

NADZOR KAKOVOSTI FILTRIRANIH ERITROCITNIH PRIPRAVKOV V OBDOBJU 2010–2014 V CENTRU ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO MARIBOR

QUALITY CONTROL OF FILTERED RED BLOOD CELL COMPONENTS IN THE PERIOD 2010–2014

AVTOR / AUTHOR:

Katja Perbil Lazič, univ. dipl. biol.,
spec. med. biokem.

Marija Šega, univ. dipl. biol.,
spec. med. biokem.

Lidija Lokar, dr. med., spec. transf.

*UKC Maribor, Center za transfuzijsko medicino,
Ljubljanska 5, 2000 Maribor*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
katja.perbil@gmail.com

POVZETEK

Za zagotavljanje varnosti, učinkovitosti in kakovosti krvnih komponent je po priporočilih Sveta Evrope predvideno izvajanje kontrole kakovosti pri vsaj 1 % oz. za nekatere dejavnike pri 4 enotah mesečno pripravljenih krvnih komponent in spremljanje predpisanih kazalnikov kakovosti za posamezno komponento krvi.

V petih letih (2010–2014) smo v Centru za transfuzijsko medicino (CTM) UKC Maribor zbrali 107.299 enot polne krvi in jih predelali v 98.999 (92,3 %) enot koncentriranih filtriranih eritrocitov (KEF). Nadzor kakovosti smo izvedli po načrtu pri naključno zbranih 1.417 (1,4 %) enotah KEF. Pri enotah smo 1. dan po njihovi pripravi določali: volumen, hematokrit (Hct), količino hemoglobina (HB) in število preostalih levkocitov ter sterilnost enot, zadnji dan uporabnosti pa še koncentracijo prostega hemoglobina, ki nam po izračunu pokaže odstotek hemolize v enoti krvi. Predpisanim vrednostim za volumen je ustrezalo 96 %, za Hct 98 %, za HB 97 %, za hemolizo 96 % in za število preostalih levkocitov 99 % testiranih enot KEF. Sterilne so ostale vse enote KEF. Rezultati testiranja kakovosti KEF kažejo, da merjeni parametri ustrezajo zahtevam kakovosti in da našim bolnikom zagotavljamo visokokakovostne filtrirane eritrocitne krvne pripravke.

KLJUČNE BESEDE:

nadzor, kakovost, varnost, filtrirani eritrociti v ohranitveni tekočini

ABSTRACT

Guidance of the Council of Europe recommends that the quality control should be performed in a minimum of 1% of all prepared blood components and that definitive quality parameters for each specific blood component should be determined.

In five years (2010-2014), we have collected 107.299 units of whole blood, of which 98.999 (92.3%) units were processed into Leucocyte Depleted Red Cell Concentrate in Additive Solution (LD-AS). The planned quality controls were determined in 1.417(1.4%) of blindly selected LD-AS units. On the first day of their preparation volume, haemoglobin (HB), hematocrit (Hct), and sterility were determined, as well as leukocytes counted by flow cytometry, for each LD-AS unit. On the day



of their expiry, the percentages of hemolysis were additionally assessed.

Volumes were suitable in 96%, Hct in 98%, HB in 97%, sterility in 100%, numbers of residual leukocytes in 99%, and hemolysis in 96% of the tested LD-AS units.

Quality controls of LD-AS units showed that the parameters measured were in accordance with quality requirements and that our patients were treated with high quality filtered red blood cells components.

KEY WORDS:

control, quality, safety, leukodepleted red cell concentrate in additive solution

1 UVOD

Sistem kakovosti v transfuzijski medicini je izjemnega pomena za zagotavljanje optimalne kakovosti in varnosti krvnih komponent, ki so biološkega izvora in zato lahko spremenljive kakovosti. Zato morajo biti vsi postopki, od izbire krvodajalca, odvzema krvi, testiranja vsake odvzete enote, njene predelave v krvne komponente, njihovega shranjevanja v optimalnih pogojih, predtransfuzijskega testiranja, njihovega prevoza in razdeljevanja, do transfuzije bolniku in spremljanja učinka po njeni aplikaciji, strogo nadzorovani in dosledno dokumentirani. Sistem zagotavljanja kakovosti v transfuzijski dejavnosti zahteva strokovno delo, ki je v skladu z načeli dobre proizvodne in laboratorijske prakse (1, 10) in ustreza določilom Evropskih direktiv (2002/98/ES, 2004/33/ES in 2005/61/ES ter 2005/62/ES), prinesenih v nacionalno zakonodajo, ter upošteva Priporočila Sveta Evrope o pripravi, uporabi in zagotavljanju kakovosti krvnih komponent (1, 2, 3). Da bi skupaj z ostalimi članicami Evropske skupnosti zagotovili primerljivo in na nekaterih področjih celo večjo varnost in kakovost krvnih komponent, je slovenski Zakon o preskrbi s krvjo s podzakonskimi akti v celoti usklajen z zahtevami Sveta Evrope in Evropske skupnosti (3, 4, 5, 6).

