

Usporedba nalaza kontrole kvalitete trombocita dobivenih trombaferozom i iz trombocitno-leukocitnog međusloja ("buffy coata ")

Dalšašo, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:809208>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2021-06-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Maja Dalšašo

USPOREDBA NALAZA KONTROLE
KVALITETE TROMBOCITA
DOBIVENIH TROMBAFEREZOM I IZ
TROMBOCITNO-LEUKOCITNOG
MEĐUSLOJA

Diplomski rad

Osijek, 2018.

Rad je ostvaren na Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: prof. prim. dr. sc. Marina Samardžija, dr. med., specijalist transfuziolog

Rad ima 30 listova, 4 tablice i 2 slike.

Zahvaljujem mentorici prof. prim. dr. sc. Marini Samardžiji, dr. med., specijalistici transfuziologije, na povjerenju, potpori, nesebičnoj i stručnoj pomoći te savjetima tijekom studiranja i izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem Danielu Petraku dr. med., specijalistu transfuziologu, na stručnoj i nesebičnoj pomoći te korisnim savjetima prilikom izrade diplomskoga rada.

Zahvaljujem se doc. dr. Domagoju Drenjančević, dr. med. na stručnoj i nesebičnoj pomoći te korisnim savjetima prilikom izrade završnog rada.

Zahvaljujem kolegici Tei Marić te ostalim kolegicama i kolegama na Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek, na razumijevanju i susretljivosti tijekom studija.

Velika hvala mojoj djeci, suprugu, roditeljima, sestri i prijateljima na potpori, strpljenju i odricanju tijekom cijelog studiranja.

SADRŽAJ

| | |
|---|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Kvaliteta | 1 |
| 1.2. Kontrola kvalitete u transfuzijskoj medicini | 1 |
| 1.3. Krvni pripravci | 2 |
| 1.3.1. Puna krv | 3 |
| 1.3.2. Koncentrat eritrocita | 3 |
| 1.3.3. Koncentrat trombocita | 3 |
| 1.3.4. Svježe smrznuta plazma | 4 |
| 1.4. Kontrola kvalitete krvnih pripravaka | 5 |
| 1.4.1. Učestalost testiranja, uzorkovanje i metode ispitivanja | 5 |
| 1.4.2. Zahtjevi kvalitete | 5 |
| 1.4.3. Interpretacija rezultata i korektivne mjere | 6 |
| 1.5. Kontrola kvalitete trombocita dobivenih trombaferozom i trombocita dobivenih iz trombocitno - leukocitnog međusloja – <i>pool</i> više doza | 6 |
| 1.5.1. Uzorkovanje i vaganje pripravka | 7 |
| 1.5.2. Mjerenje hematoloških vrijednosti | 7 |
| 1.5.3. Određivanje broja ostatnih leukocita | 7 |
| 1.5.4. Određivanje pH i sterilnosti | 8 |
| 2. CILJ | 9 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 10 |
| 3.1. Materijali | 10 |
| 3.2. Metode | 10 |
| 3.2.1. Proizvodnja pripravaka KT POOL SBL i KT CELL SBL | 10 |
| 3.2.2. Analiziranje i kontrola pripravaka KT POOL SBL i KT CELL SBL | 11 |
| 3.3. Statistička obrada podataka | 12 |
| 4. REZULTATI | 13 |
| 5. RASPRAVA | 19 |
| 6. ZAKLJUČCI | 21 |
| 7. SAŽETAK | 22 |
| 8. SUMMARY | 23 |
| 9. LITERATURA | 24 |
| 10. ŽIVOTOPIS | 26 |

POPIS KRATICA U TEKSTU

| | |
|-------------|--|
| DPP | - Dobra proizvođačka praksa |
| CPD | - citrat-fosfat-dekstroza, antikoagulans |
| HIV | - virus humane imunodeficijencije (engl. <i>Human immunodeficiency virus</i>) |
| Anti-HCV | - protutijelo na virus hepatitisa C |
| HCV Ag/Ab | - biljeg zaraze HCV-om |
| HBsAg | - biljeg zaraze virusom hepatitisa B |
| Anti-TP | - antitijelo na <i>Treponema pallidum</i> |
| EDTA | - etilendiamintetraoctena kiselina, antikoagulans |
| rWBC | - engl. <i>red white blood cells</i> , crvene, bijele krvne stanice |
| DDK | - dobrovoljni davatelj krvi |
| KT CELL SBL | - koncentrat trombocita dobiven postupkom trombaferenze sa smanjenim brojem leukocita |
| KT POOL SBL | - koncentrat trombocita dobiven iz trombocitno – leukocitnog međusloja više doza sa smanjenim brojem leukocita |
| BC | - „buffy coat“ – sloj leukocita i trombocita |

1. Uvod

1.1. Kvaliteta

Kvaliteta predstavlja svojstvo, odliku, sposobnost, značajku i vrijednost proizvoda kojeg promatramo. Pojam kvalitete ima široku primjenu te je nemoguće precizno ga definirati.

Kvaliteta se mjeri normama kvalitete, a one obuhvaćaju skup propisa, smjernica, zahtjevnosti nekog sustava, dozvoljena odstupanja i načine mjerenja.

ISO organizacija za zadaću ima pripremu, prihvaćanje i objavljivanje međunarodnih normi.

Kontrola kvalitete nadzor je nad kvalitetom proizvoda i proizvođača. Dijeli se na unutarnju i vanjsku kontrolu kvalitete. Unutarnja kontrola kvalitete kontrola je koju provodi sam proizvođač. Vanjsku kontrolu kvalitete provodi vanjsko tijelo za ocjenjivanje sukladnosti, korisnici, konkurenti i tržište.

Osiguranje kontrole kvalitete usmjereno je na stvaranje povjerenja u ispunjavanje osnovnih zahtjeva vezanih za kvalitetu.

