UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2024 Bc. Michaela Kašparová

Univerzita Pardubice

Fakulta zdravotnických studií

Řízení rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie

Diplomová práce

2024 Bc. Michaela Kašparová

Univerzita Pardubice
Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Bc. Michaela Kašparová**
Osobní číslo:	**Z22327**
Studijní program:	**N0988P360003 Organizace a řízení ve zdravotnictví**
Téma práce:	**Řízení rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie**
Téma práce anglicky:	**Risk management for serum paraprotein analysis in the clinical biochemistry laboratory**
Zadávající katedra:	**Katedra klinických oborů**

Zásady pro vypracování

1. Studium literatury, sběr informací a popis současného stavu řešené problematiky.
2. Stanovení cílů a metodiky práce.
3. Příprava a realizace výzkumného šetření dle stanovené metodiky.
4. Analýza a interpretace získaných dat.
5. Zhodnocení výsledků práce.

Rozsah pracovní zprávy:	**50 stran**
Rozsah grafických prací:	**dle doporučení vedoucího**
Forma zpracování diplomové práce:	**tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

KUŠNIEROVÁ, Pavlína, 2022. *Laboratorní diagnostika monoklonálních gamapatií.* Ostrava: Ostravská univerzita. ISBN 978-80-7599-321-2.
LAHODA BRODSKÁ, Helena, Pavel KOHOUT et al., 2022. *Laboratorní vyšetření v klinické praxi.* Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-6694-7.
RACEK, Jaroslav, Daniel RAJDL et al., 2021. K*linická biochemie.* 3. Praha 5: Galén. ISBN 978-80-7492-545-0.
ŠKRLA, Petr a Magda ŠKRLOVÁ, 2008. *Řízení rizik ve zdravotnických zařízeních.* Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-2616-8.
ŠUPŠÁKOVÁ, Petra, 2017. *Řízení rizik při poskytování zdravotnických služeb.* Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-9672-2.

Vedoucí diplomové práce:	**Mgr. Zuzana Červenková, Ph.D.** Katedra klinických oborů
Datum zadání diplomové práce:	**1. prosince 2022**
Termín odevzdání diplomové práce:	**17. dubna 2024**

L.S.

doc. RNDr. ThLic. Karel Sládek, Ph.D., MBA v.r.
děkan

Mgr. Zuzana Červenková, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 11. března 2024

PROHLÁŠENÍ AUTORA

Prohlašuji:

Práci s názvem Řízení rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 15. 4. 2024

Bc. Michaela Kašparová v. r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí své diplomové práce Mgr. Zuzaně Červenkové, PhD. za její odborné vedení, trpělivost, cenné rady a připomínky, které mi pomohly zpracovat tuto diplomovou práci. Mé poděkování patří také mé rodině a přátelům za jejich trpělivost a podporu při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala svým kolegyním za jejich trpělivost, povzbuzování při studiu a pomoc při realizaci FMEA metody, kdy se ochotně staly členy multidisciplinárního týmu odborníků.

ANOTACE

Tématem diplomové práce je Řízení rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie. Teoretická část se zaměřuje na komplexní přehled problematiky v oblasti klinické biochemie, včetně rozboru jednotlivých fázích laboratorního procesu a metodik analýzy paraproteinu pomocí elektroforézy a imunoelektroforézy. Dále se práce věnuje obecným principům řízení rizik a jejich aplikaci v laboratoři klinické biochemie. Výzkumná část je věnována detailní analýze rizik spojených s procesem analýzy paraproteinu v séru pomocí metody FMEA (Failure Mode and Effects Analysis). Výzkum je rozdělen do dvou fází, kdy první fáze zahrnuje identifikaci potencionálních rizik pomocí metody Ishikawa diagramu v procesu analýzy paraproteinu v séru a druhá fáze hodnotí nalezená rizika z hlediska jejich míry závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce. Celkem bylo identifikováno 61 potencionálních rizik, z nichž 20 bylo ve fázi preanalytické, 22 v analytické fázi a 19 v postanalytické.

KLÍČOVÁ SLOVA

Klinická biochemie, elektroforéza, FMEA, paraprotein, řízení rizik

TITLE

Risk management for serum paraprotein analysis in the clinical biochemistry laboratory.

ANNOTATION

The topic of the thesis is Risk management for serum paraprotein analysis in the clinical biochemistry laboratory. The theoretical part focuses on a comprehensive overview of the issues in clinical biochemistry, including an analysis of the different stages of the laboratory process and methodologies for paraprotein analysis by electrophoresis and immunoelectrophoresis. Furthermore, the thesis focuses on general principles of risk management and their application in the clinical biochemistry laboratory. The research part is devoted to a detailed analysis of the risks associated with the process of paraprotein analysis in serum using the FMEA (Failure Mode and Effects Analysis) method. The research is divided into two phases, where the first phase involves the identification of potential risks using the Ishikawa diagram method in the serum paraprotein analysis process and the second phase evaluates the identified risks in terms of their severity level, probability of occurrence and probability of detection. A total of 61 potential risks were identified, of which 20 were in the pre-analytical phase, 22 in the analytical phase and 19 in the post-analytical phase.

KEYWORDS

Clinical biochemistry, electrophoresis, FMEA, paraprotein, risk management

OBSAH

Úvod 14

1 Cíle a metody práce 15

1.1 Cíle práce 15

1.2 Metody k dosažení cíle 15

Teoretická část 16

2 Klinická biochemie 16

2.1 Preanalytická fáze laboratorního vyšetření krve 17

2.1.1 Mimolaboratorní část 18

2.1.2 Laboratorní část 21

2.2 Analytická fáze laboratorního vyšetření krve 22

2.3 Postanalytická fáze laboratorního vyšetření krve 22

2.4 Vyšetření paraproteinu metodou elektroforézy 22

2.4.1 Historie elektroforézy 22

2.4.2 Princip elektroforézy 23

2.4.3 Využití elektroforézy v klinické praxi 23

2.4.4 Elektroforéza proteinů séra na agarózových gelech 24

2.4.5 Imunoelektroforéza proteinů séra na agarózových gelech 25

3 Řízení rizik ve zdravotnickém zařízení 27

3.1 Riziko 27

3.1.1 Teorie vzniku rizik – model „švýcarského sýru“ 27

3.2 Proces řízení rizik 28

3.2.1 Identifikace rizik 28

3.2.2 Analýza rizik 29

3.2.2.1 Retroaktivní metody analýzy rizik 29

3.2.2.2 Proaktivní metody analýzy rizik 31

3.2.3 Hodnocení rizik 32

3.2.4 Náprava rizik 32
3.2.5 Monitorování rizik 33
3.3 Proces řízení rizik v laboratoři klinické biochemie 34
Výzkumná část 36
4 Metodika výzkumné části 37
4.1 Pilotní studie 37
4.2 Charakteristika zkoumaného pracoviště 38
4.3 Metodika vlastního výzkumu 38
4.3.1 Sestavení týmu odborníků 40
4.3.2 Sběr dat 40
5 První fáze výzkumu – identifikace rizik 42
5.1 Analýza interních dokumentů 42
5.1.1 Identifikace rizik v preanalytické fázi laboratorního procesu 47
5.1.2 Identifikace rizik v analytické fázi laboratorního procesu 48
5.1.3 Identifikace rizik v postanalytické fázi laboratorního procesu 51
5.2 Identifikace dalších potencionálních rizik 52
6 Druhá fáze výzkumu – zhodnocení rizik 54
7 Shrnutí výsledku FMEA a prioritizace rizik 66
8 Diskuse 70
8.1 Limity práce 75
8.2 Doporučení pro praxi 75
9 Závěr 77
10 Použitá literatura 79
11 Přílohy 87

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Jednotlivé fáze laboratorního procesu a jejich časová náročnost (upraveno dle Racek et al., 2021)....17
Obrázek 2 – Barevné změny séra (převzato a upraveno dle Hradiská, 2023) 21
Obrázek 3 – Workflow laboratorního vyšetření vzorku na ELFO/IFE (vlastní zpracování) 26
Obrázek 4 – Model švýcarského sýra (převzato a upraveno dle Šupšáková, 2017)....28
Obrázek 5 – Ilustrace RCA metody (převzato a upraveno dle Korecký a Trkovský, 2011, s. 223) 30
Obrázek 6 – Ishikawa diagram (Žaludek, 2020)....31
Obrázek 7– Organizační schéma diplomové práce (vlastní zpracování)....41
Obrázek 8 – Ishikawa diagram v preanalytické fázi laboratorního vyšetření (vlastní zpracování)....47
Obrázek 9 – Ishikawa diagram analytické fáze elektroforézy (vlastní zpracování) 49
Obrázek 10 – Ishikawa diagram analytické fáze imunoelektroforézy (vlastní zpracování) 50
Obrázek 11 – Ishikawa diagram postanalytické fáze ELFO/IFE (vlastní zpracování)....51

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – Hodnocení míry závažnosti následků – S (převzato a upraveno dle Červenková, Hlaváčková a Hodačová, 2018) 55
Tabulka 2 – Hodnocení míry pravděpodobnosti výskytu rizika – O (převzato a upraveno dle Šupšáková, 2017) 55
Tabulka 3 – Hodnocení míry pravděpodobnosti detekce rizika – D (převzato a upraveno dle Červenková, Hlaváčková a Hodačová, 2018) 55
Tabulka 4 – Hodnocení míry rizika (vlastní zpracování v týmu) 56
Tabulka 5 – FMEA preanalytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru metodou ELFO/IFE (vlastní zpracování v týmu).....57
Tabulka 6 – FMEA analytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru metodou ELFO/IFE (vlastní zpracování v týmu).....60
Tabulka 7 – FMEA postanalytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru metodou ELFO/IFE (vlastní zpracování v týmu).....63
Tabulka 8 – Přehled jednotlivých rizik v laboratorním procesu při analýze paraproteinu v séru dle jejich posloupnosti na základě hodnoty RPN (vlastní zpracování) 67
Tabulka 9 – Matice třídy nebezpečí rizik (vlastní zpracování).....68
Tabulka 10 – Matice míry rizik (vlastní zpracování).....69
Tabulka 11 – Ředění vzorků (Pracovní postup OKB, 2020) 92

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ABR	Acidobazická rovnováha
AST	Aspartátaminotransferáza
D	Detection Pravděpodobnost detekce rizika
ELFO	Elektroforéza
FMEA	Failure Modes and Effects Analysis, Analýza příčin a důsledků
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points, Analýza rizika a kritických kontrolních bodů
HFMEA	Healthcare Failure Modes and effects Analysis, Analýza příčin a důsledků ve zdravotnictví
IČP	Identifikační číslo provozovny
IFE	Imunoelektroforéza
IT	Informační technologie
K	Kalium, draslík
LIS	Laboratorní informační systém
MGUS	Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance, Monoklonální gamapatie nejasného významu
NIS	Nemocniční informační systém
NLZP	Nelékařský zdravotnický personál
O	Occurence, Pravděpodobnost výskytu rizika
OKB	Oddělení klinické biochemie

RCA	Root Cause Analysis, Analýza kořenových příčin
RPN	Risk priority number, Číslo priority rizika
S	Severity, Míra závažnosti následků
SOP	Standardní operační postup
SPL	Standardní postup laboratorní
SPT	Standardní postup technický
VŠ	Vysokoškolský

ÚVOD

Proces řízení rizik představuje klíčovou součást systému managementu kvality v laboratoři klinické biochemie. Výsledky testů, které v této laboratoři vznikají, nejsou pouze důležité pro diagnostiku zdravotních stavů pacientů, ale také pro neustálé monitorování léčby jejich onemocnění (Jayamani et al., 2022). Testování vzorků je složitý proces, při kterém se mohou objevit chyby, a to v kterékoliv fázi laboratorního procesu. Úkolem laboratoře je systematicky prozkoumat laboratorní proces s ohledem na jeho slabiny a možná nebezpečí, přijmout opatření k detekci a prevenci chyb, a to ještě dříve, než stačí ovlivnit výsledky laboratorních testů (Njoroge and Nichols, 2014).

Tato práce se zabývá řízením rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie. Analýza paraproteinů v séru je klíčovým krokem pro diagnostiku a monitorování onkologických a hematologických onemocnění, zejména mnohočetného myelomu a monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS). Paraproteiny jsou abnormální protilátky produkovány jedinou klonální populací plazmatických buněk a mohou být detekovány pomocí různých analytických metod, jako je elektroforéza a imunoelektroforéza proteinů (Bartůňková et al., 2011; Kušnierová, 2022).

Přestože tyto analýzy poskytují důležité informace pro diagnózu a léčbu, jejich spolehlivost je závislá na mnoha faktorech, včetně procesů zpracování vzorků, technických postupů a interpretace výsledků.

Teoretická část této práce shrnuje klíčové informace z oblasti klinické biochemie a procesu laboratorního vyšetření, včetně problematiky elektroforézy a imunoelektroforézy a jejího využití při analýze paraproteinu. Dále se zabývá problematikou řízení rizik obecně a specificky v kontextu laboratoří klinické biochemie.

V rámci výzkumné části této práce byla provedena analýza rizik při vyšetření paraproteinu metodou elektroforézy a imunoelektroforézy pomocí metody FMEA (Failure Mode and Effects Analysis), která umožňuje identifikovat potenciální chyby a zhodnotit jejich dopady na výsledky testů. V rámci identifikace rizik byl použit nástroj Ishikawa diagram.

1 CÍLE A METODY PRÁCE

1.1 Cíle práce

Teoretické cíle:

- Popsat základní informace o klinické biochemii a procesu laboratorního vyšetření.
- Přiblížit problematiku elektroforézy a imunoelektroforézy a jejich využití při analýze paraproteinu.
- Popsat problematiku řízení rizik ve zdravotnickém zařízení a následně v laboratoři klinické biochemie.

Hlavní výzkumný cíl:

Hlavním výzkumným cílem je provést analýzu rizik spojenou s procesem analýzy paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie pomocí metody FMEA.

Dílčí výzkumné cíle:

1. Identifikovat hlavní rizikové faktory spojené s procesem analýzy paraproteinu v séru.
2. Zhodnotit identifikovaná rizika na základě jejich míry závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce.

1.2 Metody k dosažení cíle

Teoretická část diplomové práce byla zpracována na základě literární rešerše. Tato část poskytuje informace, které přibližují celkovou problematiku této práce. Ve výzkumné části práce byla aplikována metoda FMEA. Samotnému výzkumu a zpracování dat předcházelo pilotní šetření. Výzkumná část byla rozdělena do dvou fází, kdy v první fázi byla na základě analýzy interních dokumentů, pozorování a brainstormingu, kde byly mimo jiné využity dlouholeté praktické zkušenosti expertního týmu, identifikována potencionální rizika spojená s analýzou paraproteinu v séru. Ke znázornění identifikovaných rizik byl použit nástroj Ishikawa diagram. Ve druhé fázi byla identifikovaná rizika zhodnocena členy týmu odborníků laboratoře, a to na základě jejich míry závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce.

TEORETICKÁ ČÁST

2 KLINICKÁ BIOCHEMIE

Klinická biochemie je lékařský obor, který využívá znalosti z oblastí patobiochemie, analýzy změněných koncentrací substrátů či produktů enzymových reakcí, měření aktivit enzymů a dalších látek v tělních tekutinách ke stanovení diagnózy a prognózy onemocnění a ke sledování efektivity probíhající léčby. Klinická biochemie se dá tedy definovat, jako souhrn znalosti z biochemie a patobiochemie v klinické praxi. Bez laboratorních výsledků však nelze účinně provádět stanovení diagnózy, prognózy a sledování průběhu léčby. Získávání těchto laboratorních dat probíhá ve specializovaných laboratořích (Racek et al., 2021).

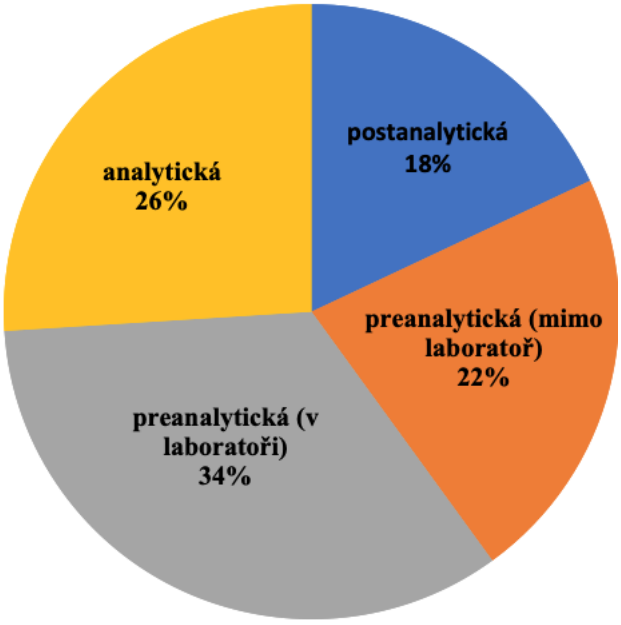
Laboratoř klinické biochemie je vysoce specializované zařízení, kde jsou prováděna různá biochemická vyšetření (Zima, 2013, s. 1). Biochemická vyšetření mají velký diagnostický význam (Žák et al., 2011). Informují nás o procesech, které probíhají v lidském organismu a také o jejich patologických nebo fyziologických změnách. Pokud je člověk nemocný, bezprostředně se to projeví ve změnách biochemických reakcích organismu. Laboratorní vyšetření nám může oznámit změny v biochemických reakcích dříve, než se nemoc objeví, a naopak v některých případech jsou změněné hodnoty patrné až po nastoupení nemoci (Zima, 2013, s. 1). Pro onemocnění jsou typické změny některých fyziologických analytů, jako například změny pH, koncentrace iontů, osmolality, některých organických nebo anorganických látek, které jsou obsažené v krvi nebo jiných tělních tekutinách. Nádorová onemocnění jsou poté charakteristická průkazem některých atypických látek, např. proteinů, mezi které patří nádorové markery a paraproteiny (Žák et al., 2011).

V laboratoři se vyšetřuje krev, moč, mozkomíšní mok (likvor), stolice a další tělní tekutiny, včetně zvratků a potu (Brodská et al., 2022). Laboratorní vyšetření má několik dělení. Můžeme je rozdělit podle potřebnosti, a to na základní, speciální a vysoce specializované. Dále je můžeme rozdělit podle rychlosti provedení na vyšetření rutinní, statimová nebo vyšetření z vitální indikace (Zima, 2013, s. 1). Rutinní vzorky jsou v laboratoři zpracovávány v pořadí, ve kterém byly dopraveny a přijaty na oddělení. Výsledky jsou hotové do 24 hodin. Statimové vzorky by neměli přesáhnout dobu vyšetření 2 hodiny, jelikož tyto výsledky mohou hrát významnou roli v následné léčbě pacienta. Tento typ vzorku má přednost před ostatními rutinními vzorky. Posledním typem jsou vzorky z vitální indikace, které se musí zpracovat okamžitě a výsledky se ihned po získání ohlašují telefonicky a posléze písemně. Ordinace

z vitální indikace je spojená s ohrožením života, kdy přežití pacienta bezprostředně závisí na výsledku vyšetření (Vytejčková et al., 2013).

Proces laboratorního vyšetření probíhá ve 3 fázích – preanalytické, analytické a postanalytické. Preanalytickou fázi můžeme dále rozdělit na fázi preanalytickou mimo laboratoř a preanalytickou fázi probíhající uvnitř laboratoře. Každá fáze má různou časovou náročnost (viz obrázek 1). Časově nejméně náročná je postanalytická fáze a nejvíce času zabírá preanalytická fáze v laboratoři (Racek et al., 2021, s. 55).

Vzhledem k výzkumné části práce, která je zaměřena na analýzu paraproteinu v séru se teoretická část bude dále zabývat pouze laboratorním vyšetřením krve.



Obrázek 1 – Jednotlivé fáze laboratorního procesu a jejich časová náročnost (upraveno dle Racek et al., 2021)

2.1 Preanalytická fáze laboratorního vyšetření krve

Preanalytická fáze je první krok v rámci procesu laboratorního vyšetření a v průměru je ze všech fázích nejdelší (Racek et al., 2021). Podle definice od Vytejčkové et al. (2013) lze tuto fázi definovat jako: „*soubor všech situací, postupů a operací, kterými projde vzorek analyzovaného materiálu od ordinace vyšetření po vložení vzorku do analytického přístroje*“ (Vytejčková et al., 2013). Tato fáze hraje důležitou roli, jelikož je zde velká pravděpodobnost ovlivnění výsledku vyšetření v případě pochybení. Pokud dojde již na počátku k chybě, celé laboratorní vyšetření je špatné a je nutné ho vykonat znovu (Mäkitalo and Liikanen, 2013; Zima, 2013, s. 2). Jelikož značná část této fáze probíhá mimo laboratoř, pracovníci laboratoře

ji mohou ovlivnit pouze nepřímo, např. školením nebo kontrolou (Racek et al., 2021). Ze všech tří fázích laboratorního procesu je tato fáze považována za nejvíce rizikovou z hlediska chyb. Uvádí se, že tvoří až 70 % všech chyb laboratorní diagnostiky (Jafri et al., 2022).

2.1.1 Mimolaboratorní část

Důležitou roli v preanalytické fázi hraje mimolaboratorní část, kterou lze dále rozdělit na období před odběrem, období během odběru a období po odběru (Mäkitalo and Liikanen, 2013). Období před odběrem zahrnuje indikaci požadovaného vyšetření od lékaře. Lékař vystaví pacientovi žádanku, kde je uvedena identifikace pacienta a požadované metody k vyšetření. Toto období dále zahrnuje přípravu pacienta, kdy je lékařem nebo nelékařskými zdravotnickými pracovníky poučen o životosprávě před odběrem. Po těchto aktivitách následuje samotný odběr. Provádí ho nejčastěji praktická nebo všeobecná sestra, nebo také lékař. Období po odběru zahrnuje transport vzorku do laboratoře (Jafri et al., 2022).

Neovlivnitelné faktory

V preanalytické fázi laboratorního vyšetření působí řada faktorů, které nelze ovlivnit. Jedná se například o věk, pohlaví, rasu, cyklické změny a graviditu. Některé metody se mohou referenčním rozmezím lišit u žen i u mužů. V dětském věku má řada laboratorních metod nižší referenční rozmezí, než je u dospělých osob. Podle kontinentu nebo rasy je znám vyšší výskyt některých onemocnění. V případě cyklických změn se v průběhu měsíčního cyklu mohou vylučovat některé ženské pohlavní hormony a může dojít ke zkreslení výsledků. U gravidní ženy se mohou v krvi nebo v moči vyskytovat vyšší koncentrace bílkoviny nebo další látky produkované plodem nebo trofoblastem (Racek et al., 2021, s. 56–57).

Ovlivnitelné faktory

Ovlivnitelné faktory nejsou ovlivnitelné v každém případě. Mezi tyto faktory patří například patřičné lačnění při plánovaném odběru krve, avšak u akutních stavů toto nelze dodržet. Pokud pacient není při odběru nalačno, dochází k ovlivnění řady vyšetřovaných metod, např. zvýšení glykémie, triacylglycerolů, volných mastných kyselin, lipoproteinů nebo močoviny a kyseliny močové. Dalšími ovlivnitelnými faktory je fyzická aktivita, psychický stres, kouření, léky nebo operace. Řada léků má výrazný vliv na ovlivňování výsledků laboratorního vyšetření (Racek et al., 2021, s. 58–59).

Odběr krve

Správný odběr krve je důležitou součástí laboratorního vyšetření. Podle metod, které mají být vyšetřeny se volí správná odběrová nádobka (Brodská et al., 2022). Vyšetření se zpracovávají z plné krve, séra nebo plazmy, záleží na typu vyšetření (Vytejčková et al., 2013). Podle počtu metod se poté odvíjí množství odebírané krve. U dospělého člověka je doporučovaný objem 5–10 ml, u novorozenců 1 ml (Brodská et al., 2022).

Jak již bylo zmíněno, pacient by měl přijít nalačno, tzn. 10–12 hodin před odběrem by neměl přijímat žádnou stravu. Odběr se provádí nejlépe ráno po nočním lačnění, pacient by měl být však dostatečně hydratován. Při odběru velmi záleží na poloze pacienta. Pacient je v klidu, sedí nebo případně leží (Brodská et al., 2022). Při poloze ve stoje může dojít ke zvýšení koncentrace vysokomolekulárních látek a hematokritu až o 10–15 %, a to vlivem přesunu tekutiny z intravazálního prostoru do intersticia (Racek et al., 2021, s. 60). Odběr krve můžeme dle dostupných odběrových systémů rozdělit na odběr krve otevřeným nebo uzavřeným způsobem. V rámci otevřeného způsobu dochází k odběru krve pomocí klasické stříkačky a jehly nebo je krev odebrána do kapiláry. Tento systém se používá pouze v případě, kdy nelze technicky odebrat krev uzavřeným způsobem nebo při odběru kapilární krve. Uzavřený odběr využívá systém vakuovaných zkumavek s podtlakem nebo pístem. Oproti otevřenému systému má mnoho výhod. Umožňuje hygienický odběr, kdy chrání odběrového pracovníka před možnou kontaminací krví pacienta. Zároveň chrání samotný biologický materiál před kontaminací zvenku. Uzavřeným systémem odběru krve se docílí kvalitního odběru, který je důležitý pro správnou analýzu vzorku (Vytejčková et al., 2013).