V okvir sistema kakovosti v transfuzijski dejavnosti so vključeni: vodenje kakovosti in procesov, osebje in organizacija, delovni prostori, oprema in materiali, dokumentacija, zbiranje, testiranje in predelava krvi, nadzor kakovosti, validacija vseh postopkov, pritožbe in odpoklic komponent, obravnava odstopanj, napak in incidentov, korektivni in

preventivni ukrepi, spremljanje neželenih učinkov in dogodkov ter zunanja in notranja presoja (2).

Nadzor kakovosti krvnih komponent je pomemben dejavnik v zagotavljanju njihove varnosti in kakovosti, ki pa ne vključuje le določanja predpisanih posameznih parametrov, temveč tudi analizo vseh neskladnosti, ugotavljanje vzrokov zanje ter korektivne in preventivne ukrepe, ki vodijo k nenehnemu izboljševanju. Pri tem vzorčenje krvnih komponent izvajamo po določenem načrtu. Vse uporabljene reagente, teste, opremo in metode moramo biti validirati. V primeru neustreznih rezultatov ostane krvna komponenta v karanteni, vse dokler dokončno ne razrešimo njenega statusa. Po priporočilih Sveta Evrope moramo nadzor kakovosti opraviti pri najmanj 1 % izdelanih krvnih komponent. V primeru odstopanja določenega kazalnika od predpisane vrednosti povečamo število testiranih enot krvne komponente, ki jo vrednotimo, in analiziramo vse postopke, potrebne za njihovo pripravo, ter izvedemo ustrezne korektivne ukrepe za izboljšanje kakovosti procesa njihove izdelave.

2 MATERIAL IN METODE

Za vsako vrsto krvnih komponent imamo pripravljen letni načrt nadzora kakovosti. Pravilno vzorčenje naključno izbranih vzorcev je izjemnega pomena, saj zagotavlja verodostojne rezultate. Nadzor kakovosti izbranih enot krvnih komponent izvaja vedno oseba, ki neposredno ne sodeluje v procesu preskrbe s krvjo.

Vzorci filtriranih eritrocitov (KEF) pridobimo iz segmentov cevke vrečke, v kateri so shranjeni. Pred vzorčenjem enoto KEF dobro premešamo, nato eritrocite iz segmenta cevke večkrat iztisnemo v vrečko, da s povratnim tokom vanj iz vrečke dobimo reprezentativen vzorec za testiranje. Proizvajalec filtrov (Fresenius) priporoča, da filtracijo, ki traja več kot 45 minut, prekinemo in komponente ne uporabimo za bolnika. Po priporočilih Sveta Evrope moramo vsem enotam KEF določiti volumen. Pri tem uporabljamo tehtnico Kern (PLJ2100-ZM).

V vzorcih naključno izbranih enot KEF prvi dan po njihovi pripravi določimo hematokrit (Hct) in koncentracijo hemoglobina (HB) s hematološkim analizatorjem Cell Dyn Ruby (Abbott). Količino HB izračunamo iz koncentracije HB in

volumna pripravka. Zadnji dan uporabnosti testirane enote pa v njenem vzorcu izmerimo še koncentracijo prostega HB, in sicer s spektrofotometrom (Perkin Elmer Lambda 35) na Oddelku za laboratorijsko diagnostiko UKC Maribor. Za izračun odstotka hemolize v posameznem vzorcu uporabimo naslednjo formulo:

$$\text{hemoliza (\%)} = \frac{\text{prosti HB}}{\text{celokupni HB}} \times (100 - \text{hematokrit}).$$