Upravljanje kvalitetom skup je radnji opće funkcije upravljanja. Pomoću planiranja, praćenja, osiguravanja i poboljšavanja kvalitete određuje politiku kvalitete, ciljeve i odgovornosti. Nadogradnja je osiguranju i kontroli kvalitete te zauzima važno mjesto u strateškom planiranju svake organizacije.

Dokumentacija podataka neophodna je prilikom kontrole kvalitete. Dokumentacija treba biti jednostavna, razumljiva te treba pratiti sve aktivnosti vezane uz proizvod. Omogućuje lakšu kontrolu i pisani je dokaz o uspjehu ili neuspjehu u radu. Interna dokumentacija uključuje priručnike kvalitete, planove, specifikacije, obrasce, izvještaje te radne upute. Vanjska dokumentacija uključuje zakone, propise i norme (1).

1.2. Kontrola kvalitete u transfuzijskoj medicini

Transfuzijska medicina djelatnost je koja se bavi proizvodnjom krvnih pripravaka i lijekova iz ljudske krvi u svrhu liječenja bolesnika. Posebna je grana medicine kojoj su jednako značajni bolesnik i davatelj krvi (2).

Sve banke krvi moraju uspostaviti i održati sustav kvalitete temeljen na Direktivi EU 2003/94/EC Dobra proizvođačka praksa (DPP) i treba biti sukladan zahtjevima identificiranim u Direktivi 2005/62/EC i Prilogu Direktive 2005/62/EC *Standardi i specifikacije sustava kvalitete*.

Kvaliteta u transfuzijskoj medicini definirana je dovoljnim brojem neškodljivih i djelotvornih krvnih pripravaka, smanjivanjem pojavnosti nuspojava i ekonomičnosti u liječenju.

Za kvalitetu su odgovorne sve osobe uključene u proces krvnih banaka i bolničkih transfuzijskih jedinica. Upravljačke struke odgovorne su za sistematičan pristup kvaliteti te primjenu i održavanje sustava upravljanja kvalitetom. Osiguranje kontrole kvalitete treba biti uključeno u sva pitanja vezana za kvalitetu te pregledavati i odobravati sve dokumente vezane uz kontrolu kvalitete.

Sustav kvalitete treba biti osmišljen tako da osigurava kvalitetu te sigurnost krvi i krvnih pripravaka, kao i sigurnost davatelja i korisničku službu (1).

1.3. Krvni pripravci

Krvni pripravci lijekovi su biološkog podrijetla. Proizvode se uzimanjem krvi od davatelja, njezinim miješanjem s antikoagulantnom otopinom, laboratorijskim testiranjem i proizvodnjom, gdje se s više postupaka koncentrira aktivni sastojak, izdvajaju nepotrebni sastojci i smanjuje količina neaktivnih i/ili štetnih tvari.

Zakonom o krvi i krvnim pripravcima, u Republici Hrvatskoj regulirano je testiranje krvi davatelja na biljege hepatitisa B, biljege hepatitisa C, HIV 1/2 i sifilis (3,4).

Stanični su pripravci eritrocitni pripravci, trombocitni pripravci, granulocitni pripravci, i krioprecipitat te derivati plazme. Skladištenje pripravaka ovisi o samoj vrsti pojedinoga krvnog pripravka.

Obilježavanje pripravaka sukladno je relevantnom nacionalnom zakonodavstvu i međunarodnim sporazumima. Podatci koji moraju biti navedeni na naljepnici ili letku s podacima o pripravku jesu:

- identifikacijski podatci proizvođača
- jedinstveni identifikacijski broj pripravka
- naziv krvnog pripravka

- ABO i RhD grupe
- fenotip doze
- datum uzimanja krvi
- datum isteka roka trajanja
- naziv antikoagulantne otopine
- dodatni podatci o pripravku: ozračen
- volumen krvnog pripravka
- temperatura skladištenja (5).

1.3.1. Puna krv

Puna krv primarni je pripravak i koristi se kao početni materijal za daljnju preradu. Nema primjenu u transfuzijskom liječenju. Doza pune krvi fizikalnim se postupcima, najčešće centrifugiranjem, razdvaja na pojedine sastojke krvi tako da najteži padaju na dno, a ostali u slojevima, što ovisi o specifičnoj težini pojedinog sastojka (6).

1.3.2. Koncentrat eritrocita

Koncentrat eritrocita dobiva se iz pune krvi centrifugiranjem kako bi se uklonila plazma. Koncentrat eritrocita bez sloja leukocita i trombocita pripravak je koji se dobiva uklanjanjem velikog udjela plazme i sloja leukocita i trombocita iz pune krvi. Za pripravu koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita primjenjuje se tehnika leukofiltracije.

1.3.3. Koncentrat trombocita

Obradom svježe krvi dobivaju se koncentrat trombocita najboljih karakteristika. Trombocitni pripravci osnova su u prevenciji i liječenju krvarenja kod bolesnika sa smanjenim brojem trombocita ili poremećenom njihovom funkcijom (hematološki, transplantirani, kardiokirurški bolesnici (7)).

Koncentrati trombocita dobivaju se različitim načinima pripreme: koncentrat trombocita - jedna doza, *pool* više doza u ili bez hranjive otopine, koncentrat trombocita sa smanjenim brojem leukocita dobiven aferezom u ili bez hranjive otopine i pripravci sa smanjenim brojem patogena.

Na Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek proizvode se koncentrati trombocita iz sloja leukocita i trombocita sa smanjenim brojem leukocita (KT POOL SBL) – *pool* više doza i koncentrati trombocita sa smanjenim brojem leukocita dobiveni aferezom (KT CELL SBL).

Skladištenje koncentrata trombocita jednako je za sve vrste pripravaka. Temperatura skladištenja mora biti +20°C i +24°C uz stalno miješanje, odnosno u agitatoru. Najdulje vrijeme skladištenja je 5 dana ili 7 dana uz odgovarajuće otkrivanje ili smanjenje bakterijske kontaminacije (5).