Nejčastěji dochází k odběru venózní krve, která se odebírá z přístupných periferních žil a to z: v. mediana, v. basilica a v. cephalica v loketní jamce, vény na předloktí, hřbetu ruky, vény na dolní končetině – v oblasti nártu a kotníku, vény v temenní a temporální oblasti – u kojenců a batolat (Vytejčková et al., 2013). Při odběru je místo vpichu dezinfikováno a paže stažena turniketem, aby se zamezilo toku krve žílou a ta byla dobře viditelná a hmatatelná pro odběrový personál. Toto zaškrcení by mělo být co nejkratší a ihned po odběru první zkumavky povoleno. Dále by se měl pacient vyhnout pumpování paží, aby nedošlo již k zmíněnému zvýšení koncentrace vysokomolekulárních látek (Racek et al., 2021, s. 60).

Pro stanovení glykémie se nejčastěji využívá kapilární krev, kdy dochází k odběru z dostatečně prokrvených prstů. Dalším možným typem odběru je arteriální krev, která se využívá ke stanovení ABR (acidobazické rovnováhy) (Brodská et al., 2022, s. 21).

Podle indikovaného vyšetření od lékaře se krev odebírá do různých typů zkumavek (viz příloha A). Některé obsahují antikoagulační látky a jiné nikoliv. Varianta s antikoagulanty umožňuje po centrifugaci získání plazmy a varianta bez antikoagulantů získání séra. Zkumavky často již obsahují gel, který účinně při centrifugaci oddělí krevní koláč od séra či plazmy a není zde riziko opětovného smíchání krvinek se sérem. Každá laboratoř má vypracovaný vlastní detailní postup, do jaké odběrové zkumavky se odebere krev na dané vyšetření (Brodská et al., 2022, s. 21).

Identifikace odběrové nádobky

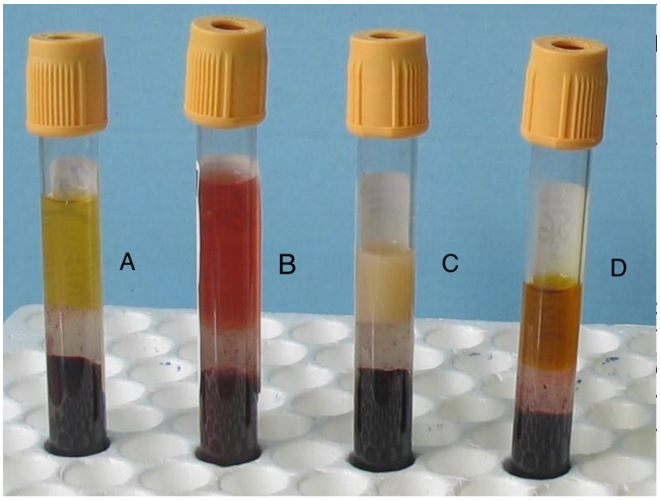
Správná identifikace odběrové nádobky je nejdůležitější část celého odběrového procesu. Pokud by došlo k nesprávnému označení nádobky, celé laboratorní vyšetření je zbytečné a může dojít k poškození pacienta. Před samotným odběrem krve by vždy měla platit zásada ověření, že jde o správného pacienta (Racek et al., 2021, s. 61). Samotný odběr krve se poté provádí již do předem správně označených nádobek. Nádobka se označí identifikačním štítkem, na kterém je zpravidla uvedeno jméno, rodné číslo, oddělení, číslo pokoje a lůžka a datum odběru. Některé nemocnice však zakazují psaní rodného čísla na zkumavky vzhledem k ochraně osobních údajů (Vytejčková et al., 2013). V dnešní době jsou proto využívány štítky s čárovým kódem (bar-kódem) nebo tzv. dot-kódy, které uchovávají velké množství údajů o pacientovi (Racek et al., 2021, s. 61). Štítky jsou na zkumavku nalepeny spirálovitě, aby po centrifugaci bylo dobře viditelné rozhraní krevního koláče a séra (Vytejčková et al., 2013). Vzorky, které jsou do laboratoře dodávány z externích ambulancí, musí mít minimálně následující identifikační údaje: jméno a příjmení pacienta a jeho rodné číslo nebo číslo pojištěnce (Malina et al., 2019).

Transport a uchování vzorku

Po odběru krve není vhodné ihned transportovat materiál do laboratoře, jelikož může dojít ke sražení krve nebo k hemolýze. Krev by měla být 5–10 minut v klidu, především při využívání potrubní pošty v rámci nemocnice (Zima, 2013, s.7). Při externím odběru mimo zdravotnické zařízení nebo laboratoř musí být materiál co nejrychleji transportován. Důvodem rychlého transportu je včasné oddělení séra od krvinek. Některá vyšetření vyžadují, aby byla krev transportována na tajícím ledu, jedná se například o vyšetření ABR nebo amoniaku. Ostatní vyšetření vyžadují transport a uchování krve při 2–8 °C. Pokud dochází k přepravě krve na velkou vzdálenost, je nutné zasílat sérum, nikoliv plnou krev (Brodská et al., 2022, s. 24; Racek et al., 2021, s. 63).

Limitace vyšetření

Výsledky laboratorního vyšetření mohou ovlivnit tři základní parametry, a to hemolýza, ikterita nebo chylóza. Hemolýza může vzniknout při kontaminaci dezinfekcí při odběru krve, v případě použití úzké jehly nebo při nevhodné manipulaci se vzorkem, kdy je dlouhá doba přepravy do laboratoře nebo je na vzorek vyvíjen nesprávný fyzický tlak – třepání. V takovém případě se jedná o tzv. arteficiální hemolýzu, která je nejčastější. Dalším typem je intravaskulární hemolýza, která se vyskytuje u pacientů s hemolytickou anémií. U pacientů, kteří mají v krvi vysokou koncentraci bilirubinu se vyskytuje ikterita. Chylóza je charakteristická vysokou koncentrací lipidových složek v krvi. Nejčastěji je způsobena nesprávným stravováním před odběrem. Hemolýza, ikterita a chylóza (viz obrázek 2) jsou hodnoceny pomocí vzhledu séra. Každá laboratoř má stanovené indexy, které měří analyzátor a omezují vykonávání příslušných vyšetření. V případě i slabé hemolýzy nelze vyšetřit např. draslík (K), aspartátaminotrasferázu (AST) nebo foláty, které mají velmi nízký práh indexu hemolýzy. Pokud by došlo přesto ke zpracování vzorku, hrozí možnost ovlivnění výsledku (Brodská et al., 2022).



A – vzhled normálního séra, B – vzhled hemolytického séra, C – vzhled chylózního séra, D – vzhled ikterického séra

Obrázek 2 – Barevné změny séra (převzato a upraveno dle Hradiská, 2023)

2.1.2 Laboratorní část

Laboratorní část preanalytické fáze zahrnuje identifikaci, označení materiálu, centrifugaci a přípravu vzorku ke zpracování (Brodská et al., 2022, s. 19). Tato část je velmi riziková, jelikož zde může dojít snadno k lidské chybě. Jednou z hlavních chyb v této fázi je nesprávné označení vzorku pro potřeby laboratoře a její následné špatné analýze a vydání výsledků jiného pacienta.

Další možnou chybou může být nesprávné slití séra po centrifugaci. Většina laboratoří již dnes disponuje automatickými analyzátory, které si centrifugují vzorky samy a předcházejí tak možnosti vzniku záměny (Zemlin, 2018).

2.2 Analytická fáze laboratorního vyšetření krve

Analytická fáze je charakteristická samotnou analýzou vzorku. Dochází zde k laboratorním testům, podle metod, které lékař naordinoval (Zemlin, 2018). V dnešní době jsou již v klinické biochemii z větší části využívány automatické analyzátory, které dané vyšetření stanoví bez pomoci lidské síly. V této fázi může vlivem analýzy dojít k neshodě s kontrolou kvality, selhání kalibrace nebo k náhodným a systematickým chybám (Teshome et al., 2021). Laboratoře využívají externí programy kontroly kvality, které monitorují výkon v této fázi a účinně vedou ke snižování chyb (Zemlin, 2018).

2.3 Postanalytická fáze laboratorního vyšetření krve

Postanalytická fáze je období po dokončení analýzy vzorku, kdy dochází k vyhodnocení a interpretaci výsledků. Výsledky jsou poté odesílány ošetřujícímu lékaři nebo pacientovi (Chandra et al., 2022). V případě zjištění kritických výsledků u pacienta, dochází ihned k jejich nahlášení ošetřujícímu lékaři dle příslušné normy pro zdravotnické laboratoře. Zemlin (2018) vychází z normy ČSN EN ISO 15189:2012, ale v současnosti je platná norma ČSN EN ISO 15189 ed. 3: 2023 (Český institut pro akreditaci, 2023). Hlášení musí obsahovat příslušné hlášené metody a jméno osoby, které jsou výsledky hlášeny. V mnoha laboratořích je zvykem opakovat analýzu kritických výsledků, aby se potvrdila správnost dříve, než jsou výsledky nahlášeny klinickému lékaři. Tento postup však prodlužuje dobu zpracování a je nákladný. Pokud je v laboratoři správná interní a externí kontrola kvality, je tento postup opakování zbytečný (Zemlin, 2018). Tato fáze dále zahrnuje skladování vzorků, údajů, žádanek a likvidaci vzorků (Chandra et al., 2022).

2.4 Vyšetření paraproteinu metodou elektroforézy

2.4.1 Historie elektroforézy

Důležitou roli v historii molekulární biologie hráli preparativní a analytické metody (Chiang, 2009). Jednou z těchto metod byla elektroforéza, jejíž počátek se píše roku 1807, kdy německý lékař a fyzik Ferdinand Friedrich Reuss poprvé zaznamenal pohyb hliněných částic rozptýlených ve vodě, které byly pod vlivem prostorově rovnoměrného elektrického pole vytvořeného baterií. Tímto pozorováním zjistil existenci hliněných bariér mezi póly baterie. Další významný pokrok v historii elektroforézy provedl Arne Tiselius v roce 1930. Tiselius

vynalezl tzv. Tiseliův aparát. Jedná se o první skutečné elektroforézní zařízení, které tvoří soustava skleněných trubic ve tvaru písmene U (Dondelinger, 2010). Dnes je tato používaná metoda známá jako zónová elektroforéza (Pazourek, 2003). V roce 1948 Tiselius získal Nobelovu cenu za chemii. Elektroforéza díky svým schopnostem nachází uplatnění ve vědě a výzkumu v oblasti lékařství, biologie, forenzní vědě a dalších oborů (Dondelinger, 2010).

2.4.2 Princip elektroforézy

Elektroforéza je významná biochemická metoda k průkazu monoklonálních imunoglobulinů (Zdeněk et al., 2010, s. 317). Tato metoda rozděluje bílkoviny na základě jejich fyzikálních vlastností (O'Connell et al., 2005). Hlavním principem elektroforézy je separace látek v elektrickém poli podle jejich elektroforetické pohyblivosti, kdy negativně nabité částice putují směrem k anodě a kladně nabité částice ke katodě (Kušnierová, 2022, s. 38). Mimo náboje závisí rozdělení také na velikosti a tvaru molekul (Skeldon, 2018). Provedením procesu se bílkoviny rozdělí nejčastěji do 5 hlavních tříd, a to: albumin, alfa1-globuliny, alfa2-globuliny, beta-globuliny a gama-globuliny. Beta-globuliny se mohou ještě dále někdy dělit na beta1-globuliny a beta2-globuliny (Kušnierová, 2022, s. 40).

2.4.3 Využití elektroforézy v klinické praxi

Elektroforéza se v klinické praxi využívá především k průkazu monoklonálních imunoglobulinů (Kušnierová, 2022; Zdeněk et al., 2010). Imunoglobuliny jsou protilátky tvořené plazmatickými buňkami, které vznikají v konečném stádiu B-lymfocytů. B-lymfocyt má na svém povrchu zabudovaný receptor pro antigen, který je tvořen částí imunoglobulinové molekuly. V případě, že se B-lymfocyt setká s příslušným antigenem, začne se dělit. Z B-lymfocytu vznikne klon plazmatických buněk. Tyto plazmatické buňky produkují protilátky proti antigenu, který tuto reakci vyvolal. Rozlišujeme protilátky typu IgG, IgA, IgM, IgD a IgE. Při elektroforéze rozlišujeme konkrétně monoklonální protilátky, což jsou protilátky jednoho izotypu (G, M, A…) a jedné specifity, vzniklé z plazmatických buněk jednoho B-lymfocytu. V organismu se monoklonální protilátky nejčastěji vyskytují při nádorových onemocněních. Zvýšená koncentrace protilátek se dále vyskytuje při bakteriálních nebo virových infekcí (Bartůňková et al., 2011). K prokázání monoklonálních protilátek je většinou zapotřebí vyšetření jak séra, tak moči (Zdeněk et al., 2010).

Pro průkaz monoklonálních imunoglobulinů, se využívá elektroforéza a imunoelektroforéza bílkovin v séru a v moči. Elektroforéza (dále ELFO) separuje příslušné proteiny a imunoelektroforéza (dále IFE) slouží k typizaci monoklonálních imunoglobulinů. Pokud

dojde k výskytu abnormálního proteinu, mluvíme o tzv. paraproteinu. Tyto metody hrají důležitou roli při screeningu, diagnostice, monitorování a terapii onemocnění. V současné době se nejvíce využívá ELFO/IFE na agarózovém gelu nebo kapilární ELFO/IFE (Kušnierová, 2022; Zdeněk et al., 2010).

Dále se práce bude zabývat pouze ELFO/IFE na agarózovém gelu v séru, která je v laboratořích biochemie využívána nejčastěji (Zaias et al., 2021).

2.4.4 Elektroforéza proteinů séra na agarózových gelech

Elektroforéza na agarózovém gelu je screeningová metoda, která se využívá nejčastěji k průkazu paraproteinů. Můžeme jí však zjistit také hypergamaglobulinémii, hypogamaglobulinémii, monoklonální, polyklonální a oligoklonální gamapatii, nefrotický syndrom nebo také chronický a akutní zánět (Tichý a Maisnar, 2006). Tato metoda jako nosič využívá agarózu, což je polysacharid izolovaný z mořských řas rodů *Gelidium* a *Graciliaria*. Agaróza se skládá z opakovaných podjednotek agarobiózy. Agarobióza je složená ze dvou monosacharidů a to L-galaktózy a D-galaktózy (Lee et al., 2012). Frakce sérových proteinů jsou na agarózovém gelu kvantifikovány denzinometricky nebo skenováním (Vávrová et al., 2020).

V laboratoři klinické biochemie je elektroforéza prováděna nejčastěji pomocí analyzátorů Hydrasys nebo Interlab firmy Sebia. Další analyzátory, které však nejsou v České republice příliš rozšířeny, nabízí firma Helena. Firma Helena nabízí analyzátory SAS-1, SAS-2, SAS-3 a SAS-4 (Kušnierová, 2022).

Hydrasys 2 Scan Focusing

Hydrasys 2 Scan Focusing je poloautomatický analyzátor, který vyžaduje manuální nanesení vzorků do aplikátorů obsluhou. Dále je nutné umístění aplikátorů do migrační části analyzátoru. Po elektroforetické migraci se gel přenese do gelové plotny k barvení, odbarvení a osušení. Po ukončení elektroforézy se gel přenese do skeneru, který využívá software Phoresis a vyhodnotí se jednotlivé frakce vzorků v séru (Kušnierová, 2022).

Tomuto analyzátoru byla věnována větší pozornost, jelikož souvisí s praktickou částí práce, kdy analýza paraproteinu v laboratoři, kde probíhal výzkum, se provádí na tomto analyzátoru. Postup ELFO na tomto analyzátoru je uveden v příloze C.

Dále existují další analyzátory jako *Pretty Interlab* a *Interlab G26 Easy Fix.*

Pretty Interlab patří mezi plně automatický elektroforetický analyzátor, který je velmi jednoduchý na obsluhu. Umožňuje automatické nanesení vzorků na gel po napipetování obsluhou do vzorkového segmentu, dále umožňuje migraci, denaturaci, barvení, odbarvení a nakonec sušení. Vyhodnocení gelu probíhá ve skeneru, do kterého je nutné gel přenést. Skener je propojený se systémem Elfolab, který umožňuje editaci elektroforetických křivek, vkládání komentářů nebo automatickou identifikaci monoklonálních komponentů (Kušnierová, 2022).

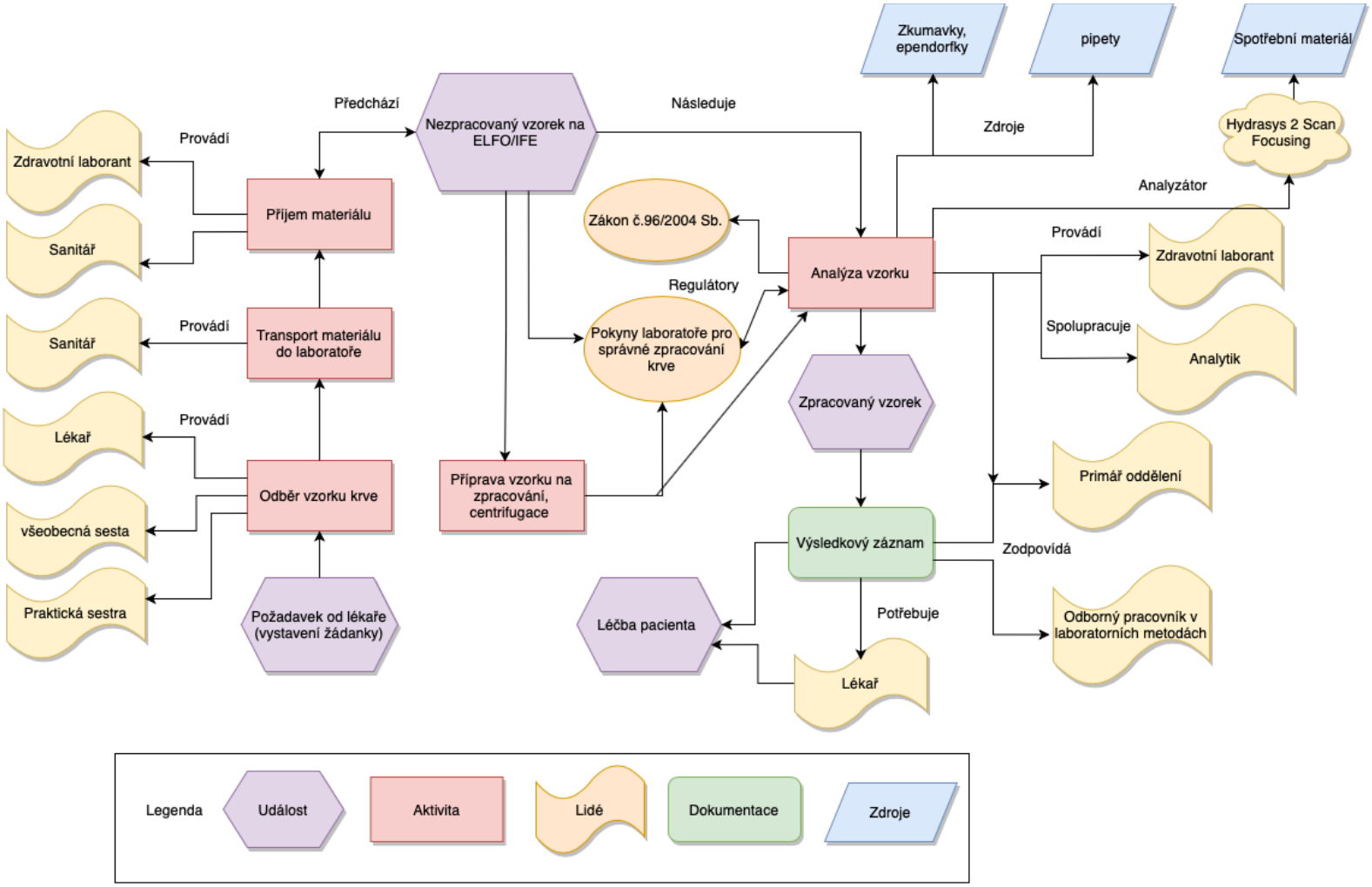
Interlab G26 Easy Fix je také plně automatický analyzátor, avšak oproti Hydrasys 2 Scan Focusing nebo Pretty Interlab umožňuje automatické pipetování vzorků přímo z primární zkumavky a dokáže identifikovat vzorek pomocí čárového kódu na zkumavce. Následné kroky, které jsou stejné jako u předchozích analyzátorů, dokáže udělat v jednom kroku bez zásahu pracovníka (Kušnierová, 2022).

2.4.5 Imunoelektroforéza proteinů séra na agarózových gelech

Imunoelektroforéza je metoda, která se indikuje v případech, kdy je v elektroforeogramu podezření na přítomnost M-gradientu (paraproteinu) nebo je již tento gradient prokázán. Slouží především k určení imunoglobulinové třídy paraproteinu nebo také k určení antigenního typu lehkých řetězců Ig (Tichý and Maisnar, 2006).

Jedním z analyzátorů provádějící imunoelektroforézu je Hydrasys 2 Scan Focusing. Tento přístroj nabízí několik variant diagnostický souprav, jsou jimi například Hydragel IF, Hydragel IF penta nebo Hydragel Bence Jones (Kušnierová, 2022). Postup IFE na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing je uveden v příloze D.

Shrnutí procesu laboratorního vyšetření vzorku na ELFO/IFE lze vidět na obrázku 3.



Obrázek 3 – Workflow laboratorního vyšetření vzorku na ELFO/IFE (vlastní zpracování)

3 ŘÍZENÍ RIZIK VE ZDRAVOTNICKÉM ZAŘÍZENÍ

S procesem řízení rizik se setkáme v každém zdravotnickém zařízení. Zdravotnická organizace je ze své podstaty komplexní organizací, jejíž složitost je generována různými důvody, např. rozmanitostí probíhajících činností nebo mnohočetnými interakcemi a kompromisy mezi interními a externími zúčastněnými stranami. Tyto interakce mohou generovat několik způsobů selhání a nežádoucích událostí, které by mohli vést ke snížení kvality péče a ovlivnit bezpečnost pacienta během cesty zdravotnickou organizací (En-Naaoui et al., 2021). Proces řízení rizik je základní stavební kámen moderního managementu, kdy jeho úkolem je identifikace, vyhodnocení, plánování a řešení aktuálních nebo potencionálních rizik, která mohou vést k poškození lidí, k finanční ztrátě nebo ztrátě dobré pověsti organizace (Merna and Al-Thani, 2007; Škrla and Škrlová, 2008). Aby bylo řízení rizik efektivní, musí být do procesu zahrnuty všechny úrovně organizace. Tyto úrovně jsou nejčastěji podmíněny 3 složkami, a to organizací, která stanovuje celkovou politiku společností, samostatně hospodařící jednotkou, stanovující hlavní vlastnosti obchodu a projektem. Dále je nutno vzít v úvahu vzájemnou interakci těchto úrovní a všímat si procesů, které dovolují těmto úrovním navzájem komunikovat a učit se (Merna and Al-Thani, 2007).

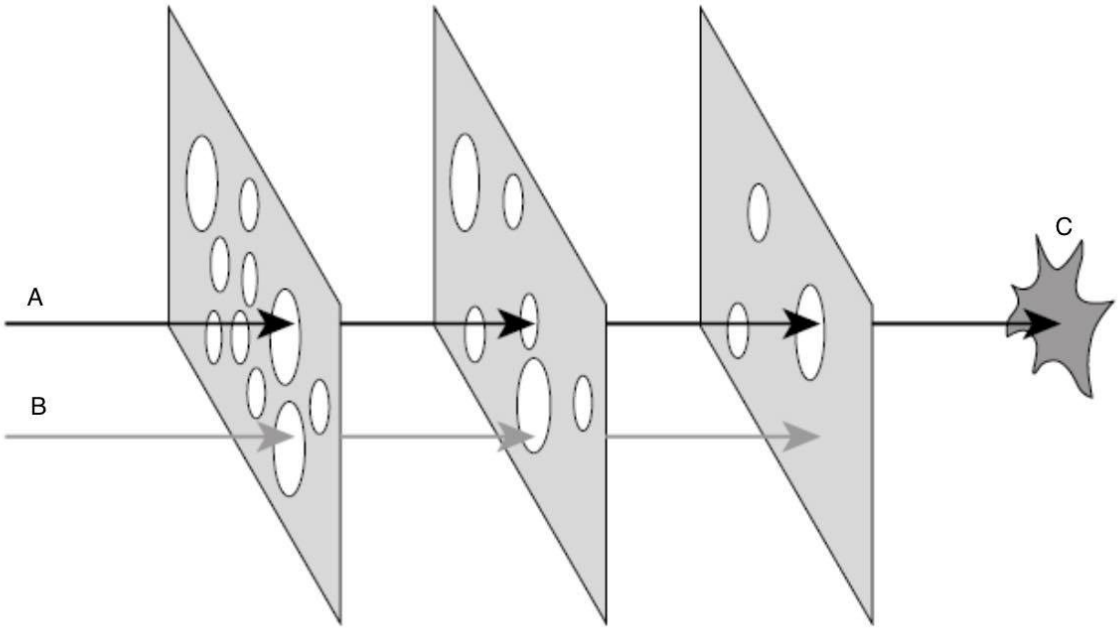
3.1 Riziko

Pojem riziko (lat. *risico*) pochází z období 17. století, kdy byl spojován s lodní dopravou. V té době se museli plavci vyhnout všemožným úskalím a nepříznivým okolnostem (Smejkal and Rais, 2013). V dnešní době existuje mnoho definic rizika. Jedna z definic představuje riziko jako negativní jev spojený se ztrátou jakéhokoliv prostředku, s výskytem určitého neočekávaného jevu nebo dosažením neúspěchu. Riziko nemusí být vždy vnímáno jen jako negativní jev. Existuje tzv. zdravé riziko, kdy se uplatňuje pořekadlo „risk je zisk“. Ve zdravotnictví se za negativní dopad rizika považuje ohrožení pacientů na zdraví nebo životě (Šupšáková, 2017). Existuje velké množství rizik a jejich zdrojů. Je nutné jim předcházet, provádět příslušná opatření, a především řídit se procesem řízení rizik (Procházková, 2020, s.53).

