table 1. List of hematology analyzers most commonly used to perform automated body fluid counts

Analyzers	Fluids	Parameters reported
Beckman LH 750/780	Serous, synovial, cerebrospinal fluid (CSF)	WBC, RBC {WBC = TNC}
Beckman DxH 800	Serous, synovial, CSF	TNC, RBC
Sysmex XE 2100, XT 1800i/2000i,	Serous, synovial, CSF	WBC, RBC
Sysmex XT-4000 and XE-5000	Serous, synovial, CSF	BF Mode:WBC-BF, TC-BF, RBC-BF, 2 part diff (mononuclear/ polymorphonuclear)
Advia 2120, 2120i	Peritoneal, pleural, peritoneal dialysate CSF	TNC, RBC TNC, RBC, 5 part diff and PMN/MN%
Iris iQ200 and iRICELL systems	CSF, pleural, peritoneal, peritoneal lavage, peritoneal dialysate, pericardial, synovial, general serous	Nucleated count, RBC



Ekstravaskularne tekućine

TOČNOST

- min. 40 uzoraka – cijeli raspon
- unutar 2h
- probl. - ručna metoda za usporedbu
 - duplikat

PRECIZNOST I PONOVLJIVOST

- 2 ili više konc.
- ponovljivost – 10x - uzorci
 - min. 5x ako nedostaje volumena
- preciznost – QC
 - uzorci pacijenata nestabilni


CARRYOVER

- jednadžba kao za KKS


LINEARNOST

- 3-plikat na 4-6 konc.
- diluent proizvođača

LoB

- uzorci tjel.tek. bez stanica ili diluenti
 - 10x
 - tijekom 2-3 različita dana
 - min. 3 analize jednake ili ispod deklariranog LoB
- 

LoD

- isti postupak s uzorcima jednakim deklariranom LoD
 - unutar 95% - prihvaćen LoD
- 

LoQ

- laboratorij sam definira kriterije

LABORATORIJ SAM DEFINIRA KRITERIJE PRIHVATLJIVOSTI !

Ispitati SVE VRSTE uzoraka koje laboratorij planira analizirati.