Koncentrat trombocita iz sloja leukocita i trombocita sa smanjenim brojem leukocita – *pool* više doza proizvodi se izravno iz sloja leukocita i trombocita dobivenog iz pune krvi, što je najbolja metoda, ili sekundarnom preradom, nakon *pooliranja* od 4 do 6 pojedinačnih doza koncentrata trombocita.

Koncentrat trombocita iz sloja leukocita i trombocita sa smanjenim brojem leukocita – *pool* više doza leukoreducirani je pripravak. Postupak leukofiltracije provodi se prije pohranjivanja pripravka (5).

Koncentrat trombocita sa smanjenim brojem leukocita dobiven aferezom pripravak je trombocita dobiven aferezom jednog darivatelja uz primjenu automatiziranog aparata za odvajanje stanica. Sadrži trombocite suspendirane u plazmi u količini koja je terapijski učinkovita (5).

1.3.4. Svježe smrznuta plazma

Pripravak svježe smrznute plazme dobiva se iz pune krvi ili postupkom plazmafereze. Najveći je dio plazme voda (90%) u kojoj se otopljene anorganske i organske tvari, a najvažnije su bjelančevine. Derivati plazme, odnosno lijekovi, koncentrati su faktora zgrušavanja, imunoglobulina, albumina i ostalih proteina plazme (5).

1.4. Kontrola kvalitete krvnih pripravaka

Kontrola kvalitete krvnih pripravaka usklađena je u potpunosti sa zahtjevima Direktive EU i Preporukama za proizvodnju, primjenu i osiguranje kvalitete krvnih pripravaka Vijeća Europe.

Sukladno planovima kvalitete i specifikacijama krvnih pripravaka provode se sve aktivnosti u kontroli kvalitete krvnih pripravaka. Određuju se kritički parametri i njihove granice te ih je potrebno mjeriti s učestalosti koja je statistički prihvatljiva i uz pomoć rezultata ovih mjerenja treba donijeti odluku je li proizvod u skladu sa zahtjevima kvalitete.

Kontrolira se najviše 1% proizvedenih krvnih pripravaka. Kontrolom se otkriva samo dio nesukladnih proizvoda, a i samim povećanjem kontrola ne mogu se otkriti svi nesukladni proizvodi. Poboľšanjem uvjeta proizvodnje povećava se i sama kvaliteta (5).

1.4.1. Učestalost testiranja, uzorkovanje i metode ispitivanja

Kontrola kvalitete krvnih pripravaka treba biti kontinuirana kako bi se osiguralo adekvatno statističko praćenje procesa. Mjesečni i tjedni planovi za kontrolu kvalitete izrađuju se prema opsegu proizvodnje u transfuzijskoj ustanovi.

Kontrola krvnih pripravaka koristi se metodom slučajnog odabira. Uzorak može biti uzorkovan u plastičnoj cjevčici, uzorak uzet iz vrećice predviđene za kontrolu kvalitete na sistemu za proizvodnju pripravka ili destruktivnom metodom kada je cijeli pripravak iskorišten. Uzorkovanje se mora izvesti tako da se ne narušava integritet samog pripravka.

Metode kontrole kvalitete krvnih pripravaka koje se statistički kontroliraju ovise o samoj vrsti kontrole kvalitete krvnog pripravka (1).

1.4.2. Zahtjevi kvalitete

Većinu parametara u statističkoj kontroli kvalitete i zahtjeve propisane standardima treba zadovoljiti minimalno 75% kontroliranih pripravaka. Krvni pripravci sa smanjenim brojem leukocita trebaju brojem leukocita udovoljiti zahtjeve kvalitete u 90%

kontroliranih pripravaka. Mikrobiološka čistoća treba zadovoljiti 100% zahtjevima kvalitete (1).

Zahtjevi i kontrola kvalitete koncentrata trombocita (Tablica 1).

Tablica 1. Zahtjevi i kontrola kvalitete koncentrata trombocita

| OBILJEŽJE KOJE SE PROVJERAVA | ZAHTJEVI | UČESTALOST KONTROLE |
|--------------------------------------|---|----------------------------|
| Volumen | > 40 ml / 60×10^9 trombocita | sve doze |
| Broj trombocita | > 2×10^{11} trombocita/pripravku | 1% svih doza |
| Ostatni leukociti | < 1×10^6 po dozi | 1% svih doza |
| pH (+22°C) na isteku roka valjanosti | > 6,4 za 22°C | 4 doze mjesečno |

1.4.3. Interpretacija rezultata i korektivne mjere

Kada rezultati ispitivanja odstupaju od propisanih, nužno je utvrditi razloge zbog kojih je došlo do odstupanja te provesti odgovarajuće korektivne mjere i kontrolirati njihovu uspješnost (1). Svaka nesukladnost prijavljuje se Osiguranju kontrole kvalitete.

1.5. Kontrola kvalitete trombocita dobivenih trombaferezom (KT CELL SBL) i trombocita dobivenih trombocitno–leukocitnog međusloja (KT POOL SBL) – *pool* više doza

Kontrola kvalitete trombocita dobivenih trombaferezom i trombocita dobivenih iz trombocitno–leukocitnog međusloja podrazumijeva način uzorkovanja, kontrolu volumena samog pripravka, mjerenje hematoloških vrijednosti, određivanje broja ostalih leukocita, određivanje pH i sterilnosti pripravka. Rezultati se unose u pisanom i u informatičkom obliku. Na kraju mjeseca rezultati se statistički obrađuju.

1.5.1. Uzorkovanje i vaganje pripravka

Uzorci se uzimaju metodom slučajnog odabira, pri čemu se ne smije narušiti integritet pripravka. Završetkom proizvodnje pripravka koncentrata trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja ili završetkom procesa trombaferoze pripravak miruje 2 sata na sobnoj temperaturi, a zatim se odlaže u agitator na temperaturu +20°C i +24°C uz stalno miješanje.

Gotovi uzorak za kontrolu važe se na vagi i zatim se male vrećice na sistemu, predviđene za kontrolu kvalitete, pune uzorkom.