3.1.1 Teorie vzniku rizik – model „švýcarského sýru“

Model švýcarského sýru, v anglickém překladu Swiss Cheese Model, je široce používaný, jednoduchý model vzniku rizik, který se uplatňuje ve zdravotnictví pro účely poskytování zdravotní péče. Autorem tohoto modelu byl James Reason, podle něhož se nazývá také Reasonův model. Model byl poprvé zveřejněn v 90. letech 20. století. Je používán v mnoha

oborech, především v letectví, strojírenství, IT a ve zdravotních službách k analýze rizik a jejich řízení. Princip spočívá v obranných bezpečnostních bariérách, které tvoří plátky sýra (viz obrázek 4). V obranných vrstvách se nacházejí díry různých velikosti, které jsou všemožně rozmístěny. Tyto díry jsou výsledkem aktivních a latentních chyb. Aktivní chyba je snadno identifikovaná, je výsledkem jednotlivce, např. chyba pilota, lékaře. Latentní neboli pasivní chyba je méně zjevná, vzniká v případě selhání systému, nikoliv jednotlivce. Pokud dojde k realizace rizika, mohou rizika pronikat dírami v plátcích sýra (Šupšáková, 2017).



A – Černá linie představuje riziko, které proniklo přes všechny bariéry, B – Šedá linie představuje riziko, které proniklo pouze přes dvě bariéry, nepřítomnost díry ve třetí bariéře riziko zastavilo, C – Konečná ztráta, v důsledků proniknutí černé linie všemi bariérami

Obrázek 4 – Model švýcarského sýra (převzato a upraveno dle Šupšáková, 2017)

3.2 Proces řízení rizik

3.2.1 Identifikace rizik

Identifikace rizik je důležitý proces řízení rizik, kdy hlavním úkolem manažera organizace je určení potencionálních hrozeb a příležitostí, které by mohly nastat (Oehmen et al., 2020; Wiedenmann and Größler, 2021). Pro identifikaci je důležité znát zainteresované strany, tedy kdo je za potencionální riziko zodpovědný, dále v jaké fázi životní cyklu výrobku nebo procesu se riziko nachází a v poslední řadě, jaký hrozí dopad (Oehmen et al., 2020). Identifikovat můžeme hned několik druhů rizik. Mezi základní druhy patří rizika podnikatelská, čistá, systematická, nesystematická, vnitřní, vnější, ovlivnitelná, neovlivnitelná, primární, sekundární

a rizika podle fází projektu. Dále můžeme rozlišovat rizika podle věcné náplně, mezi které patří rizika technicko-technologická, výrobní, ekonomická, tržní, finanční, legislativní, politická, enviromentální, informační, rizika spojená s lidským činitelem a tzv. "zásahy vyšší moci" (rizika spojená s haváriemi výrobních zařízení a nebezpečím živelných pohrom) (Veber et al., 2021).

3.2.2 Analýza rizik

Analýza rizik je druhý krok v procesu řízení rizik, kdy už jsou identifikována rizika a úkolem analýzy je kvantifikace a hodnocení těchto rizik. V tomto kroku je nutné zdokumentovat zdroje rizik a rizikové události, které personál přijmul, dodržoval nebo ignoroval (Merna and Al-Thani, 2007).

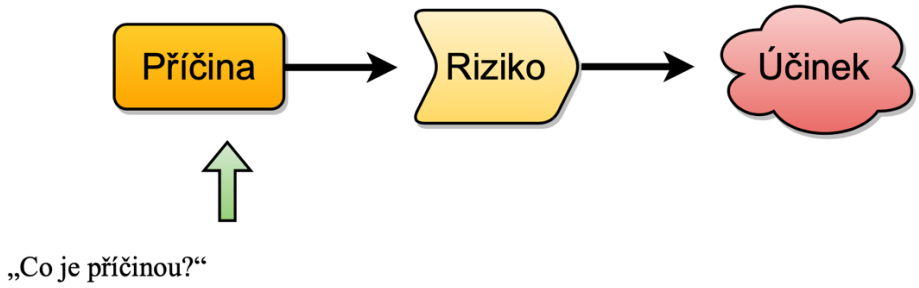
Riziko může být analyzováno 2 způsoby:

1. ***Retroaktivně (retrospektivně)*** – identifikace rizik na základě hodnocení a analýzy proběhlé události.
2. ***Proaktivně (prospektivně)*** – identifikace vyhledáváním možných rizik a jejich analýzou (Šupšáková, 2017).

3.2.2.1 Retroaktivní metody analýzy rizik

RCA metoda (Root Cause Analysis)

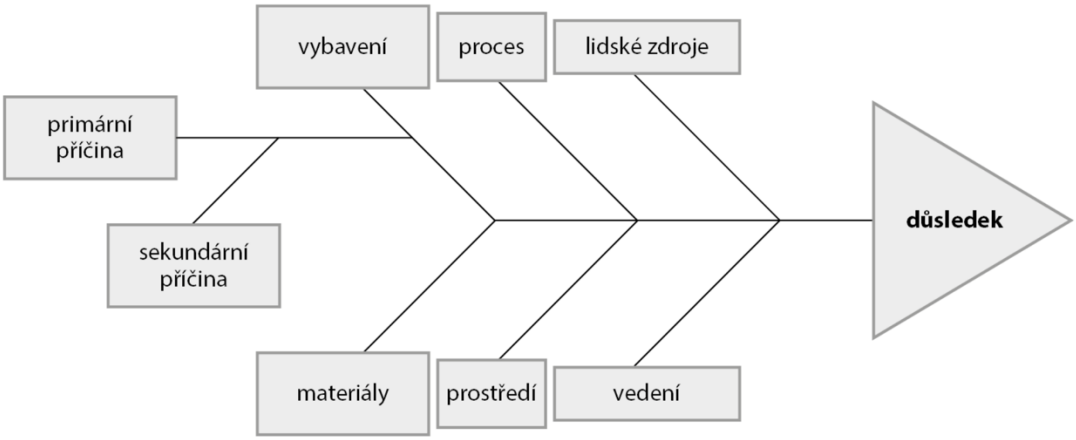
RCA metoda, jinak nazývaná kořenová analýza, je základní metodou retrospektivní identifikace a analýzy rizik (Šupšáková, 2017). Jedná se o klíčový nástroj používaný především ve zdravotnictví k lepšímu pochopení a hodnocení nežádoucích událostí (Šupšáková, 2017; Taitz et al., 2010). Tato metoda se používá k nalezení hlavních (prvotních) kořenových příčin a ke zpřesnění struktury *příčina – riziko – účinek* (viz obrázek 5). Korecký a Trkovský (2011) říkají že: „*Poznání prvotní příčiny je důležité pro nalezení opatření, které by mohlo co nejúčinněji zamezit riziku ve formě hrozby nebo naopak najít způsob, jak co nejlépe podpořit příležitost"* (Korecký a Trkovský, 2011 s. 222). Úkolem RCA metody je zjistit co se stalo, proč se to stalo a co lze udělat proto, aby byla snížena pravděpodobnost opakování a opětovného výskytu problému. Na této analýze se podílí především manažer kvality a manažer rizik (Šupšáková, 2017).



Obrázek 5 – Ilustrace RCA metody (převzato a upraveno dle Korecký a Trkovský, 2011, s. 223)

Ishikawa Diagram (Fishbone diagram)

Ishikawa diagram, známý také jako rybí kost nebo diagram příčin a následků je další retroaktivní metodou analýzy rizik, která má za cíl nalezení kořenových příčin a následků problémů v různých oblastech. Tento diagram byl poprvé vytvořen v roce 1943 jako nástroj myšlení profesora inženýrství Kaora Ishikawa (Clary and Wandersee, 2010). Kaora Ishikawa navrhl také sedm základních nástrojů kontroly kvality, mezi které patří mimo jiné i Ishikawa diagram (Suárez-Barraza and Rodríguez-González, 2019). Na rozdíl od RCA metody je Ishikawa metoda grafickou technikou, která slouží k identifikaci a analýze komplexní souhry příčin konkrétního problému, události nebo jevu (Coccia, 2017). Diagram je založen na principu rybí kostry, kdy hlava představuje souhrnný efekt nebo problém a každé z rybích žeber jednotlivé kategorie, které mohou být příčinou problému. Z každého žebra vedou následně vodorovné větve, kde jsou uvedeny prvotní příčiny v dané kategorii. Dále můžou být použity i dílčí větve, které uvádějí druhotné příčiny (Clary and Wandersee, 2010). Kategorie mohou být zobrazeny jako prostředí, lidé, vybavení, materiály, měření, technologie, informace, proces atd. (Suárez-Barraza and Rodríguez-González, 2019). Příklad Ishikawa diagramu lze vidět na obrázku č. 6.



Obrázek 6 – Ishikawa diagram (Žaludek, 2020)

3.2.2.2 Proaktivní metody analýzy rizik

FMEA metoda (Failure Modes and Effects Analysis)

FMEA je proaktivní metoda analýzy rizik, která byla vyvinuta v 60. letech 20. století v USA, a to především pro potřeby amerického vesmírného programu NASA (Blecharz, 2023). Jedná se o metodu analýzy možného výskytu a vlivu vad, která se používá ke zkoumání možných selhání v procesu, k hodnocení rizik a analýze základních příčin poruch procesů (Ivančan et al., 2023). Tato metoda je zaměřena především na prevenci možných pochybení a používá se především pro hodnocení nových procesů před jejich implementací (Šupšáková, 2017). Lze ji však použít i na zavedené procesy nebo výrobky (Plura, 2001, s. 77). Dále se využívá k hodnocení dopadů chystaných změn, které probíhají na pozadí existujících procesů. Přináší mnoho přínosů, například zlepšuje plánování procesů ve zdravotní péči nebo zajišťuje, že poskytovaná péče bude připravena pro své účely a bude poskytovat výsledky dle svého očekávání (Šupšáková, 2017). FMEA metodu je nutné aplikovat v týmu, jelikož její hlavní předností je využití znalostí a zkušeností celé řady odborníků (Plura, 2001, s. 77).

HFMEA metoda (Healthcare Failure Modes and Effects Analysis)

HFMEA je hybridní prospektivní analytická metoda, která je kombinací konceptů FMEA a HACCCP metod (Šupšáková, 2017). Jde o metodu, která slouží k identifikaci potencionálně nebezpečných činností ve zdravotnických procesech. Zdravotnickým procesem může být například podávání léků, kde hrozí riziko špatného podání (Sova et al., 2022).

HACCP metoda (Hazard Analysis and Critical Control Points)

HACCP je metoda analýzy rizika a kritických kontrolních bodů. Původně byla vytvořena pro kosmonauty k zajištění stravy, aby nebyla kontaminovaná. Později našla využití k hodnocení rizik ve stravovacím průmyslu. Mezi klíčové kroky HACCP patří identifikace hazardu a hodnocení jeho závažnosti a rizika, určení kritických bodů, specifikace kritérií kontrolního procesu, monitorování těchto kritických bodů a provedení opravné akce kdekoliv, kde bude zjištěno, že nejsou naplněná daná kritéria ověření, že systém funguje tak, jak bylo plánováno (Šupšáková, 2017).

3.2.3 Hodnocení rizik

Po identifikaci a analýze rizik následuje fáze hodnocení nalezených rizik. Pokud je identifikováno více rizik najednou, je nutné provést jejich prioritizaci. Rizika se hodnotí v rámci tří kritérií. Prvním kritériem je pravděpodobnost výskytu rizika, které může být zanedbatelné, malé, střední, velké nebo jisté. Druhé kritérium určuje míru závažnosti následků, které mohou vzniknout při neodstranění rizika. Závažnost může být zanedbatelná, malá, střední, velká nebo katastrofická (Škrla and Škrlová, 2008). Třetím kritériem je pravděpodobnost detekce chyby (Žaludek, 2020).

3.2.4 Náprava rizik

Po vyhodnocení všech možných rizik, odhadu jejich kritičnosti a stupně poškození zvolí zdravotnické zařízení vhodná kontrolní opatření k detekci nebo zabránění tomu, aby se chyba nedostala k pacientovi. Cílem je udržet riziko na klinicky přijatelné úrovni (Njoroge and Nichols, 2014). Na základě vyhodnocení rizik a určení jejich priority, lze použít některé z následujících strategií:

Vyhnutí se rizikové situaci

Tato strategie se uplatňuje v rámci zdravotnického zařízení v případech, kdy existuje riziko, proti kterému se nelze pojistit nebo ho snížit a neexistuje ani žádná dostupná prevence (Žaludek, 2020). V praxi je tato strategie využívána především pojišťovnami, které nechtějí pojistit klienty s vysokým zdravotním rizikem. Ve zdravotnictví to může znamenat, že personál nemá dostatečné odborné vzdělání, vybavení nebo zkušenosti na provedení výkonu (Škrla and Škrlová, 2008).

Přenesení rizik

Tato strategie spočívá v tom, že odpovědnost je přenesena na někoho jiného, např. jiné zdravotnické zařízení (Škrla and Škrlová, 2008). Tato technika nezabraňuje případnému dopadu a poškození, pouze riziko převede někam jinam (Žaludek, 2020).

Minimalizace rizik

Rizika můžeme vhodnými opatřeními omezit nebo jim dokonce předcházet. Ve zdravotnictví je důležité používat důsledně ochranné oděvy a pomůcky, které chrání personál před možnými negativními vlivy. Dalším důležitým procesem je výuka personálu, která je považována za nejefektivnější strategií řízení rizik (Škrla and Škrlová, 2008).

Akceptování rizik

V případě, že jde o přijatelné riziko je využita strategie akceptování. Tato strategie může být však nebezpečná, a to hlavně v případě, kdy má zařízení milný dojem, že riziko je kontrolované (Škrla and Škrlová, 2008).

3.2.5 Monitorování rizik

Fáze monitorování rizik je poslední činností v rámci procesu řízení rizik. Po identifikaci, analýze, hodnocení a zhotovení nápravy rizik následuje kontrola přijatých opatření. V rámci monitoringu dochází ke sledování účinnosti stávajících opatření, identifikaci nových rizik a zlepšení současných opatření (Njoroge and Nichols, 2014).

3.3 Proces řízení rizik v laboratoři klinické biochemie

Proces řízení rizik je základní součástí systému managementu kvality v laboratoři klinické biochemie (Jayamani et al., 2022). Testování vzorků je složitý proces, při kterém se mohou objevit chyby, a to v kterékoliv fázi laboratorního procesu. Úkolem laboratoře je prozkoumání procesu z hlediska jeho slabých míst a možných nebezpečí, přijetí opatření k odhalení chyb a jejich předcházení dříve, než ovlivní výsledky laboratorních testů (Njoroge and Nichols, 2014).

Identifikace rizik

Typický proces řízení rizik v klinické laboratoři začíná tím, že se identifikují potencionální rizika v rámci existujících procesů. Identifikace probíhá ve třech fázích laboratorního procesu, a to v preanalytické, analytické a postanalytické fázi. V těchto fázích dochází ke zmapování jednotlivých kroků a následně ke zhodnocení souvisejících rizik (Jayamani et al., 2022).

Analýza rizik

V rámci analýzy rizik je v laboratoři nejčastěji využívána metoda analýzy možných příčin a důsledků (FMEA), která byla již popsána v kapitole 3.2.2.2. Proaktivní metody analýzy rizik. Dalším velmi používaným nástrojem v klinické laboratoři je přístup Six Sigma, který je využíván především k měření účinnosti postupů kontroly kvality (Guiñón et al., 2020).

Hodnocení rizik

Po analýze následuje hodnocení rizika, kdy je velmi důležité posoudit a zhodnotit jednotlivá rizika, která mohou nastat v rámci testování vzorku a určit priority, které je nutné řešit. Při hodnocení možných rizik se musejí vzít v úvahu všechny součásti měřícího systému, jako je vzorek pacienta, činidla, chemikálie, podmínky prostředí, analyzátor a personál. V laboratořích je stupeň poškození definován pomocí semikvantitativní škály úrovní závažnosti. Nejmenší úroveň tvoří zanedbatelné poškození, které způsobí dočasné nebo déle trvající nepohodlí pacienta a nejvyšší úroveň zaujímá kritické nebo katastrofické poškození člověka, které může způsobit trvalé poškození nebo dokonce smrt (Njoroge and Nichols, 2014).

Náprava a monitoring rizik

Dalším krokem je náprava rizik, kdy je v klinické laboratoři využíván systém kontroly kvality (Njoroge and Nichols, 2014). Nejprve je nutné definovat požadavky na systém kvality normou ČSN EN ISO 15189 ed. 3: 2023 a poté vytvořit nástroje jejího kvantitativního sledování, tedy

indikátory kvality (Český institut pro akreditaci, 2023; Friedecký, 2010). Indikátory kvality jsou měřící nástroje, které se používají v rámci kontroly kvality. Proces kontroly kvality má za cíl monitorovat výkon měřících přístrojů a informovat personál v případě, kdy nastanou poruchy, které by mohli ovlivnit výsledky testů a jejich klinický účel. V laboratoři je běžným způsobem monitorování měřících přístrojů použití kapalné kontroly. Laboratoř si stanoví pravidla a rozsah měřícího analytu, který definuje velikost změny ve výkonu testu, která je ještě povolena. Vzorky kontroly kvality by měli být prováděny každý den ve dvou úrovních – nízké a vysoké. Testování by mělo probíhat stejným způsobem jako jsou testovány vzorky pacientů. Tato kapalná kontrola je vhodná pří nápravě rizik v případě měřícího přístroje nebo jeho obsluhy, nikoliv však v důsledku náhodných nebo nepředvídatelných chyb v preanalytické fázi laboratorního vyšetření (Njoroge and Nichols, 2014).

VÝZKUMNÁ ČÁST

Výzkumná část navazuje na poznatky, které byly popsány v teoretické části diplomové práce. Výzkum se zaměřuje na řízení rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie v klinické praxi. Cílem je v rámci již zavedeného specializovaného vyšetření provést analýzu rizik.

Hlavní výzkumný cíl:

Hlavním výzkumným cílem je provést analýzu rizik spojenou s procesem analýzy paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie pomocí metody FMEA.

Dílčí výzkumné cíle:

1. Identifikovat hlavní rizikové faktory spojené s procesem analýzy paraproteinu v séru.
2. Zhodnotit identifikovaná rizika na základě jejich míry závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce.

Výzkumné otázky:

1. Jaké jsou rizikové faktory spojené s analýzou paraproteinu v séru?
2. Jaká je závažnost následků potencionálních rizik spojených s analýzou paraproteinu v séru?
3. Jaká je míra výskytu potencionálních rizik spojených s analýzou paraproteinu v séru?
4. Jak pravděpodobná je detekce potencionálních rizik?

4 METODIKA VÝZKUMNÉ ČÁSTI

V oblasti klinické biochemie se řízení rizik stává klíčovou součástí zajištění kvality diagnostických procesů a výsledků. Zejména při analýze paraproteinu v séru, která hraje klíčovou roli při detekci a monitorování hematologických a onkologických onemocnění, je nezbytné systematicky a efektivně řídit rizika spojená s touto analýzou. Tato diplomová práce se zaměřuje na řízení rizik při analýze paraproteinu v séru, která si klade za cíl identifikovat potencionální rizika spojená s touto problematikou a následně je zhodnotit.

Výzkumná část práce byla rozdělena do dvou fází. První fáze zahrnovala identifikaci potencionálních rizik při analýze paraproteinu v séru, zatímco druhá fáze hodnotila nalezená rizika z hlediska jejich závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce.

Práce započala ve druhé polovině roku 2022, kdy došlo k uzavření ústní dohody mezi autorkou této práce a primářkou oddělení klinické biochemie, kde se nachází vybraná laboratoř. Tato dohoda se týkala spolupráce v oblasti zkoumání potencionálních a stávajících rizik, která mohou ovlivnit analýzu paraproteinu v séru prováděnou metodou elektroforézy a imunoelektroforézy. Jednání vedlo k dohodě o provedení komplexní analýzy rizik ve všech fázích laboratorního procesu, mimo některých preanalytických mimolaboratorních aspektů, které nelze z laboratorní pozice ovlivnit a kontrolovat. Jedná se např. o samotný odběr vzorku nebo o poučení pacienta o správné životosprávě před odběrem.

Vzhledem k obsahu tématu byla iniciována pilotní studie.

4.1 Pilotní studie

Pilotní studie je výzkumná metoda v malém měřítku, kdy je zjišťována proveditelnost vybraného procesu (Arain et al., 2010). Zaměřuje se na vybraný proces a ptá se, zda ho lze uskutečnit a jak (Junyong, 2017). Cílem je také zjistit, zda získané výsledky výzkumu jsou přínosem, a zda má cenu dělat výzkum v širším měřítku (Chromý, 2014). Pilotní studie je důležitá pro zlepšení kvality a efektivity hlavního výzkumu (Junyong, 2017).

V první polovině roku 2023 byly autorkou této práce a manažerkou kvality projednány hlavní problémy spojené s analýzou paraproteinu v rámci neformálního rozhovoru. Neformální rozhovor probíhal na úseku analýzy bílkovin ve spolupracující laboratoři klinické biochemie a trval 20 minut. Obě zúčastněné osoby se dohodly na použití Ishikawa diagramu v rámci identifikace možných rizik v různých oblastech laboratorního procesu a dále použití FMEA metody ke zhodnocení stávajících a potencionálních rizik v rámci analýzy paraproteinu v séru.

Předmětem neformálního rozhovoru bylo také projednání problematiky analýzy paraproteinu v moči, avšak obě přítomné osoby se shodly na malém množství rizik spojených s tímto procesem, kdy v praxi nedochází k přílišnému pochybení, a tudíž k ovlivnění výsledku analýzy. Získané výsledky budou použity pro zlepšení procesu a zabránění výskytu potencionálních chyb.

Písemný souhlas s realizací výzkumu v dané laboratoři byl získán od primářky oddělení. První fáze výzkumu byla naplánovaní na druhou polovinu roku 2023 a druhá fáze na začátek roku 2024.

4.2 Charakteristika zkoumaného pracoviště

Pro výzkum byla vybrána laboratoř klinické biochemie v jedné nejmenované oblastní nemocnici[1]. Laboratoř je součástí oddělení klinické biochemie (dále jen OKB), které dále zahrnuje odběrovou ambulanci OKB a ordinaci pro poruchy metabolismu. Toto pracoviště poskytuje služby akutní i neakutní lůžkové péči a všem ambulantním zařízením v okolí. Provádí i některá specializovaná vyšetření, která poskytuje zařízením nad rámec svého terénního působení. V současné době (údaj k 11.11. 2023) pracuje na tomto pracovišti 1 lékař, 2 analytici, 1 manažer kvality, 1 vrchní laborantka, 11 laborantek, 3 odběrové všeobecné sestry a 2 uklízečky. Samotná laboratoř se skládá ze 7 úseků. Zahrnuje centrální příjem, centrální počítač sloužící k zadávání žádanek, močovou laboratoř, rutinní a statimový úsek, úsek speciálních metod a úsek analýzy bílkovin, kde se mimo jiné provádí problematika této práce, a to analýza paraproteinu metodou elektroforézy a imunoelektroforézy.

Laboratoř je evidována v registru klinických laboratoří a je držitelem osvědčení auditu R3 NASKL. V rámci zvyšování kvality se řídí normou ČSN EN ISO 15189:2013.