Poleg omenjenih kazalnikov v izbranih enotah KEF določimo tudi število preostalih levkocitov, za kar uporabljamo pretočni citometer Becton Dickinson BD LSR 2 in reagenčni sestav LeucoCount (Becton Dickinson). Vsaj 90 % testiranih enot KEF mora vsebovati manj kot 1×10^6 levkocitov na enoto. Za preiskavo na sterilnost pošiljamo vzorce komponent krvi v Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano v Mariboru. Število posameznih enot, ki jih moramo poslati, določimo s pomočjo formule Paul Erlichovega inštituta (7):

$$0,4 \times \sqrt{\text{predelanih enot}}$$

Vse rezultate statistično obdelamo z računalniškim programom Excel in izračunamo odstotek enot, ki ustrezajo predpisanim kriterijem.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V petletnem obdobju (2010–2014) smo v Centru za transfuzijsko medicino (CTM) UKC Maribor skupaj s pripadajo-

čima enotama v Murski Soboti in na Ptujju zbrali 107.299 enot polne krvi, ki smo jo predelali v krvne komponente. Tako smo pripravili 98.999 (92,3 %) enot KEF in 6.059 (5,8 %) enot koncentriranih eritrocitov z odstranjenim »buffy coatom« (KEB), slednje izključno v letu 2010. Leta 2011 smo prešli na 100-odstotno filtracijo polne krvi. V preglednici 1 prikazujemo število zbranih enot polne krvi, število in delež enot KEF ter število in delež naključno izbranih enot KEF, pri katerih smo opravili nadzor kakovosti.

Število in delež testiranih enot KEF sta bila v letu 2014 največja, in sicer 322 (1,6 %), najmanjša pa leta 2010, ko smo testirali 188 (1,2 %) enot. V petletnem obdobju smo nadzor kakovosti opravili pri skupno 1.417 (1,4 %) enotah KEF, kar presega priporočeni 1-odstotni delež. Število enot, testiranih za hemolizo, je manjše, saj je potrebno po Priporočilih Sveta Evrope testirati mesečno vsaj 4 enote in ne 1 % enot (2). V Preglednici 2 smo zbrali priporočene vrednosti kazalnikov kakovosti za KEF (2).

Rezultati ugotavljanja kazalnikov kakovosti za KEF v posameznem letu in za skupno petletno obdobje so prikazani v preglednici 3, porazdelitev spremenljivk za posamezne kazalnike na slikah 1, 2, 3, 4 in 5. Hemolizo na koncu shranjevanja (42. dan) smo določali v skupno 441 enotah KEF. V letu 2010 je bila ta pri 93 % od 60 testiranih enot manjša od 0,8 %. Temu kriteriju je leta 2011 ustrezalo 96 % od 97, leta 2012 96 % od 101, leta 2013 98 % od 99 in leta 2014 99 % od 84 testiranih enot. Na kontrolo sterilnosti smo v petletnem obdobju na osnovi izračunov s formulo Paul Erlichovega inštituta poslali skupno 982 enot, pri čemer nobena ni bila bakterijsko kontaminirana.

Preglednica 1: Število enot (E) polne krvi, število in odstotek pripravljenih KEF, število in odstotek naključno izbranih in testiranih enot KEF v obdobju 2010–2014.

Table 1: Number of whole blood units (U), number of U and percentage of Leucocyte Depleted Red Cell Concentrates in Additive Solution (LD-AS), and number and percentage of tested LD-AS units, between 2010 and 2014.

Leto	2010	2011	2012	2013	2014	skupno
Št. E polne krvi/	21.694	22.154	21.181	21.160	21.110	107.299
Št. E KEF(%)	15.138 (69,8)	21.620 (97,6)	20.704 (97,7)	20.775 (98,2)	20.762 (98,4)	98.999 (92,3)
Št. testiranih E KEF (%)	188 (1,2) *60	312 (1,4) *97	301 (1,5) *101	294(1,4) *99	322(1,6) *84	1.417(1,4) *441

*(enote, testirane za hemolizo)



Preglednica 2: Parametri kakovosti za KEF in njihove priporočene vrednosti (2).

Table 2: Quality parameters of Leucocyte Depleted Red Cell Concentrates in Additive Solution (LD-AS) and their recommended values (2).