1.5.2. Mjerenje hematoloških vrijednosti

Hematološka mjerenja izvode se na automatskom hematološkom analizatoru Mindray BC-3600-kvantitativnom analizatoru i brojaču za In vitro dijagnostičku uporabu. Prije početka mjerenja uzoraka obavezno se provodi dnevna kontrola kvalitete.

Za uzorkovanje pripravka koji će biti kontroliran koristi se EDTA epruveta. Kod pripravka koncentrata trombocita određuje se broj trombocita izražen $\times 10^9/L$.

Rezultat se unosi u informatičke forme u kojima se podatci analiziraju (8).

1.5.3. Određivanje broja ostatnih leukocita

Mjerenje ostatnih leukocita izvodi se na uređaju Adam rWBC Cell Counting System. Uređaj koristi princip fluorescentnog bojenja (propidij jodid), LED i CCD tehnologiju. Kamera ugrađena u uređaj broji leukocite obojane propidij jodidom u jednokratnom slajdu. Rezultat je broj registriranih leukocita prikazan na displeju uređaja.

Mjerenje kontrolnih uzoraka izvodi se nakon dnevne kontrole kvalitete uređaja.

Uzorak za mjerenje priprema se tako da se u 100 μL uzorka dodaje 400 μL r-Solution otopine za razrjeđivanje uzorka. Pripremljeni uzorak lagano se promućka, pipetom uzme 100 μL i pažljivo napuni slajd koji se nakon 4 – 7 minuta mirovanja stavlja na očitavanje u aparat.

Rezultat se unosi u informatičku formu koja izračunava broj ostatnih leukocita u pripravku (9).

1.5.4. Određivanje pH i sterilnosti

Vrijednosti pH mjere se u koncentratima trombocita dan nakon isteka roka uporabe. Za uzorkovanje pripravka koji će biti kontroliran, koristi se epruveta bez antikoagulansa uz pomoć beziglenog pripoja. Kapilarnom silom sadržaj puni kapilaru uronjenu u uzorak. Rezultati se očitavaju na aparatu za acidobazni status.

Sterilnost se kontrolira uzimanjem uzorka iz koncentrata trombocita dobivenih iz trombocitno–leukocitnog međusloja – *pool* više doza po isteku roka uporabe.

Uzorak se uzima uporabom beziglenog pripoja u bočicu za anaerobnu i aerobnu kultivaciju i odnosi u Mikrobiološki laboratorij. Gotove rezultate upisuje se u odgovarajući obrazac.

2. Cilj

Ciljevi ovoga istraživanja:

1. istražiti rezultate kontrole kvalitete trombocita dobivenih trombaferezom
2. istražiti rezultate kontrole kvalitete trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja
3. usporediti rezultate kontrole kvalitete trombocita dobivenih trombaferezom i iz trombocitno-leukocitnog međusloja
4. ukazati na važnost kontrole kvalitete
5. potvrditi opravdanost upotrebe oba načina proizvodnje pripravaka trombocita.

3. Materijali i metode

3.1. Materijali

Materijali koji se koriste u istraživanju nalazi su Laboratorija kontrole kvalitete (LKK) pripravaka trombocita dobivenih postupkom trombaferoze (KT CELL SBL) i iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL) dobrovoljnih davatelja krvi (DDK) u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Osijek, u periodu od 1. svibnja 2015. godine do 31. prosinca 2016. godine.

3.2. Metode

Za potrebe istraživanja bit će korišteni nalazi kontrole kvalitete trombocita dobivenih trombaferozom i iz trombocitno-leukocitnog međusloja retrospektivno iz baze podataka LKK Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

3.2.1. Proizvodnja pripravaka KT POLL SBL i KT CELL SBL

Proizvodnja pripravaka KT POLL SBL započinje unutar šest sati od uzimanja doze pune krvi DDK, u četverostruke „top and bottom“ vrećice s citrat-fosfat-dekstrozom (CPD) kao antikoagulantnom otopinom, proizvođača MacoPharma ili Fresenius. Dvostrukim diferencijalnim centrifugiranjem, 3000 okretaja/minuti, 15 minuta na 22°C, dobija se sloj leukocita i trombocita, tzv. „buffy coat“ (BC). BC se odvaja na aparatu za automatsko razdvajanje centrifugirane krvi na krvne komponente, Giotto. Unutar 24 sata od uzimanja pune krvi, treba započeti druga faza proizvodnje prilikom koje se četiri doze BC-a i jedne doze plazme iste krvne grupe i Rh faktora, sterilno spoje sa vrećicom za pooliranje. Vrećice BC-a istaču se u vrećicu za pooliranje i ispiru plazmom. Nakon toga slijedi blago centrifugiranje na 1850 okretaja/minuti, 6 minuta na 22°C. Takav pripravak ponovo se odvaja na Giotto aparatu kako bi odvojili pool od ostatka eritrocita. Iz pripravka istiskuje se zrak u vrećicu koja je nalazi originalno na vrećici za pooliranje i

služi za uzimanje pripravka u svrhu kontrole kvalitete. Gotovi pripravak trombocita odlaže se u agitator na $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ na pet dana od datuma uzimanja krvi.

Proizvodnja pripravaka KT CELL SBL postupak je kojim se iz krvi jednog davatelja, na automatiziranom aparatu za odvajanje stanica Amicus, dobija gotovi pripravak trombocita. Postupkom trombaferoze, od krvi davatelja spojenog ekstrakorporalnom cirkulacijom s centrifugom gdje se odvajaju trombociti, dobije se pripravak trombocita koji je ekvivalentan broju od šest do osam pripravaka proizvedenih od 450 mL krvi. Takav pripravak trombocita odlaže se u agitator na $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ na pet dana od datuma postupka trombaferoze.