4.3 Metodika vlastního výzkumu

V rámci této práce na téma řízení rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie byla zvolena proaktivní metoda analýzy rizik FMEA. FMEA je kvalitativní metoda, která slouží pro analýzu a hodnocení rizik spojených s procesy, produkty nebo systémy. Jeho hlavním cílem je identifikovat potencionální selhání, příčiny těchto selhání a jejich potencionální důsledky, a to podle jejich rizika (Anes et al., 2018). Přestože FMEA může

[1] Informace v této kapitole byly získány z webových stránek zdravotnického zařízení. Z důvodu zachování anonymity zařízení nejsou webové stránky v práci uváděny.

obsahovat také některé kvantitativní prvky, jako je například přiřazování prioritních čísel nebo bodování rizik, většinou je zaměřen na kvalitativní hodnocení rizik na základě expertních znalostí a zkušeností týmu.

Samotná analýza je vědní metoda, která je používána především ve fázi poznávání vědeckého problému, a při jeho detailním zkoumání. Je založena na postupu, kdy se jeden určitý celek rozkládá na nižší entity – prvky, vztahy, funkce nebo procesy, které jsou dále poznávány (Ochrana, 2019).

Analýza zahrnuje 4 metodické kroky, které jsou podle Ochrany (2019) následující:

1. Identifikace celistvého předmětu zkoumání – výstupem tohoto kroku je definování výzkumného předmětu.
2. Dekompozice celku na části – výstupem je výběr vhodného druhu analýzy.
3. Aplikace vybrané analytické metody – výstupem jsou výsledky analýzy.
4. Interpretace výsledků analýzy – výstupem tohoto kroku jsou interpretované výsledky analytického zkoumání.

Postup analýzy rizik pomocí zvolené FMEA metody byl zvolen dle doporučení Šupsákové (2017) následovně:

1. Výběr rizikového procesu.
2. Vytvoření multidisciplinárního týmu odborníků.
3. Identifikace potencionálních nebo stávajících rizik.
4. Stanovení RPN pro každé riziko na základě zhodnocení závažnosti následků, očekávaného výskytu a pravděpodobnosti detekce rizika.
5. Vyhodnocení výsledků.

Jak již bylo zmíněno, výzkumná část byla rozdělena do dvou fází. V první fázi byla provedena v rámci FMEA identifikace potencionálních rizik a ve druhé fázi došlo ke zhodnocení nalezených rizik.

První fáze výzkumu navazuje na pilotní studii, pomocí které byla zjištěna proveditelnost, časový plán a byl získán písemný souhlas s provedením výzkumu. Pro provedení první fáze výzkumu byla na základě dohody použita retroaktivní metoda identifikace rizik, a to Ishikawa diagram, jinak známý také jako diagram rybí kosti nebo diagram příčin a následků. Principem tohoto modelu je zobrazení možných důvodů selhání v procesu (Žaludek, 2020). Tento přístup

analýzy umožňuje identifikovat potencionální příčiny problémů nebo rizik v různých oblastech laboratorního procesu analýzy paraproteinu v séru. První fáze výzkumu byla provedena v preanalytické, analytické a postanalytické fázi laboratorního procesu.

Výsledné Ishikawa diagramy posloužily ve druhé fázi výzkumu jako základ pro analýzu rizik pomocí FMEA metody. Tyto diagramy pomohli znázornit a uspořádat jednotlivá rizika, která byla zjištěna na základě analýzy vnitřních dokumentů.

4.3.1 Sestavení týmu odborníků

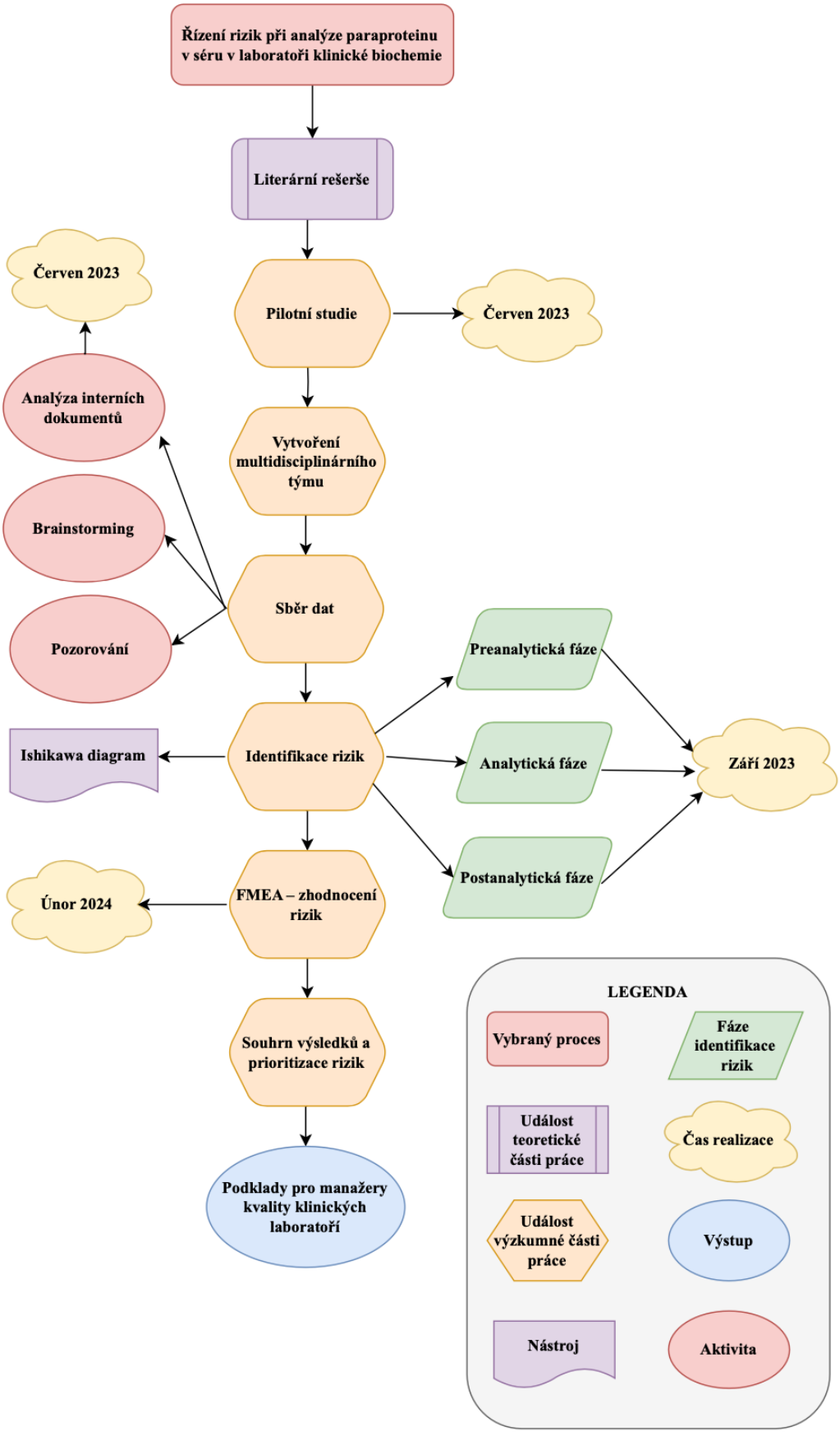
Ve druhé polovině roku 2023 byl sestaven tým odborníků pracujících v laboratoři klinické biochemie, kde probíhal výzkum. Tým se skládal celkem z 5 lidí. Tvořila ho autorka této práce, manažerka kvality působící zároveň i jako analytička se specializovanou způsobilostí v oboru klinické biochemie a dále 3 laborantky se specializovanou způsobilostí z klinické biochemie a dlouholetou praxí na oddělení. Všechny laborantky, kromě autorky této práce, zařazené do expertního týmu měli minimálně 15 let praxe. Tento tým se podílel na identifikaci jednotlivých potencionálních rizik a následně tato rizika zhodnotil.

4.3.2 Sběr dat

Zachycení dat je klíčovou aktivitou, která se řídí principem co nejkomplexnějšího a nejpečlivějšího sběru dat pomocí vhodných technik. Během této fáze je důležité zamezit jakémukoli předběžnému hodnocení dat, aby nedošlo k nežádoucímu ovlivnění následně získaných informací. Sběr dat je systematický a předem plánovaný proces, který má zajistit, že veškerá relevantní data budou zaznamenána bez ztráty informací (Kutnohorská, 2009).

Sběr dat v rámci této práce probíhal ve vybrané laboratoři klinické biochemie na úseku analýzy bílkovin a zahrnoval techniky pozorování, studia vnitřních dokumentů a brainstormingu. Brainstorming byl uplatněn v týmu odborníků, kdy sloužil pro potřeby analýzy rizik v rámci FMEA metody. Brainstorming, nebo také jinak zvaná metoda bouření mozků, je činnost založená na diskusi expertů, která je řízena takovým způsobem, který napomáhá navodit specifickou vnitroskupinovou atmosféru. Tato atmosféra vytváří poté příznivé podmínky pro vznik nových, tvůrčích a neotřelých myšlenek, úvah, postupů a nápadů týkajících se řešení zadaného problému (Reichel, 2009).

Detailní postup v rámci celé diplomové práce zobrazuje obrázek č. 7.



Obrázek 7– Organizační schéma diplomové práce (vlastní zpracování)

5 PRVNÍ FÁZE VÝZKUMU – IDENTIFIKACE RIZIK

5.1 Analýza interních dokumentů

Nezbytným krokem v rámci první fáze výzkumu založené na identifikaci rizik ve vybrané laboratoři bylo provedení analýzy interních dokumentů, které souvisejí s celým procesem laboratorního vyšetření a analýzou paraproteinu v séru[2].

Laboratorní příručka OKB

Jedním z klíčových dokumentů v prostředí laboratoře klinické biochemie je *Laboratorní příručka*. Tento dokument představuje podrobný průvodce provozem, procedurami a standardními operačními postupy (SOP) v rámci laboratoře. Jeho hlavním účelem je poskytnout zdravotnickému personálu, který pracuje v laboratoři, komplexní informace o procesech laboratorních analýz, bezpečnostních směrnicích a dalších klíčových aspektech provozu. Laboratorní příručka funguje jako referenční zdroj, který umožňuje personálu seznámit se s provozními postupy. Kromě toho slouží i jako užitečný nástroj pro personál nemocnice, který spolupracuje s laboratoří, a je veřejně dostupná pro pacienty, což umožňuje transparentnost a přístupnost informací.

Pro účely této práce byly v laboratorní příručce OKB ve spolupracující laboratoři nalezeny důležité aspekty, které byly dále výchozím bodem pro zpracování analýzy rizik při vyšetření paraproteinu v séru.

V příručce jsou uvedeny chyby při odběru vzorku, kdy se musí zamezit dlouhodobému stažení paže nebo cvičení se zataženou paží před odběrem. Další chybou je ***prodleva více než 2 hodiny mezi odběrem a oddělením krevního koláče nebo erytrocytů od séra nebo plazmy***[3] (centrifugace). Dále může dojít k ***hemolýze, a to vlivem znečištění jehly stopami tekutého dezinfekčního roztoku, použitím úzké jehly, prudkým třepáním krve, zmražením krve nebo vlivem vysoké teploty působící na vzorek nebo nesprávnou koncentrací protisrážlivého činidla***. ***Krev nesmí být vystavena přímému slunečnímu světlu, musí být odebrána do vhodné***

[2] Informace v této kapitole byly získány z vnitřních dokumentů zdravotnického zařízení. Z důvodu zachování anonymity zařízení nejsou zdroje vnitřních dokumentů v práci uváděny.

[3] Zvýrazněný text v této kapitole označuje výchozí body pro identifikaci potencionálních rizik v procesu analýzy paraproteinu v séru.

zkumavky (viz příloha A) a ***správně označena***. Další uvedenou chybou je špatně připravený pacient, kdy se nedostavil na odběr nalačno, nevysadil léky nebo byl po velké fyzické zátěži.

Žádanka na vyšetření musí povinně obsahovat identifikační část pacienta a požadované metody. ***Identifikace zahrnuje označení druhu vzorku, úplné rodné číslo pacienta nebo identifikační číslo přidělené zdravotní pojišťovnou v případě cizinců, dále datum narození pacienta, jméno a příjmení, diagnózu v podobě celého číselného kódu, kód pojišťovny, identifikaci objednatele (razítko zdravotnického zařízení, oddělení, IČP (identifikační číslo provozovny), odbornost, adresu, telefon, jmenovku ordinujícího lékaře a jeho podpis). Poslední důležitým údajem je identifikace osoby, která odběr provedla, datum a čas odběru. Se žádankou musí být dopravena i zkumavka s primárním vzorkem, jehož identifikace musí obsahovat jméno a příjmení pacienta a jeho rodný číslo.***

Při přepravě materiálu do laboratoře je klíčové dbát na ***šetrnost, rychlost a udržení adekvátní teploty a světelných podmínek***. ***Vzorky musí být zasílány uzavřené s vyplněnou žádankou, a to co nejdříve po odběru. Transport vzorků z terénu musí probíhat při teplotě 2–8 °C*** a je zabezpečen prostřednictvím dopravní zdravotnické služby. Vzorky z nemocnice jsou doručovány do laboratoře pověřeným pracovníkem daného oddělení***. Příjem biologického materiálu začíná kontrolou identifikačních údajů na žádankách a odběrových zkumavkách***, včetně ověření jejich správného použití vzhledem k požadovaným vyšetřením. ***Po přijetí vzorků je žádanka biochemického vyšetření opatřena datumovkou a pořadovým číslem centrálního příjmu. Stejným pořadovým číslem je označena i zkumavka s primárním vzorkem***. Následně dochází k úpravě vzorku před analýzou, kdy se sérum nebo plazma ***zcentrifugují*** a následně se ***stočený materiál přelije nebo přepipetuje do předem očíslovaných sekundárních zkumavek***. V případě potřeby se primární zkumavky uchovávají do odpoledních hodin následujícího pracovního dne při teplotě 4–8 °C. ***Žádanka se poté zadá do centrálního počítače s tím, že musí souhlasit pořadové číslo v LIS*** (laboratorní informační systém) ***s číslem na primární i sekundární zkumavce. V případě, že lékař bude požadovat vyšetření ELFO/IFE dodatečně, příručka uvádí, že séra se skladují 5–7 dní při teplotě 4–8 °C***. Tyto informace lze nalézt také v samostatné směrnici *Preanalytická fáze*, která mimo jiné uvádí, že vzorky se v případě delšího časového skladování uchovávají při teplotě -20 °C.

Vyšetření může být limitováno různými faktory, mezi které patří hemolýza, ikterita, a chylóza. Jednotlivé stupně těchto faktorů jsou měřeny analyzátorem. ***Příručka přímo zakazuje použití***

hemolytického séra k vyšetření ELFO/IFE bílkovin, a to kvůli tomu, že hemolýza zvyšuje alfa-2 a beta frakci. Stabilita je u vyšetření ELFO uváděna následovně:

- 1 den při 20–25 °C
- 1 týden při 2–8 °C
- 3 měsíce při -20 °C

V případě vyšetření IFE se teploty skladování a stabilita mírně liší. Je uvedena stabilita 7 dní při teplotě 4–8 °C a 1 měsíc při teplotě -20 °C. ELFO i IFE lze přiordinovat do 6 dnů od odběru. ***Laboratoř uvádí minimální odebrané množství krve pro analýzu ELFO/IFE 5 ml***, přičemž pro analýzu je v případě ELFO potřeba 100 µl a pro IFE 180 µl séra. Použití plazmy k analýze se nedoporučuje. Tyto informace spojené s vyšetřením paraproteinu obsahují také standardní postupy laboratorní (SPL) a to SPL-*Elektroforéza bílkovin séra* a SPL-*Imunofixační elektroforéza bílkovin*. Tyto postupy shrnují informace o daném vyšetření a popisují metodiky a procesy, které se používají k provedení tohoto vyšetření. Podrobné postupy těchto vyšetření lze nalézt v příloze C a D.

Dalšími informacemi, které jsou v příručce obsaženy jsou možné formy vydávání výsledků, kdy se jedná o ***vydávání výsledků písemnou, telefonickou a elektronickou poštou nebo předání výsledků přímo do rukou pacienta***. V případě vydání výsledků do rukou pacienta musí být splněny některé podmínky. V první řadě se provede zápis záznamu do knihy *Výdej výsledků*. V knize musí být uvedeno číslo CP (centrální příjem) žádanky, jméno a rok narození pacienta, datum výdeje výsledků a podpisy předávajícího a přebírajícího daný výsledek. Tento zápis je proveden předem, a to na základě požadavku uvedeného na žádance nebo po předchozí domluvě s pacientem o osobním vyzvednutí výsledků. ***Předání probíhá po předložení platného průkazu totožnosti nebo v případě vyzvednutí třetí osobou po předložení jeho průkazu totožnosti a předání vyplněného čestného prohlášení se souhlasem pacienta s přístupem do jeho zdravotnické dokumentace nebo na základě jeho plné moci***. Dále příručka popisuje formu výsledkových listů, kdy ***tento list musí obsahovat název laboratoře, která výsledek předala, typ laboratorního výsledku, datum a čas tisku, příjmení a jméno pacienta, identifikační číslo pacienta, oddělení a jméno lékaře požadujícího vyšetření, datum a čas odběru vzorku, datum a čas přijetí vzorku ke zpracování do OKB, identifikaci vyšetření (název vyšetření včetně biologického materiálu), výsledek vyšetření s užívanou jednotkou, biologické referenční meze vyjádřené číselně i graficky, datum a identifikační číslo vzorku, texty a poznámky k interpretaci výsledků, vyjádření ke kvalitě vzorku apod., identifikace osoby, která autorizovala uvolnění nálezu a razítko s podpisem osoby, která nález kontrolovala***. Výsledky

v papírové formě jsou ordinujícím lékařům předávány poštou nebo dopravní službou. V případě nemocnice si ***výsledky přebírají pracovníci příslušných oddělení na OKB v uzamčených a označených schránkách***. Tyto informace lze nalézt také v samostatné směrnici *Postanalytická fáze*. Ve směrnici *Postanalytická fáze* je také uvedeno, že pokud se analýzy neprovádí denně, což zahrnuje právě vyšetření ELFO/IFE, je výsledek vyšetření dostupný do týdne nebo po domluvě s ordinujícím lékařem.

Směrnice *Monitorování teploty v laboratoři OKB*

V této směrnici jsou uvedeny informace o monitorování teplot v laboratoři OKB, kdy některé chladící prostory jsou napojeny na monitorovací systém Mrazík, který nepřetržitě monitoruje v daných prostorech teplotu uskladnění zboží, reagencií a biologického materiálu. Pokud dojde k odchýlení od požadované teploty, vyhlásí systém alarm. V případně chladničky je uvedena odchylka při poklesu pod 1 °C nebo při vzestupu nad 11 °C po dobu delší než 10 minut. U mrazáku dojde k odchylce při vzestupu o 10 °C po dobu delší než 10 minut, přičemž v tomto případě nižší teplota nevadí. ***Monitorování teploty probíhá také při transportu vzorku do laboratoře, kdy v chladícím boxu je teploměr, který laborantka při přijmu vzorků odečte a zapíše teplotu do příslušného formuláře***. Za kontrolu a monitorování chladniček a mrazících boxů odpovídají analytici OKB nebo v případě služby, sloužící laborant.

Směrnice *Neshodná práce, nápravná a preventivní opatření*

Tento interní dokument popisuje způsob identifikace neshodné práce a jejího nápravného a preventivního opatření v návaznosti na normu ČSN EN ISO 15189:2013 a směrnici *Nežádoucí události.* Jsou zde uvedeny postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky. V případě nesrovnalostí na žádance (špatná identifikace pacienta, chybějící údaje o zdravotnickém zařízení) či materiálu se obojí vrátí na oddělení nebo odesílajícímu lékaři, případně úseková laborantka zajistí nápravu telefonicky. ***Jestliže je dodán do laboratoře materiál neodpovídající kvality nebo nejsou splněny požadavky OKB pro odběr primárního vzorku, laboratoř vzorek nezpracovává. Za neodpovídající kvalitu materiálu se např. považuje, když je malé množství vzorku nebo je vzorek sražený.*** Dalším možným pochybení je nedodržení stability biologického materiálu.

Směrnice *Laboratorní informační systém OKB*

Tato směrnice udává veškeré informace o funkcích a využití LIS. V rámci využití LIS v postanalytické fázi při přenosu výsledků, jde zde uvedeno, že pokud se ***výsledky vyšetření***

nepřenáší přímo z analyzátoru do LIS, je třeba ho zadat ručně. Toto se týká především vyšetření ELFO/IFE, kdy ***analyzátor neumí sám vyhodnotit vyšetření a přenést ho do LIS***. Po zadání výsledků do systému následuje potvrzení laborantkou. Každý výsledek je před vydáním lékaři nebo pacientovi podroben výstupní kontrole. ***Výstupní kontrola je dvoustupňová, kdy první kontrola je laborantkou na daném úseku a druhá je autorizací VŠ pracovníkem.*** Výsledky ELFO/IFE se vydávají ve dvou výsledcích. Jeden je vydáván v klasické formě jako všechny ostatní výsledky a je dostupný ve všech formách (papírová, elektronická…), druhý výsledek je ze systému Phoresis, kde dochází k vyhodnocení ELFO/IFE a na výsledku je mimo jiné i grafické znázornění ELFO/IFE. Tento výsledek se vydává pouze v tištěné formě. ***Všechny tištěné výsledky vydávané v papírové formě jsou orazítkované a podepsané VŠ pracovníkem***. Dále je v tomto dokumentu uvedeno, že pokud se vyskytne chyba v analýze nebo při přenosu výsledků do počítačového informačního systému a výsledek je již vydán, laborantka je povinna informovat vedení laboratoře a následně se postupuje podle směrnice *Neshodná práce, nápravná a preventivní opatření.* ***Tištěné výsledky jsou laboratoří tříděni dle příslušných oddělení a lékařů a následně ukládány do uzamykatelných skříněk jednotlivých oddělení***. ***V případě lékařů mimo nemocnici jsou výsledky rozváženy dopravní službou nebo posílány Českou poštou***. ***Program LIS je pravidelně upgradován a v rámci validace je software před každou instalací nové verze testován. Při každé nově nainstalované verzi LIS se také kontroluje přenos dat z LIS do NIS***.

Směrnice *Zabezpečení a řízení datových záznamů*

V případě používání elektronických souboru, jsou v rámci prevence před případnou ztrátou data zálohována, a to hned několika způsoby. ***Mezi základní opatření se řadí záloha dat na diskové pole***. Samotný server je poté samostatně umístěn v jiné budově. Přístup do LIS určuje vedoucí úseku LIS ve spolupráci s vedením OKB dle pravomocí pracovníka. Daný pracovník má po přihlášení do LIS možnost provádět pouze operace dle jeho pravomocí. Každý krok daného pracovníka je ukládán do záznamů a dá se kdykoliv dohledat.

Standardní postup technický (SPT) *Hydrasys 2 Scan*

Tento dokument popisuje základní potřebné informace o analyzátoru Hydrasys 2 Scan. Analyzátor slouží k vyšetření ELFO a IFE. Je zde popsána údržba přístroje, ***kdy probíhá buď'to každý týden, a to promytím pomocí promývacího roztoku, anebo po každé provedené migraci, kdy se navlhčeným hadříkem v destilované vodě otírají elektrody a plocha migrace a následně se vylije odpadní láhev. Promývací roztok se připraví smícháním lahvičky Hydrasys Wash***

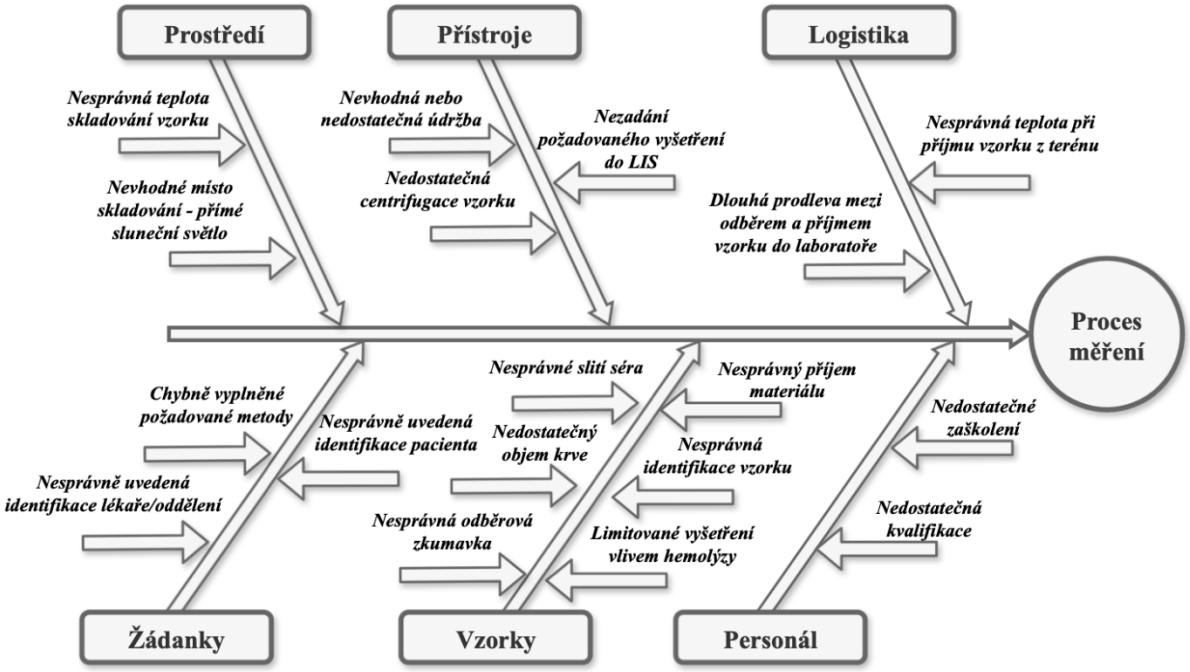
Solution s 5 l destilované vody. Podrobný postup ELFO lze nalézt v příloze C a postup IFE v příloze D. Je zde také uvedena ***příprava vlhké komory, kdy se k 90 µl roztoku Clean protect přidá 250 µl deionizované vody a dobře se vše promíchá. Následně se nanese 30 ml zředěného roztoku Clean protect na houbičku zvlhčovače komory.***

SPT *Centrifuga Megafuge ST1 R Plus*

Tento standardní technický postup obsahuje informace o použití a údržbě centrifugy Megafuge ST1 R Plus. Tyto centrifugy jsou v laboratoři 2. Pro účely této práce je důležitá popisovaná ***údržba, která se provádí denně. Teplou vodou smíchanou se saponátem se omyje rotor a vnitřní prostory centrifugy***. ***Následně jsou komponenty opláchnuty vodou a osušeny. Dále se musí provádět měsíční údržba, která zahrnuje očištění čepů na rotoru s jejich následným namazáním malým množstvím silikonové vazelíny. Krevní vzorky pro vyšetření ELFO/IFE se stáčejí v centrifuze po dobu 5 minut při 3500 otáček/min.***

5.1.1 Identifikace rizik v preanalytické fázi laboratorního procesu

11. září 2023 byla provedena identifikace rizik v laboratorní části preanalytické fáze laboratorního vyšetření spojené s analýzou paraproteinu v séru. Identifikace potencionálních rizik probíhala od úseku příjmu až po úsek před samotnou analýzu vzorku. Ishikawa diagram, zobrazující potencionální rizika v preanalytické fázi, je prezentován na obrázku č. 8.