Testirani parameter	Zahtevana kakovost	Pogostost kontrol
Volumen	Glede na validirane pogoje 265–340 ml WBF*215–300 ml T&B**	1 % vseh enot
Hematokrit	0,50–0,70	4 enote mesečno
Hemoglobin	Najmanj 40 g/enoto	1 % vseh enot, minimalno 4 enote mesečno
Preostali levkociti	<1x10 ⁶ na enoto	1 % vseh enot, minimalno 10 enot mesečno
Hemoliza ob koncu shranjevanja	0,8 % mase eritrocitov	4 enote mesečno

*WBF – whole blood filtration

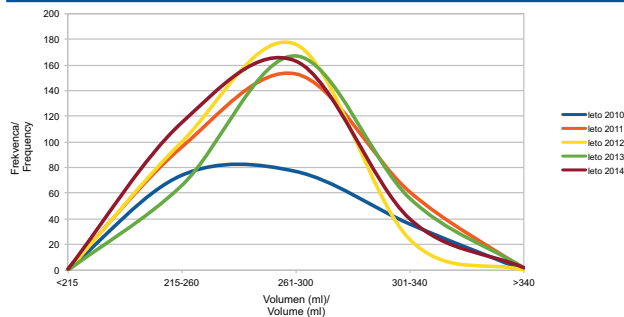
**T&B – top and bottom

Preglednica 3: Kazalniki kakovosti za KEF, določeni v obdobju 2010–2014.

Table 3: Indicators of quality for Leucocyte Depleted Red Cell Concentrates in Additive Solution (LD-AS) for the period from 2010–2014.

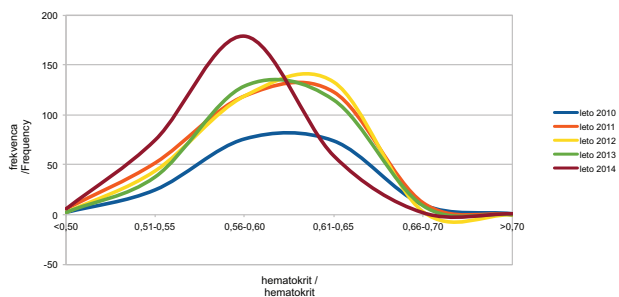
Leto	2010	2011	2012	2013	2014
Volumen (ml) X ± SD% ustreznih E	271 ± 30 98	277 ± 28 97	272 ± 24 94	281 ± 26 98	274 ± 26 94
Hematokrit X ± SD% ustreznih E	0,59 ± 0,04 98	0,59 ± 0,04 99	0,59 ± 0,04 99	0,60 ± 0,04 98	0,58 ± 0,04 98
Hemoglobin (g/enoto) X ± SD% ustreznih E	53 ± 7 98	53 ± 7 96	51 ± 6 96	54 ± 7 98	53 ± 7 98
Št. preostalih levkocitov X ± SD% ustreznih E	0,07 ± 0,13 100	0,05 ± 0,15 99	0,07 ± 0,15 99	0,06 ± 0,18 100	0,09 ± 0,26 99
Hemoliza na koncu shranjevanja Št. testiranih E X ± SD% ustreznih E	60 0,29 ± 0,22 93	97 0,29 ± 0,26 96	101 0,30 ± 0,57 96	99 0,25 ± 0,21 98	84 0,25 ± 0,17 99
Sterilnost Št. testiranih E % ustreznih E	31 100	303 100	218 100	219 100	211 100

Ostali merjeni kazalniki kakovosti, volumen, HB in Hct, so v več kot 90 % ustrezali priporočenim vrednostim. Število preostalih levkocitov po filtraciji smo določili v 1.384 enotah. V letu 2010 je vseh 188 testiranih enot vsebovalo $< 1 \times 10^6$ levkocitov na enoto. Temu parametru je leta 2011 ustrezalo 99 % od 312, leta 2012 99 % od 301, leta 2013 99,6 % od 291 in leta 2014 99% od 292 testiranih enot.



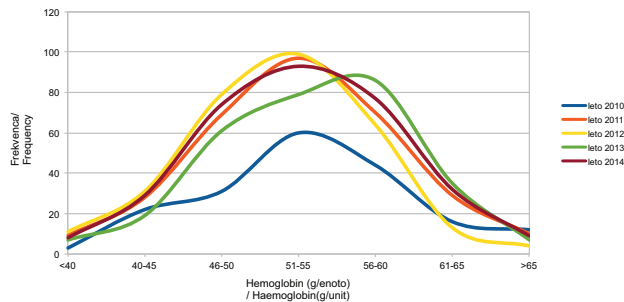
Slika 1: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, volumen.

Figure: Quality control of filtered red cell concentrates – volume.