3.2.2. Analiziranje i kontrola pripravaka KT POLL SBL i KT CELL SBL

Mjerenje, učestalost i prihvatljivi rezultati pripravka koncentrata trombocita obuhvaćaju kontrolu volumena pripravka, sadržaj trombocita i leukocita u pripravku te na kraju roka uporabe pH i sterilnost pripravka. Pripravci su kontrolirani na automatskom hematološkom analizatoru Mindray BC-3600 i automatskom uređaju Adam rWBC. Mindray BC-3600 je kvantitativni, automatski hematološki analizator i brojač za 3-dijelnu diferencijalnu krvnu sliku za *In vitro* dijagnostičku upotrebu u kliničkim laboratorijima. Svrha ovoga analizatora prepoznati je normalne rezultate pacijenta/krvnog pripravka, sa svim normalnim sistemski generiranim parametrima te označiti ili identificirati rezultate koji zahtijevaju dodatno proučavanje. Adam rWBC automatski je uređaj koji broji ostatne leukocite u krvnim pripravcima na principu fluorescentnog bojenja (propidij jodid), LED i CCD tehnologiju.

Težina pojedinog pripravka važe se na kontroliranim vagama te unosi u informatički obrazac u kojem se izračunava volumen samog pripravka.

pH pripravka kontrolira se po isteku roka uporabe samog pripravka. Uzorak se uzima tako da se njime puni kapilara te očitava na aparatu za acidobazni status. Ova mjerenja, za potrebe Laboratorija kontrole kvalitete, izvodi Hitni laboratorij Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mikrobiološka čistoća, odnosno sterilnost pripravka kontrolira se uzimanjem uzorka KT POOL SBL po isteku roka uporabe. Uzorak je uzet uporabom beziglenog pripoja u bočice za anaerobnu i aerobnu kultivaciju te odnesen u Mikrobiološki laboratorij na analizu na

aparatu BACT/ALERT, automatskom kolorimetrijskom sustavu za detekciju mikrobiološkog rasta.

3.3. Statistička obrada podataka

Rezultati analize prikazani su grafički i tablično, s prikazom apsolutnih vrijednosti i proporcija za svaku pojedinu skupinu pripravaka trombocita.

Za usporedbu kategorijskih podataka između nezavisnih skupina korišten je Hi-kvadrat test, a po potrebi Fisherov egzaktni test. Razina statističke značajnosti postavljena je na $\alpha=0,05$, a analiza je rađena statističkim alatom MedCalc (inčica 14.12.0, MedCalc Software bvba).

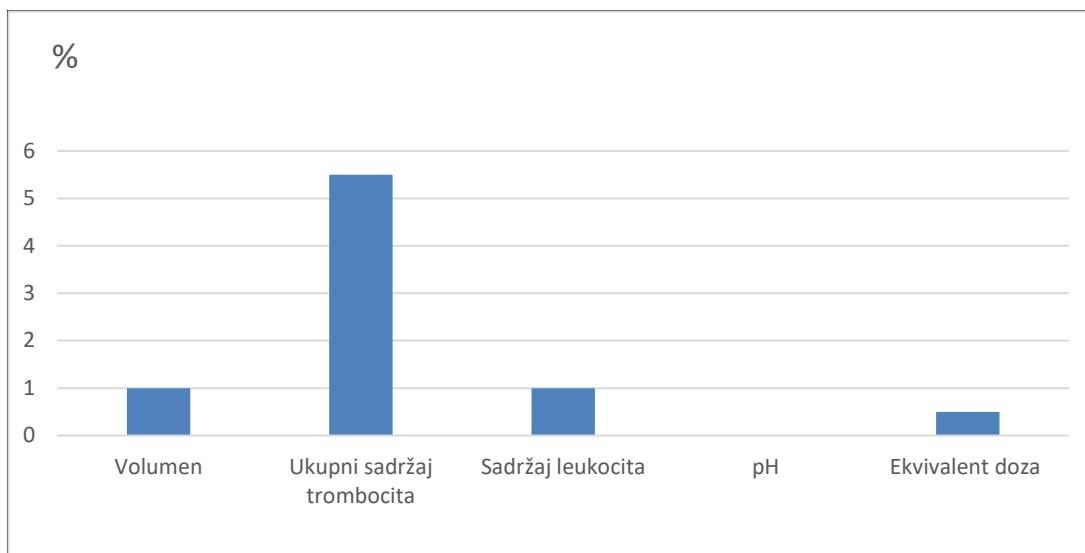
4. Rezultati

U ovom radu obrađeno je 200 nalaza kontrole kvalitete pripravaka trombocita sa smanjenim brojem leukocita dobivenih postupkom trombaferoze (KT CELL SBL) i 200 nalaza kontrole kvalitete pripravaka trombocita sa smanjenim brojem leukocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL).

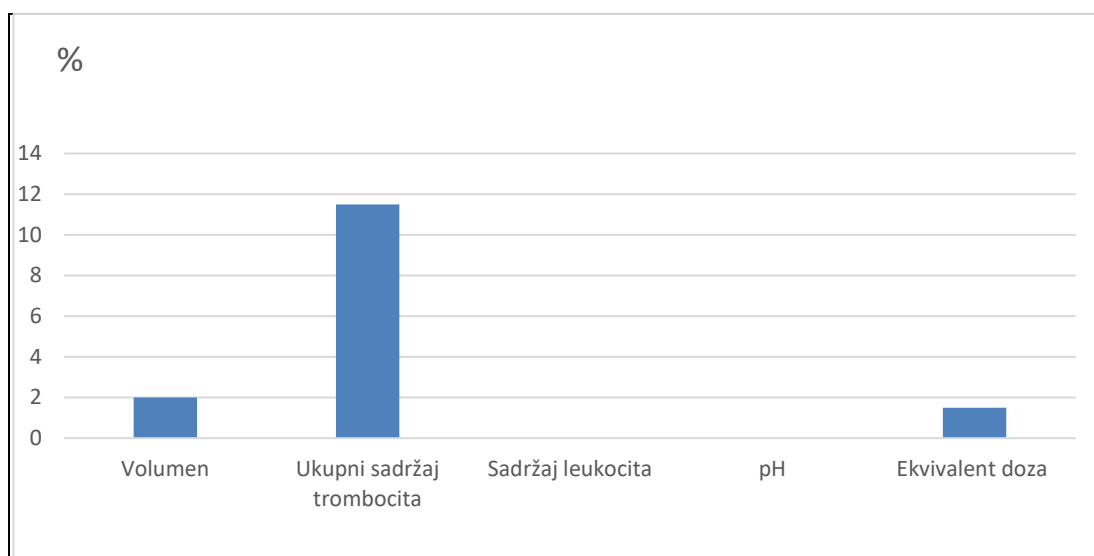
Kontrola kvalitete trombocita dobivenih trombaferozom i trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja podrazumijeva način uzorkovanja, kontrolu volumena samog pripravka, mjerenje hematoloških vrijednosti, određivanje broja ostalih leukocita, određivanje pH i mikrobiološka čistoća, odnosno sterilnosti pripravka.