Obrázek 8 – Ishikawa diagram v preanalytické fázi laboratorního vyšetření (vlastní zpracování)

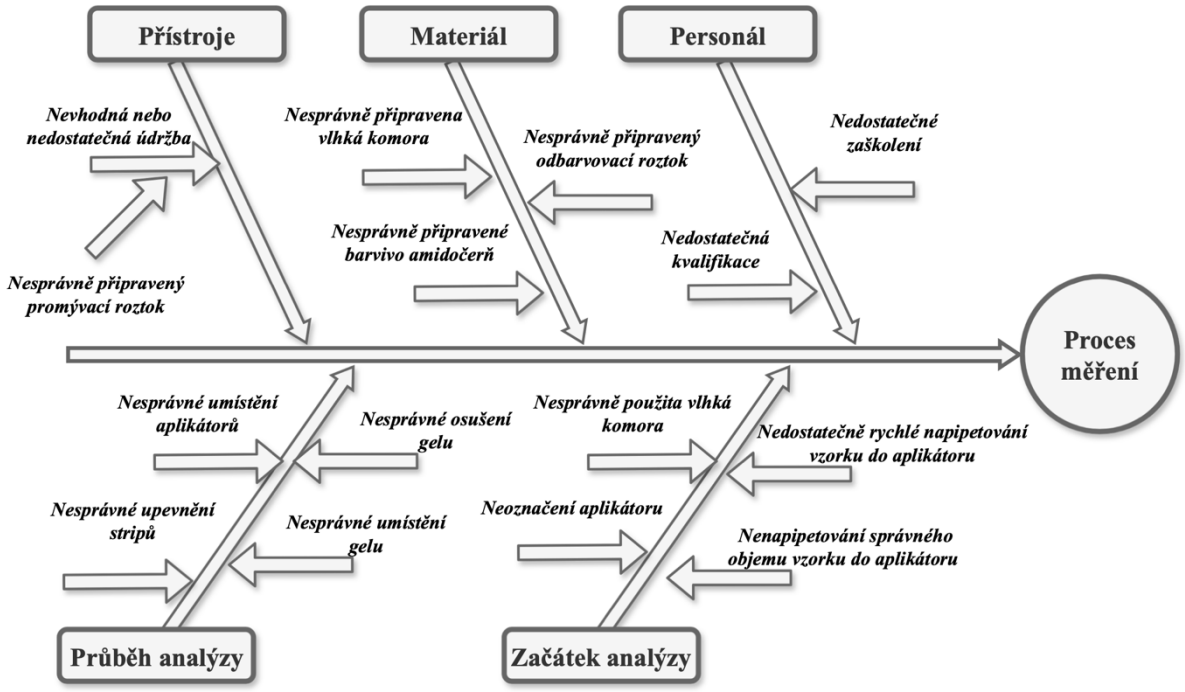
V rámci této části výzkumu byly identifikovány hlavní oblasti rizik v preanalytické fázi, zahrnující logistiku, žádanky, vzorky, personál, prostředí a přístroje. Logistická oblast se zaměřila na kontrolu intervalu mezi odběrem vzorku a jeho přijetím do laboratoře. Velké časové rozmezí, kdy nedojde k oddělení krvinek od séra, může mít posléze vliv na ovlivnění výsledků v analytické fázi laboratorního procesu. Toto riziko vyplývá z dokumentace *Laboratorní příručky OKB* a směrnice *Preanalytická fáze*, kdy krev má být nejpozději do 2 hodin od odběru zcentrifugována. Další možným rizikem je nedodržení teploty při transportu vzorků z terénu. Toto riziko vyplývá ze stejných interních dokumentů jako čas transportu, přičemž je uváděna teplota 2–8 °C. Na žádankách je důležitá identifikace pacienta, razítko a podpis lékaře a také řádné zaškrtnutí metod. Po řádné kontrole žádanky dochází ke spojení s příslušnou krví pacienta, která musí mít správnou identifikaci a případně při různých vyšetření vyžadující jiné zkumavky s jinými činidly také správně nabrané odběrové zkumavky. Tato rizika vyplývají z *Laboratorní příručky* a ze směrnice *Neshodná práce, nápravná a preventivní opatření.* Dále jak již bylo zmíněno, se krev musí stočit v centrifuze, aby se získalo sérum k analýze. Samotná centrifugační jednotka může přinést také řadu rizik, která mohou ovlivnit vyšetření. Tento přístroj musí mít pravidelnou a správnou údržbu, která vyplývá ze SPT-*Centrifuga Megafuge ST1 R Plus*. Údržba je denní a měsíční. Z tohoto dokumentu dále vyplývá čas a počet otáček při stáčení krve, kdy je stanoven čas 5 min při 3500 otáček/min. Po stočení krve, lze posoudit další faktory jako je vzhled séra – hemolýza, ikterita a chylóza. Tyto faktory popisuje *Laboratorní příručka* a SPL-*Elektroforéza bílkovin séra* a SPL-*Imunofixační elektroforéza bílkovin,* které udávají že homolytické sérum se k vyšetření paraproteinu nepoužívá.

V případě analýzy paraproteinu, kdy se metoda elektroforézy ve zkoumané laboratoři provádí až po shromáždění 29 vzorků, hraje klíčovou roli teplota při skladování tohoto vzorku. Laboratorní příručka uvádí skladování vzorku mimo přímé sluneční světlo při teplotě 4–8 °C. Následné monitorování teploty chladniček popisuje směrnice *Monitorování teploty v laboratoři OKB.* Preanalytickou fázi laboratorního procesu zajišťuje zdravotní laborantka s odbornou způsobilostí podle zákona č. 96/2004 Sb., o nelékařských zdravotnických povolání (Česko, 2004). Příjem vzorku zajišťuje sanitářka. Činnosti zdravotních laborantů a sanitářů vyplývají z vyhlášky č. 55/2011 Sb., o činnostech zdravotnických pracovníků (Česko, 2011).

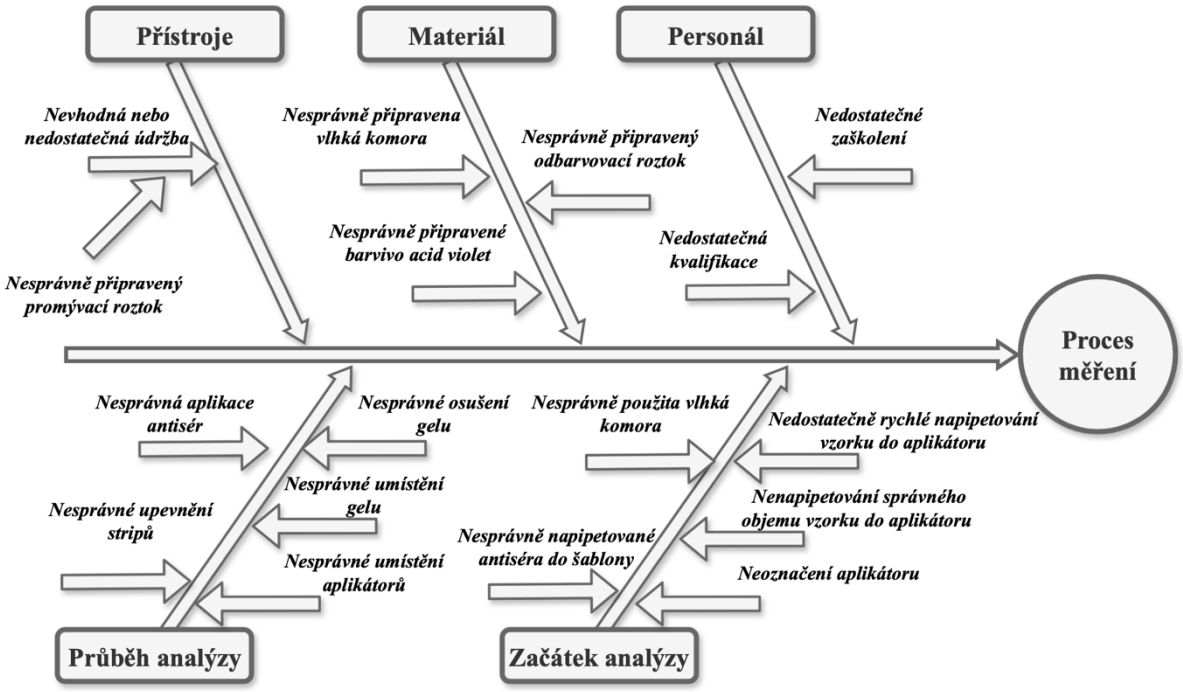
5.1.2 Identifikace rizik v analytické fázi laboratorního procesu

Analytická fáze je velmi důležitá z hlediska ovlivnění výsledků. V laboratoři, kde probíhal výzkum je elektroforéza jedna z mála vyšetření, která je z velké části závislá na lidské činnosti, konkrétně na manuální práci personálu. Tato závislost na lidské činnosti zvyšuje

pravděpodobnost chyb, což může významně ovlivnit přesnost analýzy. Tato část výzkumu byla konkrétně provedena 12. září 2023 na úseku analýzy bílkovin autorkou této práce. Následně byla identifikovaná rizika prodiskutována s manažerkou kvality ve vybrané laboratoři. Pro identifikaci potencionálních rizik při provádění elektroforézy a imunoelektroforézy byly vytvořeny Ishikawa diagramy potencionálních rizik. Na obrázku č. 9 je zachycen Ishikawa diagram elektroforézy, zatímco na obrázku č. 10 je zobrazen diagram rybí kosti imunoelektroforézy.



Obrázek 9 – Ishikawa diagram analytické fáze elektroforézy (vlastní zpracování)



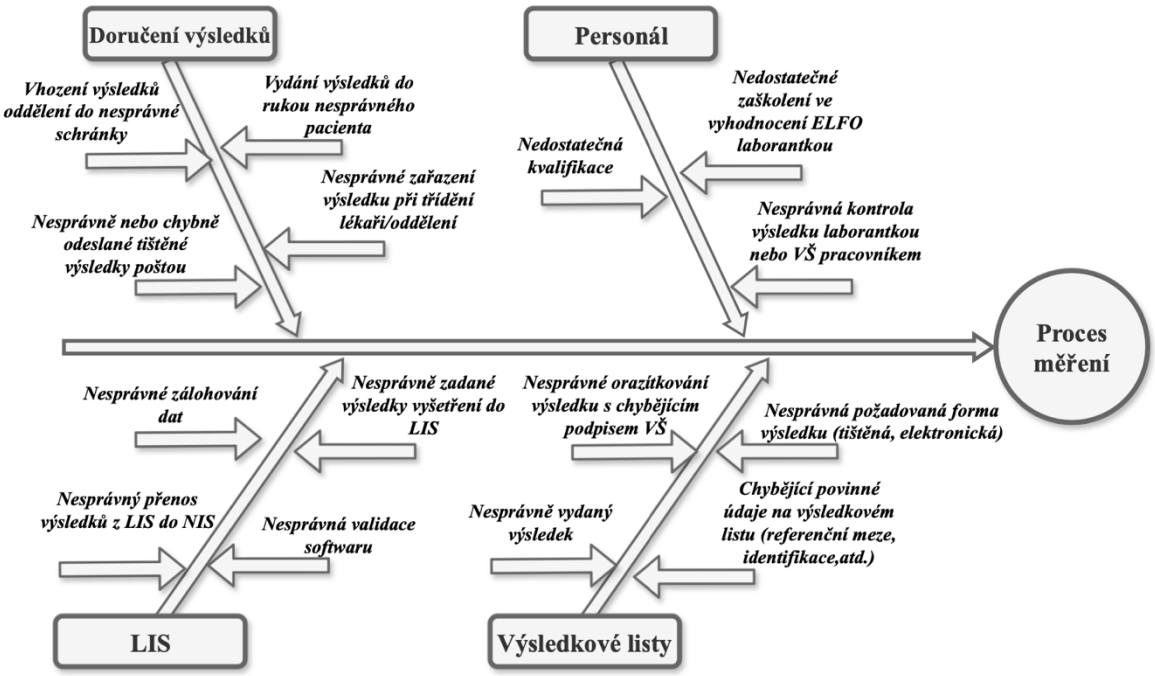
Obrázek 10 – Ishikawa diagram analytické fáze imunoelektroforézy (vlastní zpracování)

V analytické fázi laboratorního vyšetření byla identifikována rizika na začátku a v průběhu analýzy, v rámci přístrojů, materiálů a personálu. V této fázi vyšetření paraproteinu je velmi důležitá zručnost, přesnost a schopnost správného pipetování. Pokud dojde k selhání některé z těchto schopnosti, může dojít k ovlivnění výsledku. Údržba analyzátoru se musí provádět dle SPT-*Hydrasys 2 Scan* každý týden nebo po každé provedené migraci. Příprava veškerého materiálu a reagencií pro analýzu vyplývá z SPL-*Elektroforéza bílkovin v séru* a SPL-*imunoelektroforéza bílkovin v séru*, které popisují mimo jiné postupy analýzy (viz příloha C a D). Spotřební materiál musí být v nezávadném stavu a roztoky, včetně barviva dobře namíchaná ve správném poměru a s platnou expirací. Toto vyšetření může provádět zdravotní laborantka s odbornou způsobilostí podle zákona č. 96/2004 Sb., o nelékařských zdravotnických povolání (Česko, 2004).

Jak lze vidět z obrázku č. 9 a č. 10, nalezená rizika jsou v oblastech personálu, přístrojů a materiálu stejná, jak při analýze paraproteinu vyšetřením ELFO, tak i IFE. Rozdíl je dán na začátku a v průběhu samotné analýzy, kdy dochází k trochu jinému postupu a v případě IFE se aplikují antiséra. Dalším rozdílem je používané barvivo, kdy při ELFO vyšetření se používá amidočerň barvivo a při IFE barvivo acid violet.

5.1.3 Identifikace rizik v postanalytické fázi laboratorního procesu

Identifikace rizik v postanalytické fázi laboratorního procesu analýzy paraproteinu byla provedena dne 13. září 2023. Postanalytická fáze je poslední bodem laboratorního vyšetření, kde se může vyskytnout chyba, která ovlivní výsledek vyšetření. Identifikovaná rizika stanoveného následku v postanalytické fázi lze vidět na obrázku č. 11.



Obrázek 11 – Ishikawa diagram postanalytické fáze ELFO/IFE (vlastní zpracování)

V postanalytické fázi laboratorního vyšetření ELFO/IFE byla identifikována rizika v oblastech výsledkových listů, doručení výsledku, personálu a LIS. Správné formy výsledkových listů s nezbytnými údaji popisuje *Laboratorní příručka OKB* nebo také samostatná směrnice *Postanalytická fáze*. Výsledky jsou vydávány standardně v elektronické i papírové podobě a obě formy by měli obsahovat referenční meze, výsledky vyšetření a identifikaci pacienta, oddělení a lékaře požadujícího vyšetření. Lékař může požádat o zasílání pouze preferované formy výsledku. V důsledku nečitelnosti výsledků, může dojít k nesprávné interpretaci nebo k předem chybné kontrole. V rámci vyhodnocení výsledků ELFO musí být v daném procesu laborantka dostatečně zaškolena. To samé platí pro VŠ (vysokoškolského) pracovníka, který musí být zaškolen ve vyhodnocování ELFO/IFE. Toto zaškolení vyplývá z adaptačního plánu oddělení. VŠ pracovníkem se rozumí odborný pracovník v laboratorních metodách a v přípravě

léčivých přípravků s odbornou způsobilostí podle zákona č. 96/2004 Sb., o nelékařských zdravotnických povolání (Česko, 2004). Výsledky hotové k vydání musí obsahovat razítko laboratoře a podpis pověřené osoby. Rizikem je v případě osobního vyzvednutí výsledku pacientem nedodržení postupu ověření totožnosti a vydání výsledku nesprávnému nebo nezmocněnému člověku. V případě třídění výsledku daným lékařům a oddělení může vlivem nepozornosti dojít k nesprávnému zařazení. Dále může opět vlivem nepozornosti dojít k vhození výsledků oddělení do nesprávné schránky. Tato rizika vyplývají ze směrnice *Laboratorní informační systém OKB* a *Laboratorní příručky OKB***.** V rámci systému LIS může dojít také k několika rizikům, jedná se např. o špatně zadané výsledky vyšetření do LIS laborantkou, nesprávné validaci softwaru před instalováním nové verze, nesprávná záloha dat na diskové pole nebo také nesprávný nebo špatný přenos výsledku z LIS do NIS (nemocniční informační systém). Toto je dáno směrnicemi *Zabezpečení a řízení datových záznamů* a *Laboratorní informační systém OKB.*

5.2 Identifikace dalších potencionálních rizik

Během identifikace rizik ve všech fázích laboratorního procesu bylo zjištěno několik dalších potencionálních rizik, a to na základě rozhovoru s odborníky týmu a pozorováním laboratorního procesu. Zkušenosti týmu odborníku výrazně napomohli identifikaci dalších rizik, mimo těch identifikovaných na základě analýzy interních dokumentů. V rámci týmu proběhla nejprve diskuse, která byla dále rozšířena pomocí brainstormingu.

Během brainstormingu bylo každé identifikované riziko detailně prodiskutováno. Zúčastnění členové týmu sdíleli své názory, zkušenosti a nápady na možná řešení. Tento kreativní proces umožnil otevřenou výměnu názorů a vyjasnění detailů každého rizika. Byla identifikována následující rizika:

- ***Nedodání biologického materiálu (krve) do laboratoře,***
- ***Nesprávné pořadí vzorků ve stojánku připraveného pro analýzu*** – před analýzou vzorků má laboratoř zaveden postup seřazení vzorků pro analýzu do dvou stojánků, přičemž každý stojánek obsahuje 15 vzorků. Vzorky do stojánků dávají pracovníci rutinního úseku nebo poté pracovníci úseku analýzy bílkovin. Úkolem laborantky na úseku analýzy bílkovin je si před samotnou analýzou zkontrolovat pořadí vzorků ve stojánku. Ke vzorku je vždy na úsek dodána také žádanka s požadovaným vyšetřením ELFO/IFE. Údaje ze žádanek jsou poté laborantkou zadány do seznamu pacientů programu Phoresis. Pořadí vzorků musí tudíž souhlasit s pořadím žádanek.

- ***Nepoužití ochranných pomůcek,***
- ***Nedostatek reagencií pro analýzu,***
- ***Neodhalená porucha analyzátoru,***
- ***Nesprávně naředěné vzorky pro IFE,***
- ***Nesprávné vyhodnocení ELFO/IFE VŠ pracovníkem,***
- ***Potvrzení chybného výsledku,***
- ***Nedostatečné manuální schopnosti, přesnost a správnost pipetování.***

6 DRUHÁ FÁZE VÝZKUMU – ZHODNOCENÍ RIZIK

Potencionální rizika, která byla identifikována v první fázi výzkumu na podzim roku 2023 autorkou této práce, týmem odborníku a konzultována s manažerkou kvality vybrané laboratoře, byla následně při dalším brainstormingu mírně poupravena a všechna následně ve druhé fázi podrobena zhodnocení. Hodnocení rizik bylo provedeno pomocí FMEA metody.

Týmem byly sestaveny hodnotící škály v rozmezí 1–5 pro všechny 3 oblasti zhodnocení – závažnosti následků – severity (S) (viz tabulka 1), očekávaného výskytu – occurence (S) (viz tabulka 2) a pravděpodobnosti detekce rizika – detection (D) (viz tabulka 3). Hodnota 1 označuje tu nejmenší možnou hodnotu, která se vyskytuje zřídka a nemá skoro žádný dopad na zdraví pacienta a hodnota 5 vyjadřuje tu nejvyšší možnou hrozbu, kdy v případě jejího vzniku, to může mít za následek smrt pacienta. Součin 3 hodnot dává hodnotu RPN (risk priority number), neboli číslo priority rizika, které je definováno následovně:

RPN=závažnost následků (S) x pravděpodobnost výskytu (O) x pravděpodobnost detekce (D)

Celkový součin hodnot dává RPN 125. Týmem byla následně zvolena i hodnotící škála míry rizik (viz tabulka 4), kdy se vzalo v úvahu, že proces vyšetření analýzy paraproteinu v séru metodou ELFO a IFE je rutinní vyšetření, které bezprostředně při jeho neprovedení nemá za následek smrt pacienta. Z tohoto důvodu je velké rozmezí mezi vysokým a extrémním rizikem.

Jednotlivé Ishikawa diagramy, graficky zobrazující identifikovaná rizika v první fázi výzkumu, mají své vlastní FMEA tabulky. Tyto tabulky zhodnocují rizika v jednotlivých fázích laboratorního procesu. Konkrétně Ishikawa diagram preanalytické fáze koresponduje s tabulkou č. 5, Ishikawa diagramy analytické fáze s tabulkou č. 6 a Ishikawa diagram postanalytické fáze s tabulkou č. 7.

Tabulka 1 – Hodnocení míry závažnosti následků – S (převzato a upraveno dle Červenková, Hlaváčková a Hodačová, 2018)

Hodnota	Úroveň závažnosti	Hodnocení
1	Zanedbatelná	Potencionální zhoršení péče o pacienta, k poškození pacienta však nedojde.
2	Nízká	Potencionální dopad na zdraví pacienta z hlediska jeho komfortu.
3	Střední	Ohrožení zdraví pacienta s nutností zakročení zdravotnického personálu.
4	Vysoká	Výrazné ohrožení pacienta, může dojít k porušení základních životních funkcí.
5	Extrémní	Pacient je přímo ohrožen na životě, smrt pacienta.

Tabulka 2 – Hodnocení míry pravděpodobnosti výskytu rizika – O (převzato a upraveno dle Šupšáková, 2017)

Hodnota	Škála pravděpodobnosti výskytu	Frekvence
1	Prakticky nepravděpodobné	<0–5> případů za rok
2	Méně pravděpodobné	<5–20> případů za rok
3	Možné	<20–50> případů za rok
4	Pravděpodobné	<50–70> případů za rok
5	Velmi časté/jisté	<70–100> případů za rok

Tabulka 3 – Hodnocení míry pravděpodobnosti detekce rizika – D (převzato a upraveno dle Červenková, Hlaváčková a Hodačová, 2018)

Hodnota	Pravděpodobnost detekce	Hodnocení
1	Vysoká	Chyba odhalitelná kdykoliv.
2	Uspokojivá	Chyba odhalitelná ve všech krocích procesu.
3	Střední	Chyba odhalitelná pouze v některém kroku procesu.
4	Malá	Chyba odhalitelná po ukončení procesu.
5	Velmi nízká	Předem nezjistitelná chyba.