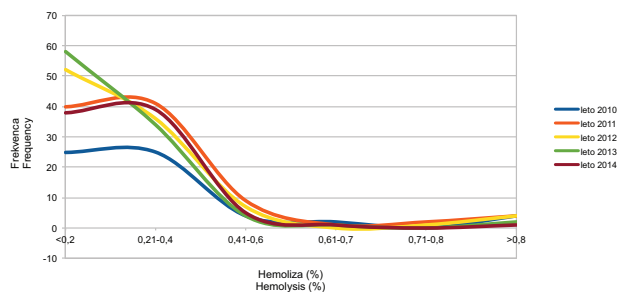
Slika 2: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, hematokrit.

Figure 2: Quality control of filtered red cell concentrates – hematocrit.



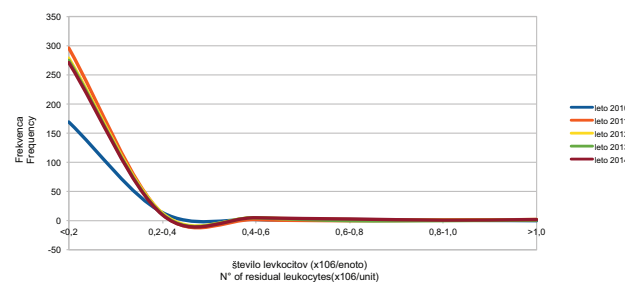
Slika 3: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, hemoglobin.

Figure 3: Quality control of filtered red cell concentrates – haemoglobin.



Slika 4: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov- kazalnik kakovosti, hemoliza ob koncu shranjevanja (42.dan).

Figure 4: Quality control of filtered red cell concentrates – hemolysis at the end of storage period (day 42).



Slika 5: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, število preostalih levkocitov.

Figure 5: Quality control of filtered red cell concentrates – number of residual leukocytes.

V priporočilih Sveta Evrope so za posamezne komponente krvi opredeljene vrednosti posameznih kazalnikov kakovosti, katerim mora ustrezati vsaj 75 % vseh testiranih enot, razen za parameter število preostalih levkocitov, kjer je potrebna 90-odstotna ustreznost (2). V sistemu zagotavljanja kakovosti varnosti zdravljenja s krvjo, ki naj bi ga po priporočilih Sveta Evrope uvedle vse transfuzijske ustanove, predstavlja nadzor kakovosti krvnih komponent zelo pomemben segment. Ta nadzor kakovosti lahko izvaja le oseba, ki ni neposredno vključena v procese preskrbe s krvjo, a zelo tesno sodeluje z izvajalci, ki jih izvajajo, pri čemer jih je dolžna redno obveščati o rezultatih nadzora (7). Pripravo krvnih komponent izvajajo strokovno usposobljeni delavci po postopkih, ki so jasno zapisani bodisi v obliki standardnih operativnih postopkov (SOP) ali navodil za delo. Nadzirati moramo tudi vse analizatorje oziroma opremo, s katero opravljamo testiranje. Prav tako moramo validirati tudi vse analize postopke. V primeru odstopanja posameznega ali več kazalnikov od priporočenih vrednosti je potrebna analiza vseh postopkov v pripravi testirane komponente. Ko najdemo vzrok za neskladnost, pristopimo k ustreznim korektivnim



ukrepom in nato povečamo število naključno izbranih enot za nadzor kakovosti, s čimer lahko ovrednotimo učinkovitost posameznega popravljalnega ukrepa (5, 7). Za nazornejši prikaz bomo navedli enega od učinkovitih korektivnih ukrepov, ki smo ga izvedli v procesu Predelava krvi. Pri merjenju vrednosti pH na zadnji dan shranjevanja enot koncentriranih trombocitov smo ugotovili, da so te pri skoraj 90 % enot premajhne. Po natančni analizi in predloženih dokazih je proizvajalec vrečk priznal, da je spremenil njihovo sestavo, zaradi česar ni bilo več zadostnega prehajanja kisika do trombocitov. Zaradi tega smo zamenjali proizvajalca in tako odpravili težave s pH vrednostmi v trombocitnih koncentratih.

Grafične predstavitve nadzora kakovosti naključno izbranih enot KEF prikazujejo primerjalno letno porazdelitev izsledkov njihovega testiranja za posamezni kazalnik znotraj petletnega obdobja. Deleži testiranih enot KEF, ki so ustrezale predpisanim vrednostim posameznih kazalnikov kakovosti, so bili v našem primeru vedno večji od priporočenih.