Većinu parametara u statističkoj kontroli kvalitete i zahtjeve propisane standardima treba zadovoljiti minimalno 75% kontroliranih pripravaka. Trombocitni pripravci sa smanjenim brojem leukocita trebaju brojem leukocita udovoljiti zahtjeve kvalitete u 90% kontroliranih pripravaka. Mikrobiološka čistoća mora zadovoljiti 100% zahtjevima kvalitete.

Postotak nesukladnih uzoraka trombocita dobivenih postupkom trombaferoze i iz trombocitno-leukocitnog međusloja pojedinim prikazan je grafički (Slika 1 i Slika 2).



Slika 1. Postotak nesukladnih uzoraka pripravaka trombocita dobivenih postupkom trombaferoze (KT CELL SBL) po pojedinim kriterijima kvalitete



Slika 2. Postotak nesukladnih uzoraka pripravaka trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL) po pojedinim kriterijima kvalitete

Zahtjevnost za pojedine kriterije kontrole kvalitete uzoraka koncentrata trombocita dobivenih postupkom trombaferoze (KT CELL SBL) iznosi 75 %, osim za sadržaj leukocita za koji iznosi 90 %. Statistički je značajno manji broj nesukladnih nalaza KT CELL SBL (Hi-kvadrat test, $P < 0,001$) u usporedbi s dozvoljenim brojem nesukladnih nalaza za svaki pojedini kriterij (Tablica 2).

Tablica 2. Usporedba broja nesukladnih nalaza pripravaka trombocita dobivenih trombaferozom (KT CELL SBL) sa zahtjevnostima kontrole kvalitete

| Obilježja kontrole kvalitete | Broj nesukladnih nalaza od ukupno učinjenih nalaza | | P* |
|------------------------------|--|--------------------|--------|
| | KT CELL SBL | Prema zahtjevnosti | |
| Volumen | 2/200 | 50/200 | <0,001 |
| Ukupni sadržaj trombocita | 11/200 | 50/200 | <0,001 |
| Sadržaj leukocita | 2/200 | 20/200 | <0,001 |
| pH | 0/80 | 20/80 | <0,001 |
| Ekvivalent doza | 1/200 | 50/200 | <0,001 |

*Hi-kvadrat test

Zahtjevnost za pojedine kriterije kontrole kvalitete uzoraka koncentrata trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL), *pool* više doza, također iznosi 75 %, osim za sadržaj leukocita za koji iznosi 90 %. Statistički je također značajno manji broj nesukladnih nalaza KT POOL SBL (Hi-kvadrat test, $P < 0,001$) u usporedbi s dozvoljenim brojem nesukladnih nalaza za svaki pojedini kriterij (Tablica 3).

Tablica 3. Usporedba broja nesukladnih nalaza pripravaka trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL) sa zahtjevnostima kontrole kvalitete

| Obilježja kontrole kvalitete | Broj nesukladnih nalaza od ukupno učinjenih nalaza | | P* |
|------------------------------|--|--------------------|--------|
| | KT POOL SBL | Prema zahtjevnosti | |
| Volumen | 4/200 | 50/200 | <0,001 |
| Ukupni sadržaj trombocita | 23/200 | 50/200 | <0,001 |
| Sadržaj leukocita | 0/200 | 20/200 | <0,001 |
| pH | 0/80 | 20/80 | <0,001 |
| Ekvivalent doza | 3/200 | 50/200 | <0,001 |

*Hi-kvadrat test

Usporedbom broja nesukladnih nalaza pripravaka trombocita dobivenih postupkom trombaferoze (KT CELL SBL) i broja nesukladnih nalaza pripravaka trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL), za svaki pojedini kriterij, dobivena je značajna razlika za kriterij „Ukupni sadržaj trombocita“ (Hi-kvadrat test, $P = 0,03$).

Značajno je više nesukladnih nalaza pripravaka trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL) s obzirom na kriterij ukupnog broja trombocita (Tablica 4).

Tablica 4. Usporedba broja nesukladnih nalaza KT CELL SBL i KT POOL SBL

| Obilježja kontrole kvalitete | Broj nesukladnih nalaza od ukupno učinjenih nalaza | | P |
|------------------------------|--|-------------|--------------|
| | KT CELL SBL | KT POOL SBL | |
| Volumen | 2/200 | 4/200 | 0,69* |
| Ukupni sadržaj trombocita | 11/200 | 23/200 | 0,03† |
| Sadržaj leukocita | 2/200 | 0/200 | 0,50* |
| pH | 0/80 | 0/80 | >0,99* |
| Ekvivalent doza | 1/200 | 3/200 | 0,62* |

*Fisherov egzaktni test

†Hi-kvadrat test

Zahtjevnost za kriterij kontrole kvalitete mikrobiološke čistoće uzoraka koncentrata trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja (KT POOL SBL), *pool* više doza, iznosi 100 %. U istraživanom periodu, od 1. svibnja 2015. godine do 31. prosinca 2016. godine kontrolirano je 200 uzoraka. Svi uzorci zadovoljili su 100% kriterije zahtjevnosti kontrole kvalitete.