Tabulka 4 – Hodnocení míry rizika (vlastní zpracování v týmu)

Míra rizika	
Hodnocení	*Počet bodů RPN*
Nízké riziko	1–6
Střední riziko	7–22
Vysoké riziko	23–65
Extrémní riziko	66–125

Tabulka 5 – FMEA preanalytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru metodou ELFO/IFE (vlastní zpracování v týmu)

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Centrální příjem v laboratoři	R1	Zdržení transportu vzorku – dlouhá doba mezi odběrem vzorku a příjmem do laboratoře	Ovlivnění výsledku, znehodnocení vzorku, poškození pacienta vlivem včasně nevyšetřeného vzorku	Vizuální kontrola času odběru a příjmu pracovníkem při příjmu vzorku	3	3	2	**18**	Střední riziko
	R2	Nesprávná transportní teplota	Ovlivnění výsledku, znehodnocení vzorku	Teploměr v chladicím boxu – vizuální kontrola pracovníkem, zápis do evidence teploty přepravy	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R3	Nedodání biologického materiálu – krve	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola pracovníkem příjmu	3	2	1	**6**	Nízké riziko
	R4	Nedodání žádanky s požadovanými metodami	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola pracovníkem příjmu	3	2	1	**6**	Nízké riziko
	R5	Nesprávný příjem materiálu (špatné propojení vzorku se žádankou)	Znehodnocení vzorku, neprovedení vyšetření, záměna pacienta	Vizuální kontrola pracovníkem příjmu	4	2	3	**24**	Vysoké riziko
	R6	Vzorek dodán ve špatné odběrové zkumavce	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola pracovníkem příjmu	3	3	1	**9**	Střední riziko
Identifikace vzorku a žádanky	R7	Chybně nebo neúplně vyplněná žádanka (požadované metody, identifikace pacienta, lékaře	Zdržení vyšetření, neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola pracovníkem příjmu	2	4	1	**8**	Střední riziko
	R8	Vzorek s neúplnou nebo špatnou identifikací	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola pracovníkem příjmu	3	3	1	**9**	Střední riziko
Centrální počítač	R9	Nezadání požadovaného vyšetření do LIS	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola druhou laborantkou	3	3	3	**27**	Vysoké riziko

Tabulka 5 – Pokračování

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Centrální počítač	R10	Špatné zadání identifikačních informací (pacient, lékař) z žádanky do LIS	Ovlivnění vyšetření, záměna pacienta, lékař neobdrží výsledky	Vizuální kontrola druhou laborantkou	4	2	3	**27**	Vysoké riziko
Úprava vzorku před analýzou	R11	Nefunkční centrifuga vlivem poruchy nebo nesprávné údržby	Nestočení krve – neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola laborantkou, správa VŠ pracovníkem, údržba pracovníkem úklidu	1	1	2	**2**	Nízké riziko
	R12	Nedodržení správného času centrifugace a počtu otáček	Nedostatečné stočení krve	Vizuální kontrola nastaveného času a počtu otáček centrifugace laborantkou	1	2	3	**6**	Nízké riziko
	R13	Nesprávné slití séra z primární zkumavky do zkumavky určené pro analýzu	Záměna pacienta, ovlivnění výsledku, neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola laborantkou při slévání séra – shoda čísel na primární zkumavce a zkumavce pro analýzu	4	2	3	**24**	Vysoké riziko
Limitace vyšetření	R14	Krev nevhodná k analýze – sraženo	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola laborantkou po centrifugaci vzorku	3	2	2	**12**	Střední riziko
	R15	Nedostatečné množství séra pro analýzu	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola objemu pracovníkem příjmu	3	2	1	**6**	Nízké riziko
	R16	Krev nevhodná k analýze – hemolýza	Neprovedení vyšetření, ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou po centrifugaci vzorku, indexy v analyzátoru	3	3	1	**9**	Střední riziko
Skladování vzorku před analýzou	R17	Nesprávná teplota při skladování vzorku	Znehodnocení vzorku, ovlivnění výsledku	Monitorování systémem Mrazík, kontrola teploty na teploměru laborantkou	2	1	3	**6**	Nízké riziko
	R18	Nesprávné místo skladování (přítomnost slunečního světla)	Znehodnocení, kontaminace vzorku, neprovedení vyšetření, ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou	2	1	3	**6**	Nízké riziko

Tabulka 5 – Pokračování

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Personál	R19	Nedostatečné zaškolení pracovníků v činnostech preanalytické fáze	Možnost nesprávně provedeného výkonu, rozbití přístroje	Kontrola zaškolení vrchní laborantkou, dokončený adaptační proces	2	1	2	**4**	Nízké riziko
	R20	Nedostatečná kvalifikace k vykonávání činností	Možnost nesprávně provedeného výkonu, rozbití přístroje	Kontrola dosaženého vzdělání při přijmutí pacienta do pracovního týmu, kontrola činností jednotlivých pracovníků vrchní laborantkou	2	1	2	**4**	Nízké riziko

S (severity) = Míra závažnosti následků; O (occurence) = pravděpodobnost výskytu chyby; D (detection) = pravděpodobnost detekce chyby; RPN = risk priority number; LIS = Laboratorní informační systém; VŠ pracovník = Vysokoškolský pracovník – analytik (odborný pracovník v laboratorních metodách a přípravě léčivých přípravků)

Tabulka 6 – FMEA analytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru metodou ELFO/IFE (vlastní zpracování v týmu)

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Analyzátor	R21	Analyzátor mimo provoz (nedostatečná nebo nesprávná údržba)	Zdržení vyšetření	Vizuální kontrola laborantkou, kontrola záznamu o údržbě, dodržování pravidelné údržba	2	2	2	**8**	Střední riziko
	R22	Neodhalená porucha analyzátoru	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou, pravidelná kontrola kvality	3	1	5	**15**	Střední riziko
Začátek analýzy	R23	Nesprávně připravená vlhká komora	Špatná difundace sér na aplikátoru, ovlivnění výsledku	Neexistují kontrola	3	2	2	**12**	Střední riziko
	R24	Nesprávné pořadí vzorků ve stojánku připraveného pro analýzu	Záměna pacientů, ovlivnění výsledků	Vizuální kontrola laborantkou	4	2	4	**32**	Vysoké riziko
	R25	Neoznačené aplikátory	Záměna pacientů	Vizuální kontrola laborantkou	4	2	2	**16**	Střední riziko
	R26	Nesprávně napipetování objem vzorků na aplikátor	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola nastaveného objemu pipety, přesnost	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R27	Nedostatečně rychlé napipetování sér na aplikátor	Ovlivnění výsledku	Kontrola času pipetování laborantkou, rychlost	3	2	3	**18**	Střední riziko
Průběh analýzy ELFO/IFE	R28	Nepoužití ochranných pomůcek	Přenos infekce na pracovníka, poranění pracovníka, znehodnocení vzorku	Vizuální kontrola jiným pracovníkem	1	2	1	**2**	Nízké riziko
	R29	Nesprávně použitá vlhká komora – vložení aplikátorů	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou	3	1	3	**9**	Střední riziko
	R30	Nesprávné upevnění stripů	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R31	Nesprávné umístění gelu do analyzátoru	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou	3	1	2	**6**	Nízké riziko

Tabulka 6 – Pokračování

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Průběh analýzy ELFO/IFE	R32	Nedostatečné osušení gelu	Ovlivnění výsledku, nejasný záznam ELFO/IFE	Vizuální kontrola laborantkou	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R33	Nesprávné umístění aplikátorů do migrační masky	Ovlivnění výsledku, posun záznamů ELFO/IFE	Vizuální kontrola laborantkou	3	1	3	**9**	Střední riziko
	R34	Nesprávně napipetovaná antiséra do šablony	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou	3	1	3	**9**	Střední riziko
	R35	Nesprávná aplikace antisér	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou	3	2	2	**12**	Střední riziko
	R36	Nesprávně naředěné vzorky pro IFE	Ovlivnění výsledku	Neexistující kontrola	3	1	4	**12**	Střední riziko
Reagencie	R37	Nesprávně připravený odbarvovací/promývací roztok	Ovlivnění výsledku, neprovedení vyšetření, špatná údržba analyzátoru	Neexistující kontrola	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R38	Nesprávně připravené barvivo amidočerň/ acid violet	Ovlivnění výsledku	Neexistující kontrola	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R39	Proexpirované reagencie barviv acid violet a amidočerň	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou, VŠ pracovníkem	3	1	4	**12**	Střední riziko
	R40	Nedostatek reagencií	Neprovedení vyšetření	Vizuální kontrola zásob VŠ pracovníkem	3	2	2	**12**	Střední riziko

Tabulka 6 – Pokračování

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Personál	R41	Nedostatečné zaškolení pracovníků v činnostech analytické fáze	Možnost nesprávně provedeného výkonu, rozbití přístroje	Kontrola zaškolení vrchní laborantkou, dokončený adaptační proces	2	1	2	**4**	Nízké riziko
	R42	Nedostatečná kvalifikace k vykonávání činností	Možnost nesprávně provedeného výkonu, rozbití přístroje	Kontrola dosaženého vzdělání při přijetí zaměstnance do pracovního týmu	2	1	2	**4**	Nízké riziko

S (severity) = Míra závažnosti následků; O (occurence) = pravděpodobnost výskytu chyby; D (detection) = pravděpodobnost detekce chyby; RPN = risk priority number; ELFO = elektroforéza; IFE = imunoelektroforéza; LIS = Laboratorní informační systém; VŠ pracovník = Vysokoškolský pracovník – analytik (odborný pracovník v laboratorních metodách a přípravě léčivých přípravků)

Tabulka 7 – FMEA postanalytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru metodou ELFO/IFE (vlastní zpracování v týmu)

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Přenos výsledku	R43	Nesprávný přenos výsledků z analyzátoru do počítačového programu Phoresis pro vyhodnocení	Zdržení vyšetření, ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola přenosu a skenování záznamů laborantkou	2	1	2	**4**	Nízké riziko
Vyhodnocení ELFO/IFE	R44	Nesprávné vyhodnocení ELFA laborantkou	Ovlivnění výsledku	Vizuální kontrola laborantkou a VŠ* pracovníkem	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R45	Nesprávná kontrola ELFA VŠ* pracovníkem	Ovlivnění výsledku	Neexistující kontrola	3	1	4	**12**	Střední riziko
	R46	Nesprávné vyhodnocení IFE VŠ* pracovníkem	Ovlivnění výsledku	Neexistující kontrola	3	1	4	**12**	Střední riziko
Zadávaní výsledků do LIS	R47	Nesprávně manuálně zadané výsledky normálních nálezů ELFA do LIS laborantkou	Vydání nesprávného výsledku	Vizuální kontrola laborantkou a VŠ* pracovníkem	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R48	Nesprávně manuálně zadané výsledky abnormálních nálezů ELFO a IFE do LIS VŠ* pracovníkem	Vydání nesprávného výsledku	Vizuální kontrola VŠ* pracovníkem	3	2	4	**24**	Vysoké riziko
Potvrzení výsledku	R49	Potvrzení chybného výsledku	Vydání nesprávného výsledku	Vizuální kontrola VŠ* pracovníkem při podpisu	3	2	3	**18**	Střední riziko
	R50	Vydání nezkontrolovaného výsledku	Možné vydání nesprávného výsledku	Vizuální kontrola podpisu a razítka pracovníkem příjmu	2	2	4	**16**	Střední riziko
Výsledkové listy	R51	Nestandardní podoba elektronického výsledkového listu	Neúplný výsledkový list, nečitelný výsledek, omezená možnost interpretace	Vizuální zjištění na základě zpětné reklamace od lékaře	1	1	4	**4**	Nízké riziko

Tabulka 7 – Pokračování

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Výsledkové listy	R52	Nestandardní podoba tištěného výsledkového listu	Neúplný výsledkový list, nečitelný výsledek, omezená možnost interpretace	Vizuální zjištění na základě zpětné reklamace od lékaře	1	2	2	**4**	Nízké riziko
	R53	Výsledkový list s chybnými nebo žádnými referenčními mezemi	Vydání nekorektního výsledkového listu	Vizuální kontrola tištěných výsledků VŠ* pracovníkem, kontrola laborantkou na úseku centrálního počítače	1	1	3	**3**	Nízké riziko
	R54	Vydání výsledkového listu bez podpisu a razítka oprávněné osoby	Vydání nekorektního výsledkového listu	Vizuální kontrola tištěných výsledků VŠ* pracovníkem	1	2	4	**8**	Střední riziko
LIS	R55	Špatný nebo neúplný přenos výsledků z LIS do NIS	Neúplný výsledkový list, zdržení přenosu výsledků	Zpětná reklamace od lékaře, oddělení	2	2	4	**16**	Střední riziko
	R56	Nesprávné zálohování dat	Ztráta veškerých dokumentů pacienta	Kontrola pracovníkem IT	3	1	4	**12**	Střední riziko
	R57	Nesprávná validace softwaru	Špatná funkce LIS	Kontrola pracovníkem IT	2	1	2	**4**	Nízké riziko
Doručení výsledků	R58	Nesprávné zařazení výsledků při třídění lékaři/oddělení nemocnice	Oddělení/lékař dostane výsledek jiného pacienta, chybějící výsledek pacienta	Vizuální zjištění na základě zpětné reklamace od oddělení/lékaře	2	2	4	**16**	Střední riziko
	R59	Vhození výsledků oddělení nemocnice do nesprávné schránky	Oddělení dostane výsledek jiného pacienta, chybějící výsledek pacienta	Vizuální zjištění na základě zpětné reklamace od oddělení	2	2	4	**16**	Střední riziko
	R60	Vydání výsledků do rukou nesprávného pacienta	Porušení ochrany osobních údajů	Kontrola totožnosti, ověření plné moci	2	1	5	**10**	Střední riziko

Tabulka 7 – Pokračování

Oblast rizika	Označení rizika	Potencionální chyba	Možný následek	Stávající způsob kontroly	S	O	D	RPN	Míra rizika
Doručení výsledků	R61	Nesprávně nebo chybně odeslané tištěné výsledky poštou	Zdržení doručení výsledkového listu, lékař nezíská výsledky	Vizuální kontrola identifikace a obsahu obálky	2	3	4	**24**	Vysoké riziko

S (severity) = míra závažnosti následků; O (occurence) = pravděpodobnost výskytu chyby; D (detection) = pravděpodobnost detekce chyby; RPN = risk priority number; ELFO = elektroforéza; IFE = imunoelektroforéza; LIS = Laboratorní informační systém; NIS = Nemocniční informační systém; VŠ* pracovník = Vysokoškolský pracovník – analytik (odborný pracovník v laboratorních metodách a přípravě léčivých přípravků se specializovanou způsobilostí v oboru klinické biochemie) ; IT = informační technologie

7 SHRNUTÍ VÝSLEDKU FMEA A PRIORITIZACE RIZIK

V rámci výzkumné části diplomové práce byla použita metoda FMEA s cílem identifikovat a zhodnotit potencionální rizika spojená s analýzou paraproteinu v séru. Výzkum byl strukturován do dvou fází, přičemž první fáze se zaměřila na identifikaci rizik a druhá na jejich zhodnocení.

Během první fáze bylo celkem identifikováno 61 potencionálních rizik, z nichž 20 bylo v preanalytické fázi, 22 v analytické a 19 v postanalytické fázi. Ve druhé fázi byla z těchto rizik vyhodnocena 18 s nízkým, 36 se středním a 7 s vysokým stupněm rizika. Detailněji, v preanalytické fázi bylo identifikováno 9 nízkých, 7 středních a 4 vysoká rizika, v analytické fázi 4 nízká, 17 středních a 1 vysoké riziko, a v postanalytické fázi 5 nízkých, 12 středních a 2 vysoká rizika. Extrémní riziko nebylo nalezeno. Toto vyhodnocení probíhalo na základě vyhodnocení hodnot RPN. Celkově nejnižší riziko mělo hodnotu RPN 2 a nejvyšší riziko hodnotu 32. Celková hodnota RPN činila 125, což je výsledek součinu závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce rizik. Tým odborníků zdůraznil, že rozdíl mezi nejvyšší hodnotou stanoveného potencionálního rizika (32) a celkovou hodnotou RPN (125) je dán skutečností, že v případě nedokončení vyšetření nenastává bezprostřední riziko úmrtí pacienta. Dalším faktorem, podle týmu odborníků, je nastavení laboratorního procesu, kdy ve většině případů dochází k minimálnímu výskytu rizik. Všechna rizika byla systematicky uspořádána od nejnižšího do nejvyššího RPN, jak je zobrazeno v tabulce č. 8, kde jsou nízká rizika označena zeleně, střední oranžově a vysoká červeně.

Tabulka 8 – Přehled jednotlivých rizik v laboratorním procesu při analýze paraproteinu v séru dle jejich posloupnosti na základě hodnoty RPN (vlastní zpracování)

Pořadí	Riziko	RPN	Pořadí	Riziko	RPN	Pořadí	Riziko	RPN	Pořadí	Riziko	RPN
1.	R11	2	17.	R18	6	33.	R39	12	49.	R32	18
2.	R28	2	18.	R31	6	34.	R40	12	50.	R37	18
3.	R53	3	19.	R7	8	35.	R45	12	51.	R38	18
4.	R19	4	20.	R21	8	36.	R46	12	52.	R44	18
5.	R20	4	21.	R54	8	37.	R56	12	53.	R47	18
6.	R41	4	22.	R6	9	38.	R22	15	54.	R49	18
7.	R42	4	23.	R8	9	39.	R25	16	55.	R5	24
8.	R43	4	24.	R16	9	40.	R50	16	56.	R13	24
9.	R51	4	25.	R29	9	41.	R55	16	57.	R48	24
10.	R52	4	26.	R33	9	42.	R58	16	58.	R61	24
11.	R57	4	27.	R34	9	43.	R59	16	59.	R9	27
12.	R3	6	28.	R60	10	44.	R1	18	60.	R10	27
13.	R4	6	29.	R14	12	45.	R2	18	61.	R24	32
14.	R12	6	30.	R23	12	46.	R26	18			
15.	R15	6	31.	R35	12	47.	R27	18			
16.	R17	6	32.	R36	12	48.	R30	18			

RPN = Risk priority number

Výsledky FMEA byly dále prioritizovány také na základě matic rizik. První matice označovala třídu nebezpečí rizik a hodnotila rizika na základě jejich míry závažnosti a pravděpodobnosti výskytu (viz tabulka č. 9). Druhá matice míry rizik prioritizovala a vyhodnotila rizika z hlediska jejich míry závažnosti a pravděpodobnosti detekce (viz tabulka č. 10). Rizika byla hodnocena již jen ve třech oblastech, nikoliv ve čtyřech jako v případě FMEA. Důvodem byla absence extrémního rizika ve FMEA, tudíž se dále pracovalo pouze s riziky nízkými, středními a vysokými.

Tabulka 9 – Matice třídy nebezpečí rizik (vlastní zpracování)

Míra závažnosti (S)	Pravděpodobnost výskytu (O)				
	Prakticky nepravděpodobné (1)	Méně pravděpodobné (2)	Možné (3)	Pravděpodobné (4)	Velmi časté/jisté (5)
Extrémní (5)					
Vysoká (4)		R5, R10, R13, R24, R25			
Střední (3)	R22, R29, R31, R33, R34, R36, R39, R45, R46, R56	R2, R3, R4, R14, R15, R23, R26, R27, R30, R32, R37, R38, R40, R44, R47, R48, R49	R1, R6, R8, R9, R16, R35		
Nízká (2)	R17, R18, R19, R20, R41, R42, R43, R57, R60	R21, R50, R55, R58, R59	R61	R7	
Zanedbatelná (1)	R11, R51, R53	R12, R28, R52, R54			

Nízké riziko	Střední riziko	Vysoké riziko

Při prioritizaci rizik na základě jejich zařazení do matice třídy nebezpečí podle míry závažnosti a pravděpodobnosti výskytu byla zhodnocena rizika jako nízká a střední. Nebylo identifikováno žádné riziko s vysokou prioritou. Z tabulky č. 9 je patrné, že tento výsledek odpovídá nízkému výskytu rizik v dané laboratoři, kde pouze jedno riziko, a to R7, má pravděpodobný výskyt. Tento nízký výskyt rizik může být dán důkladnou kontrolou kvality a efektivním prováděním laboratorního procesu.

Tabulka 10 – Matice míry rizik (vlastní zpracování)

Míra závažnosti (S)	Pravděpodobnost detekce (D)				
	Vysoká (1)	Uspokojivá (2)	Střední (3)	Malá (4)	Velmi nízká (5)
Extrémní (5)					
Vysoká (4)		R25	R5, R10, R13	R24	
Střední (3)	R3, R4, R6, R8, R15, R16	R1, R14, R23, R31, R35, R40	R2, R9, R26, R27, R29, R30, R32, R33, R34, R37, R38, R44, R47, R49	R36, R39, R45, R46, R48, R56	R22
Nízká (2)	R7	R19, R20, R21, R41, R42, R43, R52, R57	R17, R18	R50, R55, R58, R59, R61	R60
Zanedbatelná (1)	R28	R11	R12, R53	R51, R54	

Nízké riziko	Střední riziko	Vysoké riziko

Po zařazení potencionálních rizik do matice míry rizik na základě jejich míry závažnosti a pravděpodobnosti detekce bylo vyhodnoceno 19 nízkých rizik, 30 středních rizik a 11 vysokých rizik. Vysoká rizika byla dána z velké části malou pravděpodobností detekce ve zkoumané laboratoři. Na tato vysoká rizika se doporučuje okamžitě zavést opatření, vedoucí k minimalizaci a odstranění těchto rizik.

Výsledky získané metodou FMEA na základě hodnot RPN představují komplexní pohled na identifikovaná rizika, který zohledňuje jejich závažnost, pravděpodobnost výskytu a pravděpodobnost detekce. Tyto hodnoty poskytují obecný obraz o prioritě jednotlivých rizik a umožňují určit, která jsou nejnaléhavější z hlediska jejich potencionálního dopadu a důležitosti pro laboratoř. Na druhé straně, matice třídy nebezpečí a míry rizik představují detailnější přístup k prioritizaci rizik. Tyto matice analyzují rizika podle různých kritérií a třídí je do kategorií podle míry jejich závažnosti a pravděpodobnosti výskytu nebo detekce. Výsledkem je konkrétní a strukturovaný pohled na rizika, která mohou být řešena postupně nebo s menší prioritou.

Veškeré výsledky v této práci jsou připraveny jako podklady po manažery kvality laboratoří klinické biochemie, kteří provádí vyšetření analýzy paraproteinu v séru metodami elektroforézou a imunoelektroforézou a chtějí lépe řídit rizika spojená s touto analýzou.

8 DISKUSE

Předložená diplomová práce se zabývá řízením rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie. Řízení rizik ve zdravotnickém prostředí je klíčovým aspektem zajištění bezpečnosti, spolehlivosti a kvality poskytované péče o pacienty. Toto mimo jiné uvádí i ve své diplomové práci Čefelínová (2018). Jayamani et al. (2022) říká, že řízení rizik je základní součástí systému managementu kvality lékařských laboratoří. S narůstajícím tlakem na zdravotnické systémy a rostoucí složitosti léčby se stává nezbytným krokem identifikovat a řídit potencionální rizika, která mohou ovlivnit výsledky léčby a bezpečnost pacientů.

Hlavním cílem výzkumné části práce bylo provést analýzu rizik při vyšetření paraproteinu v séru pomocí metody FMEA. Analýza příčin a důsledků (FMEA) je cenný nástroj, využívající se k preventivní identifikaci poruch systémů, který dokáže vyhodnotit její příčiny a důsledky, a tím zabránit jejich vzniku. Ve zdravotnictví se v posledních desetiletích tato metoda stává stále populárnější a uplatňuje se v mnoha různých oblastech (Liu et al., 2020). Šupšáková (2017) uvádí, že FMEA se používá především pro hodnocení nových procesů před jejich implementací, avšak Plura (2001) říká, že metodu lze použít i na zavedené procesy, jako v případě této diplomové práce, která analyzuje rizika již v zavedeném procesu laboratorního vyšetření elektroforézy a imunoelektroforézy, kterými se zjišťuje přítomnost paraproteinu v séru. Jak uvádí ve své diplomové práci Vimmerová (2022), elektroforéza bílkovin séra je určena především pro screening monoklonálních gamapatií a semikvantitativnímu stanovení paraproteinu. Tyto informace uvádí ve své disertační práci také Čermáková (2012). Horáková (2022) ve své diplomové práci mimo jiné uvádí, že je nutné definovat a vyhodnotit rizika dříve, než nastanou.

Na základě hlavního výzkumného cíle byly identifikovány dílčí výzkumné cíle. Prvním dílčím cílem bylo identifikovat hlavní potencionální rizika spojená s analýzou paraproteinu v séru. Druhým dílčím cílem bylo zhodnotit nalezená rizika z hlediska jejich míry závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce.