Porazdelitvena krivulja za volumen kaže, da je večina testiranih enot KEF vsebovala od 261–300 ml, razen v letu 2010, ko smo v velikem številu enot izmerili manjšo vsebnost, in sicer 215–260 ml. Vzrok za to je bilo večje število testiranih enot, pridobljenih na osnovi postopka T&B (*top and bottom*), kar pomeni, da smo iz polne krvi pridobili kar tri komponente hkrati, in sicer levkocitno trombocitni koncentrat ali »*buffy coat*« (uporaben za pripravo koncentriranih trombocitov), plazmo in filtrirane eritrocite.

Iz porazdelitvenih krivulj količine hemoglobina v pripravkih KEF lahko sklepamo, da je bila v vseh testiranih enotah njegova povprečna koncentracija med 51–55 g/L. Porazdelitvena krivulja za Hct je za leto 2014 pomaknjena nekoliko v levo, torej proti manjšim vrednostim, kar pomeni, da je bila v testiranih enotah večja vsebnost plazme. Tako je kar 179 od vseh 322 testiranih enot imelo vrednosti Hct med 0,56–0,60. Razlog za to je v večjem številu testiranih enot, pri katerih smo cenrifugiranje opravili samo enkrat, saj smo filtrirali polno kri (WBF, *whole blood filtration*) in iz enote pripravili le sveže zamrznjeno plazmo in KEF in ne tudi »*buffy coat*«.

Porazdelitvena krivulja za hemolizo, ki smo jo ugotavljali na koncu shranjevanja enot KEF, je imela maksimum pod 0,2 %, v letih 2011 in 2014 pa je bil ta pri 0,21–0,40 % mase eritrocitov. Te vrednosti so še vedno precej manjše od dovoljene zgornje meje, ki je 0,80 %. Vrh porazdelitvene krivulje, ki prikazuje rezultate določanja preostalih levkocitov

v testiranih enotah KEF, je pri manj kot $0,2 \times 10^6$, kar kaže na to, da smo s filtracijo odstranili več kot 99,99 % levkocitov (8, 9). Bakteriološke preiskave vzorcev testiranih enot KEF so dokazale popolno odsotnost bakterijskih okužb.

4 SKLEP

Nadzor kakovosti krvnih komponent je pomemben segment v sistemu zagotavljanja kakovosti in varnosti zdravljenja s krvjo. Rezultati analize naših rezultatov nadzora kakovosti komponent filtriranih eritrocitov (KEF) kažejo, da so bolniki pri nas oskrbljeni z visokokakovostnimi pripravki. Vsebnost hemoglobina v posamezni testirani enoti KEF je bila znatno nad minimalno zahtevano količino. Na 42. dan shranjevanja je bila hemoliza v največjem deležu testiranih enot manjša od 0,4 %. Število preostalih levkocitov v testiranih enotah KEF je bilo majhno, v večini primerov manjše od $0,2 \times 10^6$ /enoto. Vse enote, ki smo jih poslali na bakteriološko testiranje, so bile sterilne. Rezultati stalnega nadzora kakovosti KEF torej kažejo, da delamo dobro, vsekakor pa si moramo nenehno prizadevati za še večjo kakovost.

5 LITERATURA

1. American Association of Blood Banks: *Collection, Preparation, Storage, and distribution of components from whole blood donations*; In: Brecher ME. *Technical Manual*. American Association of Blood Banks; 2005: 175–201.
2. Council of Europe: *Guide to preparation, use and quality assurance of blood components*, 17thEd. Council of Europe Publishing; 2013.
3. Zakon o preskrbi s krvjo. Uradni list RS, št. 104/2006.
4. Pravilnik o zbiranju, pripravi, shranjevanju, razdeljevanju in prevozu krvi in krvnih komponent. Uradni list RS, št. 9/2007.
5. Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost. Uradni list RS, št. 9/2007.
6. Vuk T. Kontrola kvalitete krvnih pripravka. Upravljanje kvaliteto u transfuzijskoj djelatnosti. Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2002: 46–78.
7. Urlep Šalinović V, Perbil Lazič K, Lokar L. Quality control of pre-storage leukodepleted red cell concentrates. *Vox Sanguinis* 2005; 89: 1–72.
8. Urlep Šalinović V, Lokar L, Perbil Lazič K. Quality control of pre-storage leukodepleted red cell concentrates – our experiences. *Abstract book. Istanbul 2003*; 48.
9. Urlep Šalinović V, Perbil Lazič K., Lokar L. Nadzor kakovosti eritrocitnih pripravkov v obdobju 2005-2007. *Zdrav Vestn* 2008; 77: 1-171–176.