5. Rasprava

Kvaliteta svih krvnih pripravaka od izuzetne je važnosti za sigurnost i učinkovitost transfuzijskog liječenja. Trombocitni pripravci primjenjuju se u sprječavanju i liječenju krvarenja kod trombocitopatija ili trombocitopenija. Imaju posebno mjesto među lijekovima proizvedenim iz ljudske krvi. Njihova temperatura skladištenja, koja je od 20°C do 24°C, izuzetno pogoduje rastu bakterija (7). Kontrola kvalitete pripravka trombocita i svih drugih krvnih pripravaka mora biti na visokom nivou. Zbog toga kontrola kvalitete se prati od samog uzimanja krvi DDK, proizvodnje pripravaka te do samog skladištenja. Kontrola samog pripravka trombocita obuhvaća volumen pripravka, broj trombocita, pH, broj ostalih leukocita te mikrobiološku čistoću. Pad pH ispod 6,2 označava gubitak vijabilnosti trombocita, a smanjeni broj trombocita u pripravku označava neadekvatan i nekoristan terapijski pripravak. Visoki broj leukocita u pripravku omogućava prijenos i zarazu pojedinim patogenima.

U smislu očuvanja kvalitete i funkcije krvnog pripravka koncentrat trombocita predstavlja problem u transfuzijskoj medicini. Napravljena su mnoga istraživanja u svrhu poboljšanja kvalitete pripravaka trombocita i produženjem njihova roka valjanosti te o tome koji pripravak trombocita, KT CELL SBL i KT POOL SBL, ima prednost u liječenju. Veliki broj istraživanja dokazao je da se tijekom godina poboljšavaju uvjeti načina proizvodnje i čuvanja pripravaka trombocita. Parametri koji se prate u kontroli kvalitete također su zadovoljavajući. Rok valjanosti pripravaka trombocita u većini zemalja je još uvijek pet dana, ali uvođenjem postupka inaktivacije patogena proces sakupljanja, proizvodnje i skladištenja pripravaka trombocita će se standardizirati, a i sami rok pripravka produžiti će se na sedam dana. Klinički zavod za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek, od ove godine kreće u postupak inaktivacije patogena pripravaka trombocita.

U znanstvenom radu *Zammit, 2006* govori se o tri važna kriterija za pravilnu provjeru kvalitete pripravka trombocita: broj trombocita, bakterijska kontaminacija i pH, te rađeni su još i ostali leukociti, eritrociti, glukoza i LDH. Istraživanje je dovelo do zaključka da kvaliteta trombocitnog pripravka prvi i sedmi dan je u minimalnim odstupanjima što je i svrha kontrole kvalitete (10).

Pripravci trombocita i KT CELL SBL i KT POOL SBL opravdani su za kliničku uporabu. U Njemačkoj je 2007. godine uporaba pripravaka KT CELL SBL bila 60%, a KT POOL SBL 40% (11). Što se tiče ostalih Europskih zemalja uporaba pripravka KT CELL i KT

POOL bila je heterogena. U Europi dominira pripravak KT POOL SBL u odnosu na Ameriku gdje je KT CELL SBL u prednosti (12).

Gledano sa donorske strane, proizvodnja pripravaka KT POOL SBL (iz BC-a) nema nikakve rizike za davatelja, dok kod trombaferaza kod davatelja se znaju pojaviti akutne reakcije (u malom neznačajnom odnosu na KT POOL SBL) zbog same dužine procesa i postupka afereze (13).

U ovom radu na temelju retrospektivne analize nalaza kontrole kvalitete, iz perioda 1. svibnja 2015. godine do 1. prosinca 2016. godine, na 200 pripravaka KT CELL SBL i 200 pripravaka KT POOL SBL statistički je utvrđen značajno mali broj nesukladnih nalaza u usporedbi sa zahtjevima kontrole kvalitete. Zahtjevnost za kriterij volumena pripravaka KT CELL SBL i KT POOL SBL iznosi 75%. Analizom je utvrđeno 1% nesukladnih pripravaka KT CELL SBL i 2% nesukladnih pripravaka KT POOL SBL. Ukupni sadržaj trombocita u pripravcima KT CELL SBL i KT POOL SBL zahtjeva 75% sukladnih pripravaka kako bi se zadovoljili kriteriji kontrole kvalitete. Analizom je utvrđeno 5,5% nesukladnih pripravaka KT CELL SBL i 11,5% nesukladnih pripravaka KT POOL SBL. Sadržaj ostatnih leukocita u pripravcima KT CELL SBL i KT POOL SBL zahtjeva 90% sukladnih pripravaka kako bi se zadovoljili kriteriji kontrole kvalitete. Analizom je utvrđeno 1% nesukladnih pripravaka KT CELL SBL i svih 100% pripravaka KT POOL SBL zadovoljilo je kriterije kontrole kvalitete. pH pripravaka na kraju roka uporabe treba 75% zadovoljiti zahtjeve kriterija kontrole kvalitete. Analizom je utvrđeno 100%-tno zadovoljavanje kriterija kontrole kvalitete u obje vrste pripravaka. Ekvivalent doza treba 75% zadovoljavati zahtjeve kriterija kontrole kvalitete. Analizom je utvrđeno 0,5% nesukladnih pripravaka KT CELL SBL i 1,5% nesukladnih pripravaka KT POOL SBL. Usporedbom broja nesukladnih nalaza pripravaka KT CELL SBL i KT POOL SBL, za svaki pojedini kriterij, dobivena je značajna razlika za kriterij „Ukupni sadržaj trombocita“ (Hi-kvadrat test, $P=0,03$). Značajno je više nesukladnih nalaza pripravaka KT POOL SBL s obzirom na kriterij ukupnog broja trombocita. Mikrobiološka čistoća, odnosno sterilnost pripravaka KT POOL SBL zahtjeva 100%-tno zadovoljavanje kriterija kontrole kvalitete, što je i ostvareno. Obje vrste pripravak trombocita opravdavaju svoj način proizvodnje i uporabu. Rezultati ovog istraživanja uvelike se podudaraju sa rezultatima istraživača koji su se bavili problematikom i kontrolom kvalitete pripravaka trombocita.