V první fázi výzkumu byla identifikována potencionální rizika spojená s analýzou paraproteinu v séru. Identifikace probíhala na základě analýzy interních dokumentů, brainstormingu, v rámci, kterého velkou roli hrály zkušenosti jednotlivých členů expertního týmu, a pozorování laboratorního procesu a postupu uvnitř vybrané laboratoře. Rizika byla identifikována ve všech fázích laboratorního procesu. Dle Jafri et al. (2022) se vyskytuje nejvíce chyb v preanalytické fázi, kde tato hodnota činí 70 % všech chyb laboratorní diagnostiky. Toto tvrzení potvrzuje také

Sonmez et al. (2020), který mimo jiné uvádí, že chyby v analytické fázi laboratorního procesu tvoří >10 % a v postanalytické fázi 18,5 až 47 %. Podle Jafri et al. (2022) došlo v posledních desetiletích ke snížení analytických chyb, avšak preanalytické stále zůstávají problémovou oblastí. V rámci této práce bylo identifikováno celkem 61 potencionálních rizik, přičemž 20 jich bylo v preanalytické fázi, 22 v analytické a 19 v postanalytické fázi. Tyto hodnoty se liší oproti těm, co uvádí Jafri et al. (2022) a Sonmez et al. (2020). Důvodem může být nezahrnutí mimolaboratorních aspektů v preanalytické fázi laboratorního vyšetření, kde dochází k nejčastějším chybám. Jafri et al. (2022) přímo uvádí, že mezi nejčastěji se vyskytující preanalytické chyby patří nedodržení pokynů, kdy se jedná např. o nedodržení správného hladovění, podávání léků nebo nedodržení doby odběru vzorku. Brodská et al. (2022) uvádí, že pacient by měl před odběrem 10–12 hodin lačnit, což v praxi, pokud pacient nepřijde na odběr hned ráno, je těžké dodržet. Jedním z poznávacích aspektů, kdy pacient nebyl na odběru nalačno je chylózní vzhled séra, což potvrzuje Brodská et al. (2022). Sonmez et al. (2020) uvádí, že nejčastější mimolaboratorní preanalytické chyby se vyskytují při přípravě pacienta nebo při odběru vzorku. Toto jsou mimolaboratorní aspekty, které nejsou zahrnuty v této práci, a to kvůli nemožnosti ovlivnění a kontroly těchto aspektů z pozice zdravotního laboranta. Tato práce se zabývá identifikací rizik od laboratorní části preanalytické fáze až po vydání výsledků v postanalytické fázi.

V první fázi byla identifikována rizika a následně ve druhé fázi zhodnocena, a to na základě výpočtu RPN, což je, jak uvádí Rah et al. (2016) součin tří indexů představujících závažnost, pravděpodobnost výskytu a pravděpodobnost detekce. Takto popisuje RPN také ve své práci Horáková (2020). Rah et al. (2016) dále také uvádí, že se jedná o kvantitativní klasifikaci rizik, aby bylo možné lépe stanovit priority nápravných a preventivních opatření.

Rizik v preanalytické fázi bylo vyhodnoceno pomocí FMEA hned několik. Jedná se například o riziko, kdy dojde ke zdržení transportu vzorku, přičemž laboratorní příručka v laboratoři, kde probíhal výzkum uvádí, že vzorek by měl být dopraven do laboratoře co nejdříve po odběru a zároveň by měla být dodržena doba mezi odběrem vzorku a její centrifugací, která činí maximálně 2 hodiny. Toto riziko zmiňuje také Jafri et al. (2022) a Brodská et al. (2022), která potvrzuje tvrzení, že by vzorek měl být co nejdříve dopraven do laboratoře. Dalším potencionálním rizikem je možná nesprávná teplota při transportu vzorku do laboratoře. Standardní teplota při transportu vzorku z terénu je v laboratoři uváděna 2–8 °C. Teplota během transportu je po přijetí chladícího boxu se vzorky do laboratoře pravidelně monitorována a zaznamenávána. Zima (2013) uvádí, že v případě okamžitého transportu vzorku do laboratoře

stačí pokojová teplota, avšak v případě delší vzdálenosti doporučuje teplotu 4 °C. Vysokým rizikem bylo dále identifikováno nesprávné propojení vzorku se žádankou. V dnešní době již většina laboratoří funguje na principu elektronických žádanek, kdy jim do laboratoře dorazí vzorek již se štítkem a číslem. Dalším rizikem je špatně uvedená identifikace pacienta nebo lékaře na žádance, což uvádí také Jafri et al. (2022) a Sonmez et al. (2020). Po spárování žádanky se vzorkem následuje zadání žádanky do laboratorního informačního systému (LIS). Zde existuje vysoké riziko lidských chyb při zadávání údajů do počítače, kdy může dojít i k záměně pořadí a tím pádem záměně pacienta. Jak již bylo zmíněno, některé laboratoře disponují elektronickými žádankami. V těchto případech se výrazně snižuje chybovost, protože údaje jsou ze žádanek automaticky načteny do počítačového systému. Další rizikovou oblastí je úprava vzorku před analýzou, kdy se na oddělení manuálně slévají séra z primárních zkumavek do sekundárních, které jsou určené pro analýzu. V těchto případech může dojít opět k záměně pacientů nebo ke znehodnocení vzorku, kdy v případě špatné manipulace se zkumavkou může být část séra vylita jinam. Jak uvádí Zemlin (2018), automatizované systémy, které jsou již implementovány v jiných laboratoří si sami dokáží centrifugovat zkumavky a séra si poté pipetují přímo z těchto zkumavek. Pro vyšetření paraproteinu v séru laboratoř uvádí požadující množství krve minimálně 5 ml, což je v souladu s doporučeným množstvím Brodské et al. (2022), která obecně uvádí 5–10 ml. V případě, že je sérum hemolytické, laboratoř zakazuje použití tohoto séra pro analýzu, a to kvůli zvýšení alfa-2 frakce a beta frakce. Toto zmiňuje i ve své disertační práci Vimmerová (2022), která dále uvádí, že může dojít i ke změně procentuálního rozložení frakcí.

V analytické fázi bylo nalezeno riziko v podobě nesprávného pořadí vzorků ve stojánku určeném pro analýzu. Toto riziko může nastat v případě nedbalé manipulace se vzorky nebo špatnému pořadí žádanek, které musí odpovídat pořadí vzorků ve stojánku. Toto riziko může způsobit záměnu pacientů nebo ovlivnění výsledků vyšetření. Dalším významný rizikem je přítomnost neoznačených aplikátorů. SPL-Elektroforéza bílkovin séra uvádí, že v případě použití jednoho aplikátoru pro 15 vzorků není potřeba aplikátor označovat, avšak v případě použití dvou aplikátoru už ano. Dalším důležitým aspektem je správné napipetování požadovaného objemu vzorků na aplikátory. Nesprávně napipetovaný objem může způsobit přetečení, nebo naopak nedostatečné množství může ovlivnit spolehlivost výsledků analýzy a může vést k chybným interpretacím. Standardní postup laboratorní uvádí pipetované množství v případě ELFO i IFE 10 µl. Toto množství uvádí také originální návod od firmy SEBIA (2020). Po napipetování vzorků na aplikátory následuje umístění těchto hřebenů do

vlhké komory, kdy SPL laboratoře i SEBIA (2020) uvádějí umístění zuby nahoru s následující difundací 5 minut. Pokud by byly aplikátory nesprávně umístěny, může dojít k nesprávné difundaci sér a ovlivnění výsledků. Nakonec je nutné zdůraznit možný nedostatek reagencií pro analýzu, který se řídí skladovým hospodářstvím laboratoře. Jak uvádí ve své diplomové práci Bednář (2014), skladové hospodářství je významnou součástí logistického systému, v níž je často vázán velký objem finančních prostředků. Skladování představuje důležitou část materiálového toku, pomocí níž je zabezpečena plynulost výroby (Bednář, 2014). V optimálních podmínkám by k nedostatku reagencií nemělo vůbec dojít.

V postanalytické fázi laboratorního vyšetření paraproteinu v séru byly jako jedno z nejzávažnějších rizik vyhodnoceny nesprávně manuálně zadané výsledky abnormálních nálezů ELFO a IFE do LIS VŠ pracovníkem. Toto riziko má za následek vydání nesprávného výsledku. Také nesprávně nebo chybně odeslané tištěné výsledky poštou mohou způsobit obtíže. Ordinující lékař nemusí obdržet výsledky vyšetření a tím může být ohroženo zdraví pacienta. Petráš (2010) ve své diplomové práci uvádí, že zdraví je optimální stav fungování lidského těla, jenž je třeba udržovat, případně napravit, pokud dojde k jeho poškození.

Rizika byla následně ještě zhodnocena na základě matic rizik. Jensen et al. (2022) definuje matice rizik jako nástroje používané k posuzování a hodnocení rizik. Oproti FMEA metodě matice rizik hodnotí rizika na základě dvou faktorů, nikoliv tří. Z tohoto pohledu je tedy jasné, že výsledky budou odlišné. V této práci byla použita matice třídy nebezpečí (viz tabulka č. 9), která zhodnotila a prioritizovala rizika na základě jejich míry závažnosti a pravděpodobnosti výskytu a dále matice míry rizika (viz tabulka č. 10), hodnotící na základě závažnosti a pravděpodobnosti detekce. Jak lze vidět z tabulky č. 9, ve vztahu závažnosti a pravděpodobnosti výskytu nebylo zhodnoceno žádné vysoké riziko. Důvodem je nejspíš malá pravděpodobnost výskytu těchto rizik v laboratoři. V případě matice rizik, která je zobrazena v tabulce č. 10 již vysoká rizika byla nalezena, a dokonce více než v případě FMEA metody na základě zhodnocení RPN. Důvodem je zde malá pravděpodobnost detekce u mnoha rizik. V tomto případě byla zhodnocena ještě další vysoká rizika oproti těm zhodnocených ve FMEA, mezi které patří neodhalená porucha analyzátoru, nesprávně naředěné vzorky pro analýzu IFE, proexpirované reagencie a nesprávně zálohovaná data. Toto je výčet pouze některých identifikovaných a zhodnocených rizik.

Před zhodnocením potencionálních rizik ve druhé fázi byla týmem odborníků sestavena hodnotící škála pro míru závažnosti v rozmezí hodnot 1–5. Každý tým si může vytvořit vlastní

hodnotící škálu, přičemž její rozsah může být libovolný. Například Žaludek (2020) ve své publikaci pracoval s hodnotící škálou v rozmezí 1–10, zatímco Horáková (2022) ve své diplomové práci využila škálu 1 až 5.

V této práci v rámci preanalytické fáze laboratorního vyšetření paraproteinu v séru byla vyhodnocena většina rizik s mírou závažnosti 3, což značí, že potencionální následek rizika může ohrozit pacienta a může být nutný zásah zdravotnického pracovníka. Stejný hodnocení pro míru závažnosti 3 si zvolila také Horáková (2022). Šupšáková (2017) uvádí, že v případě střední míry závažnosti (stupeň 3) je nutná léčba pacienta, je ovlivněno vnitřní prostředí organizace a riziko je spojeno s velkou finanční ztrátou. Dále byla vyhodnocena 2 rizika s mírou závažnosti 4 a to především kvůli velké pravděpodobnosti záměny pacienta. Jedná se o riziko v podobě špatného propojení žádanky se vzorkem pacienta a špatného slití séra z primární zkumavky do zkumavky sekundární určené pro analýzu. Zbytek identifikovaných rizik bylo vyhodnoceno stupněm závažnosti 1 nebo 2. Hodnota 5 nebyla využita. Stupeň 5 je již spojen s následkem smrti pacienta. Žaludek (2020) uvádí smrt pacienta v případě stupně 9. Hodnota 10 již označuje smrt pacienta a dalších osob (Žaludek, 2020). V analytické fázi byla stejně jako v preanalytické většina rizik vyhodnocena jako středně závažná. Vysoký stupeň, tedy hodnoty 4 dosáhli opět 2 rizika, přičemž se jednalo o nesprávné pořadí vzorků ve stojánku pro analýzu a neoznačení aplikátorů, což má za důsledek opět možnou záměnu pacientů. V postanalytické fázi byla závažnost rizik mírnější. Většina rizik byla vyhodnocena stupněm 1 nebo 2, maximálně 3.

V rámci hodnocení míry výskytu byla stejně jako v případě závažnosti sestavena hodnotící škála v rozmezí 1–5, přičemž stupeň 1 označuje riziko u kterého je výskyt prakticky nepravděpodobný, tedy 0–5 případů za rok a stupeň 5 značí riziko, které je velmi časté, tedy až 70–100 případů za rok. Stejný hodnotící systém uvádí také Šupšáková (2017). Výskyt identifikovaných rizik v jednotlivých fázích procesu nebyl příliš velký. Důvodem může být dobře nastavený proces nebo kontrola kvality. Nejvyšší stupeň výskytu byl identifikován u rizika, kdy je chybně nebo neúplně vyplněná laboratorní žádanka. Tím je myšleno, že je nesprávně uvedena např. identifikace pacienta, lékaře nebo nejsou zaškrtnuty požadované metody. V praxi se toto stává velmi často. Z tohoto důvod bylo toto riziko hodnoceno stupněm 4, který říká že riziko je velmi časté.

Detekce byla oproti výskytu mnohem výraznější a na horší úrovni. To lze vidět jak v tabulkách FMEA č. 5,6,7, tak i porovnáním matice třídy nebezpečí a matice míry rizik. V preanalytické

fázi byla většina rizik vyhodnocena stupněm detekce 1, posléze několik hodnotou 2 a maximální hodnota činila 3. Stupeň 4 a 5 nebyl detekován. Co se týká analytické fáze tam už byla detekce na horší úrovni a objevil se dokonce stupeň 5, kdy se jednalo o riziko v podobě neodhalené poruchy analyzátoru. Nejhorší detekce byla vyhodnocena v postanalytické fázi, kdy bylo mnoho rizik vyhodnoceno stupněm 4 a v případě chyby vydání výsledků do rukou nesprávného pacienta stupněm 5.

8.1 Limity práce

Tato diplomová práce se zabývá řízením rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie. Přestože práce poskytuje důležité poznatky o rizikových faktorech v laboratorní fázi analýzy, je důležité si uvědomit její limity, které ovlivňují rozsah a interpretaci dosažených výsledků.

Jedním z hlavních limitů této práce je fakt, že se nezabývá mimolaboratorními preanalytickými aspekty analýzy paraproteinu v séru. Jedná se například o poučení o správné životosprávě před odběrem a samotný odběr vzorku. Tento nedostatek vyplývá z nemožnosti kontroly a ovlivnění těchto aspektů z pozice zdravotní laborantky. Je tedy důležité si uvědomit, že závěry a doporučení se týkají pouze laboratorní fáze analýzy a nelze je jednoduše aplikovat na celý proces diagnostiky paraproteinových poruch.

Dalším omezením této práce je použití metody FMEA pro hodnocení rizik. Při aplikaci této metody je hodnocení založeno na zkušenostech a subjektivním posouzení jednotlivých členů týmů. To znamená, že hodnocení rizik může být ovlivněno individuálními perspektivami, znalostmi a předchozími zkušenostmi členů týmu. Jiný tým by mohl dospět k odlišným závěrům a prioritám rizik, což by mohlo vést k rozdílným doporučením pro řízení rizik.

8.2 Doporučení pro praxi

Výsledky této práce budou interpretovány laboratoři klinické biochemie, kde probíhal výzkum. Na základě provedené analýzy FMEA a vyhodnocení identifikovaných rizik v preanalytické, analytické a postanalytické fázi vyšetření paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie jsou navržena následující doporučení pro praxi. Tato doporučení mají za cíl minimalizovat rizika spojená s procesem vyšetření paraproteinu v séru, zlepšit kvalitu výsledků a zajistit maximální bezpečnost pacientů:

1. ***Školení a informační schůzky:*** Je doporučeno zavést pravidelná informační setkání s ordinujícími lékaři a NLZP (nelékařským zdravotnickým personálem), kde by byla

vysvětlena a zdůvodněna problematika správného vyplňování žádanek a zachování optimálních podmínek transportu vzorků.

2. ***Elektronizace žádanek:*** Navrhuje se kompletní elektronizace žádanek, aby každý požadavek byl podán elektronicky před odběrem vzorku. Lékař by měl generovat číslo vyšetření, pod kterým by byl vzorek zpracován, což minimalizuje riziko laboratoře nesprávného propojení vzorku a žádanky.
3. ***Automatizace přístrojů:*** Pro minimalizaci rizik spojených s úpravou vzorku se navrhuje automatizace analytických přístrojů, které by mohli sami centrifugovat primární zkumavky a odebírat vzorek přímo z nich. Doporučuje se automatický analyzátor Interlab G26 Easy Fix, který si sám dokáže napipetovat vzorky rovnou z primární zkumavky a analýzu provede sám bez pomoci lidské síly.
4. ***Elektronické výsledky:*** Doporučuje se zrušení tištěných výsledků a zavedení pouze elektronické formy, která by procházela trojitou kontrolou – laborantkou, analytikem a lékařem. Tištěné výsledky by byly vydávány pouze na požádání lékaře.
5. ***Hodnocení míry rizik:*** Doporučuje se řešit rizika v pořadí hodnocení míry rizik, jak uvádí například Šupšáková (2017):
    - Nízké riziko je přijatelné a není nutno nějak zasahovat,
    - Střední riziko může být sníženo méně náročnými opatřeními a pokud vyžaduje vyšší náročnost opatření, jedná se už o nepřijatelné riziko,
    - Vysoké riziko je dlouhodobě nepřípustné a musí být zahájeny systematické kroky k jeho odstranění.

Tato doporučení by měla být přizpůsobena specifickým potřebám a prostředí dané laboratoře klinické biochemie a pravidelně být revidována a aktualizována v souladu s nejnovějšími poznatky a technologiemi. Jejich implementace může přispět k minimalizaci rizik spojených s analytickými procesy a zlepšit celkovou kvalitu laboratorního procesu.

9 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala řízením rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie. Řízení rizik v laboratoři klinické biochemie je klíčový faktor pro zajištění přesných a spolehlivých výsledků testů, což přispívá k vyšší kvalitě péče o pacienty.

Práce byla rozdělena na část teoretickou a na část výzkumnou. Teoretická část je popsána ve třech kapitolách. První kapitola shrnuje základní informace o klinické biochemii a procesu laboratorního vyšetření. Laboratorní vyšetření se skládá ze tří fází, a to fáze preanalytické, analytické a postanalytické. Druhá kapitola teorie přibližuje problematiku vyšetření elektroforézy a imunoelektroforézy, které se využívají pro analýzu paraproteinu. Třetí a poslední kapitola teoretické části popisuje problematiku řízení rizik ve zdravotnickém zařízení obecně a následně také v laboratoři klinické biochemie.

Hlavním cílem výzkumné části práce bylo provést analýzu rizik spojenou s procesem analýzy paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie pomocí metody FMEA. FMEA může pomoci identifikovat možná selhání v procesu analýzy paraproteinu v séru a určit, jaká opatření je třeba přijmout pro minimalizaci rizik

Prvním cílem výzkumné části práce bylo identifikovat hlavní rizikové faktory spojené s procesem analýzy paraproteinu v séru. K identifikaci rizik byl použit nástroj Ishikawa diagram, také známý jako diagram příčin a následků nebo diagram rybí kosti. Identifikace rizik probíhala na základě analýzy interních dokumentů, pozorováním laboratorního procesu autorkou práce a dále praktickými zkušenostmi expertního týmu. Celkem bylo v laboratorním procesu vyšetření paraproteinu v séru identifikováno 61 potencionálních rizik. Z těchto rizik jich bylo identifikováno 20 v preanalytické fázi, 22 rizik v analytické fázi a 19 rizik v postanalytické fázi.

Druhým cílem bylo zhodnotit identifikovaná rizika. Rizika byla hodnocena na základě jejich závažnosti, pravděpodobnosti výskytu a pravděpodobnosti detekce. Celkem bylo dle hodnoty RPN vyhodnoceno 18 nízkých rizik, 36 středních rizik a 7 vysokých rizik. Jako jedno z nejzávažnějších rizik byl zhodnocen nesprávný příjem materiálu laborantkou, kdy dojde ke špatnému propojení vzorku se žádankou. Dalším vysokým rizikem bylo nezadání požadovaného vyšetření na žádance do laboratorního informačního systému, kdy v tomto případě nedojde k vyšetření. V rámci zadávání požadovaných údajů do centrálního počítače je dalším vysokým rizikem zadání nesprávných identifikačních údajů do LIS. V těchto případech nedojde k vyšetření a může to mít za následek poškození pacienta. Velmi závažné potencionální

riziko je také při úpravě vzorku před analýzou, kdy dochází ke slití séra z primární zkumavky do sekundární zkumavky určené pro analýzu. V tomto případě je důsledkem záměna pacienta. Záměna pacienta je pravděpodobná i v důsledku analýzy paraproteinu, kdy zkoumaná laboratoř před samotnou analýzou řadí vzorky v pořadí do stojánku. Toto jsou nezávažnější identifikovaná rizika, která by se měla minimalizovat a odstranit, případně by se jim mělo předcházet.

Výstupem této diplomové práce je kompletní přehled identifikovaných a zhodnocených potencionálních rizik při analýze paraproteinu v séru v laboratoři klinické biochemie. Veškerá data se vztahují k jednomu konkrétnímu pracovišti, kterému budou tyto výsledky interpretovány. Předpokladem této práce je však využití těchto informací v dalších laboratořích, kterým tyto data mohou sloužit jako podklad pro navržení vlastních opatření pro minimalizaci a odstranění těchto rizik v souladu s jejich možnostmi a vlastním uvážením.

10 POUŽITÁ LITERATURA

ANES, V., HENRIQUES, E., FREITAS, M., REIS, L., 2017. *A new risk prioritization model for failure mode and effects analysis.* [online] Quality and Reliability Engineering International. 34 (4), s. 516–528, Dostupné z: doi:10.1002gre.2269 [cit. 2024-01-3].

ARAIN, M., CAMPBELL, M. J., COOPER, C. L., LANCASTER, G. A., 2010. *What is a pilot study?* [online] BMC Medical Research Methodology. 10 (67), Dostupné z: doi:10.1186/1471-2288/10/67 [cit. 2024-01-2].

BARTŮŇKOVÁ, Jiřina, Milan PAULÍK et al., 2011. *Vyšetřovací metody v imunologii.* 2. Praha: Grada Publishing a.s, ISBN 978-80-247-3533–7.

BEDNÁŘ, Martin, 2014. *Skladové hospodářství konkrétního podniku.* Brno. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Ekonomicko-správní fakulta. Vedoucí práce doc. Ing. Antonín Stehlík CSc.

BLECHARZ, Pavel, 2023. *Řízení a zlepšování kvality*. Jesenice: Ekopress. ISBN 978-80-87865-83-5.

BRODSKÁ LAHODA, Helena; Pavel KOHOUT et al., 2022. *Laboratorní vyšetření v klinické praxi* [online]. Praha: Grada Publishing [cit. 2023-04-23]. ISBN 978-80-271-6694-7. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/laboratorni-vysetreni-v-klinicke-praxi-1300776/.

CLARY, Renee, WANDERSEE, James, 2010. *Fishbone Diagrams: Organize Reading Content With a "Bare Bones" Strategy.* [online] Science Scope. 33 (9). s. 31–37. ISSN 0887-2376.

COCCIA, Mario, 2017. *The Fishbone diagram to identify, systematize and analyze the sources of general purpose technologies.* [online] Journal of Social and Administrative Sciences. 4 (4). s. 291–303. Dostupné z: doi:10.1453/jsas. v4i4.1518 [cit. 2024-01-2].

ČEFELÍNOVÁ, Petra, 2018. *Řízení kvality v klinických laboratořích.* Jihlava. Diplomová práce. Vysoká škola polytechnická, katedra zdravotnických studií. Vedoucí práce Mgr. Lucie Sobotková.

ČERMÁKOVÁ, Zdeňka, 2012. *Metody stanovení specifických bílkovin a jejich efektivní využití v klinické diagnostice monoklonálních gamapatií.* Brno. Disertační práce. Masarykova univerzita, lékařská fakulta. Vedoucí práce doc. MUDr. Milan Dastych, CSc., MBA.

ČERVENKOVÁ, Zuzana, Eva HLAVÁČKOVÁ a Lenka HODAČOVÁ, 2018. *Analýza rizik při předepisování a podávání analgetik*. In: Management rizik ve zdravotnictví., 2(3), s. 15–21. ISSN 2570-6926.

ČESKO, 20011. Vyhláška č. 55/2011 Sb., o činnostech zdravotnických pracovníků a jiných odborných pracovníků. Online. In: *Zákony pro lidi*. AION CS, © 2010–2023. Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2011-55. [cit. 2024-03-8].

ČESKO, 2004. Zákon č. 96/2004 Sb., o podmínkách získávání a uznávání způsobilosti k výkonu nelékařských povolání a k výkonu činnosti souvisejících s poskytováním zdravotní péče a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o nelékařských zdravotnických povolání). Online. In: *Zákony pro lidi*. AION CS, © 2010–2023. Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-96. [cit. 2024-03-8].

Český institut pro akreditaci, o.p.s [online], 2023. Dostupné z: https://www.cai.cz/?p=17032. [cit. 2023-10-21].

DONDELINGER, Robert M., 2010. *Electrophoresis.* [online] Biomedical Instrumentation & Technology. 44(5), s. 397–399, Dostupné z: doi:10.2345/0899-8205-44.5.397 [cit. 2023-05-15].

EN-NAAOUI, KAICER, M., EL HARTI, J., HACHIMI, H., KHAMLICHI IDRISSI F., DAROUICHI, A., LAMARTI M., S., 2021. *Risk management in Moroccan Healthcare Organizations: An Overview.* [online] Turkish Journal of computer and mathematics education. 12 (5). s. 930–936, Dostupné z: https://turcomat.org/index.php/turkbilmat/article/view/1735397 [cit. 2023-04-05].

FRIEDECKÝ, B., 2010. *Kvalita v klinické laboratoři a bezpečnost pacientů* [online], 2. Hradec Králové: Klinická biochemie a metabolismus. 18 (39), s. 136–142, Dostupné z: https://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2010/2010-3/Friedecky-136.pdf. [cit. 2023-08-14].

GUIÑÓN, Leonor, SOLER, Anna, DIAZ GISELL, Mónica, FERNÁNDEZ MARIA, Rosa, RICO, Nayra, BEDINI LIUÍS, Joseph, MIRA, Aurea, ALVAREZ, Luisa, 2020. *Analytial*

performance assessment and improvement by means of the Failure mode and effect analysis (FMEA). [online] Biochemia Medica. 30 (2), Dostupné z: doi:10.11613/BM. 2020. 020703 [cit. 2023-04-20].

HORÁKOVÁ, Lenka, 2022. *Problematika péče o invazivní vstupy u dětského pacienta v paliativní péči.* Pardubice. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta zdravotnických studií. Vedoucí práce PhDr. Kateřina Horáčková, Ph.D.

HRADISKÁ, Jana, 2023. *Vlivy na výsledek lab. vyšetření odběr a transport biologického materiálu* [online].

CHANDRA, Smita; KUSUM, Anuradha; GAUR, Dushyant Singh; CHANDRA, Harish, 2022. *Analytical and Post Analytical Phase of an ISO 15189 2012 Certified Cytopathology laboratory-A Five Year Institutional Experience* . [online] Journal of Cytology. 39 (1), s. 37–43, Dostupné z: doi:10. 4103/JOC.JOC_90_20. [cit. 2023-04-20].

CHIANG, Howard Hsueh-hao, 2009. *The Laboratory Technology of Discrete Molecular Separation: The Historical Development of Gel Electrophoresis and the Material Epistemology of Biomolecular Science, 1945-1970.* [online] Journal of the History of Biology. 42 (3), s. 495–527, Dostupné z: doi:10.1007/s10739-008-9169-5 [cit. 2023-05-15].

CHROMÝ, Jan, 2014. *Práce s empirickými daty.* Praha: Univerzita Karlova. ISBN 978-80-246-2801-1.

IVANČAN, Jelena, LISJAK, Dragutin, PAVLETIĆ, Duško, KOLAR, Davor, 2023. *Improvement of Failure Mode and Effects Analysis Using Fuzzy and Adaptive Neuro-Fuzzy Inference Systém.* [online] Machines. 11(7). s. 739. Dostupné z: doi:10.3390/machines11070739 397 [cit. 2023-07-6].

JAFRI, Lena; MUHAMMAD A., Abid; REHMAN, Javeria; SIBTAIN, Ahmed; GHAZANFAR, Abbas, et al., 2022. *Development of a virtuál classroom for pre-analytical phase of laboratory medicine for undergraduate medical students using the Delphi technique.* [online] PLoS One. 17 (4), s. 1–12, Dostupné z: doi: 10.1371/journal.pone.0264447 397 [cit. 2023-04-3].

JAYAMANI, Jayagandan, CHANDRASHEKAR C, Jonathan, SADAI V, Appan, KATHAMUTHU, Kumaresan, MANAL ELDEIN, Ahmed, 2022. *A practical Tool for Risk*

Management in Clinical Laboratories. [online] Cureus. 14 (12). s. 1–10. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.32774 [cit. 2023-07-6].

JENSEN C., Roger, BIRD L., Royce, NICHOLS W., Blake, 2022. *Risk Assessment Matrices for Workplace Hazards: Design for Usability.* [online] International Journal of Enviromental Research and Public Health. 19 (5), Dostupné z: doi: 10.3390/ijerph19052763 [cit. 2024-04-01].

JUNYONG, In, 2017. *Introduction of a pilot study.* [online] Korean Journal of Anesthesiology. 70 (6), s. 601–605, Dostupné z: doi:10.4097/kjae.2017.70.6.601 [cit. 2023-11-23].

KORECKÝ, Michal; TRKOVSKÝ, Václav, 2011. *Management rizik projektů: se zaměření na projekty v průmyslových podnicích.* Praha: Galén. ISBN 978-80-247-3221-3.

KUŠNIEROVÁ, Pavlína, 2022. *Laboratorní diagnostika monoklonálních gamapatií*. Ostrava: Ostravská univerzita. ISBN 978-80-7599-321-2.

KUTNOHORSKÁ, Jana, 2009. *Výzkum v ošetřovatelství.* Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-2713-4.

LEE YUN, Pei, COSTUMBRADO, John, HSU, Chih-Yuan, KIM HOON, Yong, 2012. *Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments.* [online] Journal of Visualized Experiments. 62, Dostupné z: doi:10. 3791/3923 [cit. 2023-04-14].

LIU, Hu-Chen, ZHANG, Li-Jun, PING Ye-Jia, WANG, Liang, 2020. *Failure mode and effects analysis for proactive healthcare risk evaluation: A systematic literature review.* [online] Journal of Evaluation in Clinical Practice. 26(4), s. 1320–1337, Dostupné z: doi: 10.1111/jep.13317 [cit. 2024-03-31].

MÄKITALO, Outi; LIIKANEN, Eeva, 2013. *Improving Quality at the Preanalytical Phase of Blood Sampling:Literature Review.* [online] International Journal of Biomedical Laboratory Science. 2(1), s. 716 Dostupné z: https://www.ijbls.org/images/stories/2013510104210.pdf [cit. 2023-04-17].

MALINA, P., FEITOVÁ, S., MICHÁLKOVÁ M., 2019. *Příručka pro odběr vzorků biologického materiálu.* Odborná směrnice SM OKB 09. Nemocnice Písek.

MERNA, Tony a Faisal F. AL-THANI, 2007. *Risk management*. Brno: Computer Press. ISBN 978-80-251-1547-3.

NJOROGE W., Sarah, NICHOLS H., James, 2014. *Risk Management in the Clinical Laboratory.* [online] Annals of Laboratory Medicine. 34 (4), s. 274–278, Dostupné z: doi:10.3343/alm.2014.34.4.274 [cit. 2023-04-14].

O'CONNELL, Theodor X; HORITA, Timothy J; KASRAVI, Barsam, 2005. *Understanding and Interpreting Serum Protein Electrophoresis.* [online] American Family Physician. 71(1), s. 105–112 Dostupné z: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15663032/ [cit. 2023-06-16].

OEHMEN, J., GUENTHER A., HERRMANN, J. W., SCHULTE, J., WILLUMSEN P., 2020. *Risk management in product development: Risk identification, assesment, and mitigation.* [online] International design konference. s. 657–666, Dostupné z: doi:10.1017/dsd.2020.27 [cit. 2023-05-23].

OCHRANA, František, 2019. *Metodologie, metody a metodika vědeckého výzkumu* [online]. Praha: Univerzita Karlova [cit. 2024-04-07]. ISBN 978-80-246-4200-0. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/metodologie-metody-a-metodika-vedeckeho-vyzkumu-1662363/.

PAZOUREK, Jiří. *Moderní elektroforetické analytické metody: Přednášky pro magisterské studium* [online]. 2003 [cit. 2023-07-22]. Dostupné z: https://docplayer.cz/1428450-Jiri-pazourek-moderni-elektroforeticke-analyticke- metody-prednasky-pro-magisterske-studium-skripta-elektroforeticke-analyticke- metody-2-6.html.

PETRÁŠ, Vlastimil, 2010. *Ochrana zdraví pacienta.* Brno. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Právnická fakulta. Vedoucí práce JUDr. Jana Dudová, Ph.D.

PLURA, Jiří, 2001. *Plánování a neustálé zlepšování jakosti*. Praha 4: Computer Press. ISBN 80-7226-543-1.

PROCHÁZKOVÁ, D., 2020. *Řízení rizik procesů a bezpečnost složitých technických děl.* Praha: ČVUT Elektronická DSPACE, 399 s. ISBN 978-80-01-06786-4.

RACEK, Jaroslav, Daniel RAJDL et al., 2021. *Klinická biochemie*. 3. Praha 5: Galén. ISBN 978-80-7492-545-0.

RAH, Jeong-Eun, MANGER P., Ryan, YOCL D., Adam, KIM, Gwe-Ya, 2016. *A comparison of two prospective risk analysis methods: Traditional FMEA and modified healthcare FMEA.* [online] The International Journal of Medical Physics Research and Practise. 43(12), s. 6347–6353, Dostupné z: doi: 10.1118/4966129 [cit. 2024-04-01].

REICHEL, Jiří, 2009. *Kapitoly metodologie sociálních výzkumů.* Praha 7: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-3006-6.

SEBIA, 2020. *Hydragel 1, 2, 4 & 9 IF.* User manual [online]. Dostupné z: http://www.biosystemsne.com.br/files/product/162300884708424804hydragel4imunofixao.pdf.

SEBIA, 2020. *Hydragel 7, 15 & 30 PROTEIN(E).* User manual [online]. Dostupné z: https://medigroupasia.com/wp-content/uploads/2022/10/IFU-4100.pdf.

SKELDON, Niki, 2018. *Interpreting protein elektrophoresis in practise.* [online] In Practice. 40(5), s. 183–193, Dostupné z: doi:10.1136/inp. k1923 [cit. 2023-06-16].

SMEJKAL, Vladimír a Karel RAIS, 2013. *Řízení rizik ve firmách a jiných organizacích*. Čtvrté. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-4644-9rč.

SONMEZ, Cigdem, YILDIZ, Ummugulsum, AKKAYA, Nedim, TANELI, Fatma, 2020. *Preanalytical Phase Errors: Experience of a Central Laboratory.* [online] Cureus. 12(3), s. 7335, Dostupné z: doi: 10.7759/cureus.7335 [cit. 2024-03-30].

SOVA, Päivi Marjatta, HOLMSTRÖM, Anna-Riia, AIRAKSINEM, Marja, SNECK, Sami, 2022. *Using healthcare Failure Mode and Effect Analysis in prospective medication safety risk management in secondary care inpatinet wards.* [online] European Journal of Hospital Pharmacy. s. 1–7. Dostupné z: doi:10.1136/ejhpharm-2021-003109 [cit. 2023-05-21].

SUÁREZ-BARRAZA, F. Manuel, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. Francisco, 2019. *Cornerstone root causes through the analysis of the Ishikawa diagram, is it possible to find them?:A first reseach approach.* [online] International Journal of Quality and Service Sciences. 11 (2). s. 302–316. Dostupné z: doi:10.1108/IJQSS-12-2017-0113 [cit. 2023-04-19].

ŠKRLA, Petr a Magda ŠKRLOVÁ, 2008. *Řízení rizik ve zdravotnických zařízeních* [online]. Praha: Grada Publishing [cit. 2023-07-15]. ISBN 978-80-271-9673-9. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/rizeni-rizik-ve-zdravotnickych-zarizenich-1177462/.

ŠUPŠÁKOVÁ, Petra, 2017. *Řízení rizik při poskytování zdravotních služeb* [online]. Praha: Grada Publishing [cit. 2023-07-13]. ISBN 978-80-271-9673-9. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/rizeni-rizik-pri-poskytovani-zdravotnich-sluzeb-1201452/.

TAITZ, Johny, GENN, Kelvin, BROOKS, Vanessa, ROSS, Deborah, RYAN, Kathleen, SHUMACK, Bronwyn, BURRELL, Tony, KENNEDY, Peter, 2010. *Systém-wide learning from root cause analysis: a report from the New South Wales Root Cause Analysis Review Committee.* Quality & safety in health care. 19 (6). s. 63. Dostupné z: doi:10.11.36/qshc.2008.032144 [cit. 2023-04-19].

TESHOME, Mulugeta; WOREDE, Abebaw; ASMELASH, Daniel, 2021. *Total Clinical Chemistry Laboratory Errors and Evalution of the Analytical Quality Control Using Sigma Metric for Routine Clinical Chemistry Tests*. [online] Journal of Multidisciplinary Healthcare. 14, s. 125–136, Dostupné z: doi:10.2147/JMDH.S286679 [cit. 2023-05-27].

TICHÝ, M., MAISNAR, V., 2006. *Laboratorní průkaz monoklonálních gamapatií.* Vnitř Lék. 52, s. 41–45, Dostupné z: https://www.myeloma.cz/res/file/archiv/brozura-jak-neprosvihnout-myelom/Laboratorni-prukaz-monoklonalnich-imunoglobulinu.pdf [cit. 2023-07-12].

VÁVROVÁ, J., KUŠNIEROVÁ P., MAISNAR, V., ŠOLCOVÁ, L., 2020. *Doporučení České společnosti klinické biochemie a České myelomové skupiny k laboratorní diagnostice monoklonálních gamapatií.* [online] Klin Biochem Metab. 28 (49), s. 26–34, Dostupné z: https://www.cskb.cz/wp-content/uploads/2020/04/dop-GP.pdf [cit. 2023-07-12].

VEBER, Jaromír, Vladimír KRAJČÍK, Galina OSTAPENKO, Lenka ŠVECOVÁ a Jan ŽUFAN, 2021. *MANAGEMENT – Základy, přístupy, soudobé trendy*. Jesenice: Ekopress. ISBN 978-80-87865-69-9.

VIMMEROVÁ, Hana, 2022. *Zavedení metody pro průkaz a kvantifikaci specifických anti-ENO1 protilátek v séru pacientů s mnohočetným myelomem v remisi.* Pardubice. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

VYTEJČKOVÁ, Renata, SEDLÁŘOVÁ, Petra, OTRADOVCOCÁ, Iva, PAVLÍKOVÁ, Pavla, 2013. *Ošetřovatelské postupy v péči o nemocné II Speciální část* [online]. Praha: Grada Publishing [cit. 2023-10-8]. ISBN 978-80-247-3420-0. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/osetrovatelske-postupy-v-peci-o-nemocne-ii-1428742/.

WIEDENMANN, Marc, GRÖßLER, Andreas, 2021. *Supply risk identification in manufacturing supply networks.* [online] International Journal of Logistics Management. 32 (2). s. 650–672. Dostupné z: doi:10.1108/IJLM-02-2020-0081 [cit. 2023-04-06].

ZAIAS, Julia, BOSSART D., Gregory, CRAY, Carolyn, 2021. *Comparison of Agarose Gel Electrophoresis and Capillary Zone Electrophoresis Methods Using Serum from Bottlenose Dolphins (Tursiops truncatus).* [online] Aquatic Mammals. 47 (2), s. 146–152, Dostupné z: doi:10.1578/AM.47.2.2021.146 [cit. 2023-06-17].

ZDENĚK, Adam, Marta KREJČÍ, Jiří VORLÍČEK et al., 2010. *Speciální onkologie příznaky, diagnostika a léčba maligních chorob* [online]. Praha: Galén [cit. 2023-07-9]. ISBN 978-80-7262-919-0. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/specialni-onkologie-1300825/.

ZEMLIN E., Annalise, 2018. *Errors in the Extra-Analytical Phases of Clinical Chemistry Laboratory Testing*. [online] Indian Journal of Clinical Biochemistry. 33 (2), s. 154–162, Dostupné z: doi:10.1007/s12291-017-0657-2 [cit. 2023-05-08].

ZIMA, Tomáš, 2013. *Laboratorní diagnostika*. Třetí. Praha: Galén. ISBN 978-80-7492-062-2.

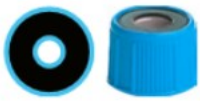
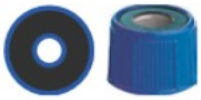
ŽÁK, Aleš, Jan PETRÁŠEK et al., 2011. *Základy vnitřního lékařství* [online]. Praha 5: Galén [cit. 2023-07-23]. ISBN 978-80-7262-697-7. Dostupné z: https://www.bookport.cz/e-kniha/zaklady-vnitrniho-lekarstvi-1227075/.

ŽALUDEK, Adam, 2020. *Management kvality a rizik psychiatrické péče* [online]. Praha 7: Grada [cit. 2023-10-18]. Dostupné z: https://www.bookport.cz/kniha/management-kvality-a-rizik-psychiatricke-pece-6804/.

11 PŘÍLOHY

Příloha A: Typy odběrových zkumavek (Brodská et al., 2022 s. 22).....88
Příloha B: Segment s šablonou pro aplikaci antisér (vlastní zdroj).....89
Příloha C: Pracovní postup ELFO na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing (SEBIA, 2020) 90
Příloha D: Pracovní postup IFE na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing (SEBIA, 2020)..92

Příloha A: Typy odběrových zkumavek (Brodská et al., 2022 s. 22)

Odběrové systémy	VACUTAINER	SARSTEDT	VACUETTE
SÉRUM S GELEM			
SÉRUM BEZ GELU			
K_2 nebo K_3EDTA			
CITRÁT SODNÝ (koagulace)			
PLAZMA S GELEM lithium heparin			
PLAZMA BEZ GELU lithium heparin			
NaF nebo fluorid/ oxalát + (K_3EDTA) (glukóza, laktát)			
Stopové prvky K_2EDTA lithium heparin nebo bez aditiv			

Příloha B: Segment s šablonou pro aplikaci antisér (vlastní zdroj)

Příloha C: Pracovní postup ELFO na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing (SEBIA, 2020)

Pracovní postup ELFO séra na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing

Následující pracovní postup je stručně popsán podle návodu HYDRAGEL 15/30 PROTEIN(E) od firmy SEBIA a je také součástí SPL-Elektroforéza *bílkovin séra.*

Reagencie:

Uskladnění při 15–30 °C do doby expirace.

Amidočerň – postup přípravy

15 ml ředícího roztoku se přidá do lahvičky s koncentrovanou amidočerní. Lahvička se pořádně protřepe po dobu cca 5 s. Obsah lahvičky se přelije do odměrného válce o objemu 300 ml. Odměrný válec se doplní po rysku deionizovanou vodou. Odměrný válec se promíchává po dobu 5–10 min. Obsah válce s připraveným barvivem se přeleje do 500 ml kontejneru, který je součástí Hydrasys a následně se opět promíchá po dobu 5–10 minut.

V *SPL-Elektroforéza bílkovin séra* je uvedeno, že pokud dojde k nesprávné přípravě barvícího roztoku, povede to k nedostatečnému barvení albuminové frakce. Stabilita roztoku je 1 měsíc při 15–30 °C a 3 měsíce při 4–8 °C.

Odbarvovací roztok – postup přípravy

Odbarvovací roztok se připraví smícháním 2 ml koncentrátu Destaining Solution a 2 l deionizované vody. Roztok je stabilní 1 týden při pokojové teplotě.

Promývací roztok – postup přípravy

Promývací roztok se připraví smícháním lahvičky Wash Solution s 5 l deionizované vody.

Analýza:

Příprava vzorků

Používají se neředěná séra. V případě, že se elektroforéza séra neprovádí ihned po přijetí vzorku a dochází k jejich skladování nebo zmražení, může se vyvinout zákal nebo viskozita a séra mohou poté špatně difundovat do zubů aplikátorů. Pro zamezení tohoto problému je vhodné smíchat 25 µl fluifilu a 75 µl séra, a následně promíchat 15 s ve vortexu (SEBIA, 2020).

Pracovní postup

a) Migrace

Na začátku se zapne analyzátor, spustí se program Phoresis a vyndá se z lednice vlhká komora. V přístroji se zvolí program 15/30 PROTEIN(E). Podle počtu vzorků se vyndá příslušný počet aplikátorů. Na jeden aplikátor se pipetuje 15 vzorků. V případě 2 aplikátorů pro 30 vzorků je nutné aplikátor označit. Do každé jamky se pipetuje 10 µl séra. Aplikátor by měl být napipetován do 2 minut. Po napipetování vzorků se aplikátor vloží do vlhké komory zuby nahoru a nechá se difunfovat 5 minut.

V čase difundace vzorků ve vlhké komoře se připraví migrační modul. Po otevření víka příslušného modulu se nasadí migrační rámeček, který obsahuje 2 části, jednu menší a jednu větší. Z ochranného obalu se vyjmou pudrované stripy a upevní se na kovové výstupky migračního rámečku nad elektrody. Na desku modulu se napipetuje 200 µl deionizované vody. Následně se z ochranné folie vyjme gel a osuší se slabým filtračním papírem. Gel se umístí na desku, tak že se kapka vody rozmístí pod gelem a bez bublin. Gel musí být ve vyznačeném rámečku.

Po uplynutí 5 minut se z aplikátorů odlomí ochranná část a vloží se do nosiče migračního rámečku tak, že v případě 30 vzorků se umístí jeden aplikátor do drážek č. 3 a 9, v případě 15 vzorků do drážky č. 6. Před vložením aplikátorů do nosiče je vhodné zkontrolovat, zda byly všechny vzorky správně napipetovány a difundovány a to tak, že se zkontroluje vzhled, který by měl být barevný podle vzhledu séra. Pokud jsou jamky čistě bílé mohlo dojít k chybě. Migrace trvá zhruba 20 min a po skončení lze další migraci začít až po 5 minutách, až když deska modulu vychladne.

b) Barvení

K barvení je potřeba kanystr s 300 ml amidočerň barvy a kanystr s 1000 ml odbarvovacího roztoku. Gel se z migračního modulu přenese do modulu pro barvení gelu. Na analyzátoru se nastaví program PROTEIN/β1-β2/Hb. Program barvení trvá asi 20 minut a zahrnuje i odbarvování a sušení gelu. Po obarvení gelu následuje skenování. Vzorky se následně zhodnotí v programu Phoresis (SEBIA, 2020).

Příloha D: Pracovní postup IFE na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing (SEBIA, 2020)

Pracovní postup IFE séra na analyzátoru Hydrasys 2 Scan Focusing

Následující pracovní postup je stručně popsán podle návodu HYDRAGEL IF od firmy SEBIA a je také součástí SPL-Imunofixační *elektroforéza bílkovin.*

Reagencie:

Uskladnění při 15–30 °C do doby expirace.

Kyselá violeť (acid violet) – postup přípravy

Kyselá Violeť se připraví smícháním lahvičky se zásobním roztokem kyselé violeti a 300 ml destilované vody.

Postup přípravy *Promývacího* a *odbarvovacího roztoku* je stejný jako u elektroforézy bílkovin.

Analýza:

Příprava vzorků

Při přípravě vzorků pro imunofixaci se vzorky naředí dle tabulky č. 11. Ředí se příslušný objem séra s fixačním roztokem. V případě viskózního nebo zakaleného séra se postupuje stejně jako v případě elektroforézy séra.

Tabulka 11 – Ředění vzorků (Pracovní postup OKB, 2020)

Imunofixační stopa	**Koncentrace paraproteinu**		
	<5 g/l	**5–20 g/l**	**>20 g/l**
ELFO	1:2 (30 µl + 60 µl)	1:2 (30 µl + 60 µl)	1:2 (30 µl + 60 µl)
IgG	2:5 (30 µl + 75 µl)	1:5 (30 µl + 150 µl)	1:2 (30 µl + 300 µl)
IgA, IgM	1:1 (30 µl + 30 µl)	1:2 (30 µl + 75 µl)	1:4 (30 µl + 75 µl)
Kappa, lambda	1:1		

Pracovní postup

a) Migrace

Postup IFE začíná stejně jako postup ELFO s výjimkou nastavení programu 2/4IF SM/DM. V případě IFE se na jeden aplikátor pipetují 2 vzorky. Na aplikátoru se označí jamky č. 1, 8 a 15, které se nepoužívají. Aplikátor se označí identifikací pacienta. Pipetuje se 10µl séra. Další postup je stejný jako v případě ELFO. Migrace trvá 9 minut.

b) Dynamická maska

Po migraci následuje aplikace dynamické masky. Dynamická maska obsahuje šablonu pro aplikaci antisér (viz příloha B), segment pro antiséra, vodicí rámeček a distanční rámeček pro redukci délky. Antiséra se pipetují do jamek reverzně v objemu 12 µl. Před vložením dynamické masky do analyzátory je nutné šablonu odstranit.

c) Imunofixace

Po dokončení migrace se odstraní migrační rámeček s aplikátory, aplikuje se dynamická maska a začne proces inkubace. Ta trvá zhruba 5 minut a probíhá při teplotě 20 °C.

d) Odsátí gelu

Po inkubaci se na gel položí zlehka zesílený filtrační papír. Odsátí probíhá 3 minuty při teplotě 40 °C.

e) Sušení

Po 3 minutách se odstraní filtrační papír a zavře se víko modulu. Probíhá sušení gelu při teplotě 50 °C po dobu 8 minut.

f) Barvení

Pro barvení je nutný kanystr obsahující 400 ml promývacího roztoku, 300 ml barvy acid violeť a 1 l odbarvovacího roztoku. Suchý gel se uloží do nosiče a vloží do barvícího modulu. Zvolí se program IF ACID VIOLET. Probíhá barvení, odbarvování a sušení.

Po obarvení se gel naskenuje stejně jako v případě ELFO ve skeneru a odečte v programu Phoresis (SEBIA, 2020).