6. Zaključci

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- proizvedeni pripravci KT CELL SBL ispunjavaju zahtjeve kontrole kvalitete u svim zadanim kriterijima
- proizvedeni pripravci KT POOL SBL ispunjavaju zahtjeve kontrole kvalitete u svim zadanim kriterijima
- usporedbom broja nesukladnih nalaza pripravaka KT CELL SBL i KT POOL SBL dobivena je značajna razlika samo za kriterij „Ukupni sadržaj trombocita“ kod pripravaka KT POOL SBL-a
- mikrobiološka čistoća pripravka KT POOL SBL 100% zadovoljava zahtjevnosti kriterija kontrole kvalitete
- svi kriteriji zahtjevnosti pripravaka KT CELL SBL i KT POOL SBL, proizvedenih u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek, u istraživanom periodu su zadovoljeni
- pripravci KT CELL SBL i KT POOL SBL ispunjavaju zahtjevnosti kontrole kvalitete i propisanih standarda te samim time opravdana je uporaba obje vrste pripravaka.

7. Sažetak

Cilj: Cilj ovoga rada je istražiti i usporediti nalaze kontrole kvalitete pripravaka trombocita dobivenih iz trombocitno-leukocitnog međusloja i dobivenih tromboferezom.

Materijali i metode: U svrhu istraživanja korišteni su nalazi kontrole kvalitete za pripravke KT CELL SBL i KT POOL SBL, u periodu od 1. svibnja 2015. godine do 31. prosinca 2016. godine. Kriteriji: volumen pripravka, broj trombocita, broj ostalih leukocita, pH pripravka, mikrobiološka čistoća analizirani su na automatskom hematološkom analizatoru Mindray BC-3600, automatskom uređaju Adam rWBC, aparatu za acidobazni status i u mikrobiološkom laboratoriju na aparatu BACT/ALERT. Rezultati analize prikazani su grafički i tablično, s prikazom apsolutnih vrijednosti i proporcija za svaku pojedinu skupinu pripravaka trombocita. Za usporedbu kategorijskih podataka između nezavisnih skupina korišten je Hi kvadrat test, a po potrebi Fisherov egzaktni test. Razina statističke značajnosti postavljena je na $\alpha=0,05$, a analiza je rađena statističkim alatom MedCalc (inčica 14.12.0, MedCalc Software bvba).

Rezultati: Iz dobivenih rezultata dobivena je značajna razlika za kriterij „Ukupni sadržaj trombocita“ gdje pripravci KT POOL SBL imaju nešto više nesukladnih nalaza u odnosu na KT CELL SBL. Svi rezultati ispunjavaju zahtjevnosti i standarde kontrole kvalitete.

Zaključak: Istraživanjem zaključeno je kako obje vrste pripravaka ispunjavaju zahtjevnosti kontrole kvalitete i propisane standarde u određenim kriterijima: volumen pripravka, broj trombocita, broj ostalih leukocita, pH pripravka te mikrobiološka čistoća pripravaka KT POOL SBL. Broj nesukladnih pripravaka nalazi u dozvoljenim granicama zahtjevnosti kontrole kvalitete. Pripravci KT CELL SBL i KT POOL SBL nemaju značajne razlike u svojim svojstvima te samim time opravdavaju uporabu obje vrste pripravka i njihove načine proizvodnje.

Ključne riječi: Banka krvi; kontrola kvalitete; trombociti; trombofereza (trombofereza)

8. Summary

Objective: The aim of this study is to research and compare the findings of the quality control of platelet concentrates derived from buffy coat and those prepared by thrombocytapheresis.

Materials and Methods: For the purpose of the study, quality control data for KT CELL SBL and KT POOL SBL were used in the period from May 1, 2015 to December 31, 2016. Criteria: volume of preparation, platelet count, number of remaining leukocytes, pH preparation, microbial purity were analyzed on the automatic hematological analyzer Mindray BC-3600, Adam rWBC automatic device and acid-status apparatus and in the BACT / ALERT microbiological laboratory. The results of the analysis are shown graphically and table-like, showing the absolute values and proportions for each individual platelet composition group. To compare the categorical data between the independent groups, the Hi squared test was used, and if necessary, the Fisher's exact test. The level of statistical significance was set at $\alpha = 0.05$, and the analysis was performed by the statistical tool MedCalc (Inca 14.12.0, MedCalc Software bvba).

Results: From the obtained results, a significant difference was found for the criterion "Total Platelet Content" where KT POOL SBL formulations had slightly more non-conforming findings compared to KT CELL SBL. All results meet the requirements and standards of quality control.

Conclusion: The study concluded that both types of preparations meet the quality control requirements and standards prescribed by the following criteria: volume, platelet count, number of remaining leukocytes, pH of the product and microbiological purity of the preparations KT POOL SBL. The number of incompatible preparations is within the limits of the requirements of the quality control. The preparations of KT CELL SBL and KT POOL SBL have no significant differences in their properties and therefore is the use of both products justified, as well as their production procedures.

Key words: Blood Bank; quality control; platelets; thrombocytapheresis

9. Literatura:

1. Vuk T. i suradnici. Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini. Zagreb: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2002.
2. Samardžija M. Krvlju prenosive bolesti. Osijek: Medicinski fakultet Osijek; 2011.
3. Pravilnik o krvi i krvnim sastojcima (NN 14/99). Dostupno na adresi:
<http://cadial.hidra.hr/search.php?lang=hr=pravilnik+o+krvi+i+krvnim+pripravcima>
Datum pristupa: 27.10.2017.
4. Zakon o krvi i krvnim pripravcima (NN 79/06). Dostupno na adresi:
<https://www.zakon.hr/z/511/Zakon-o-krvi-i-krvnim-pripravcima>
Datum pristupa: 27.10.2017.
5. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 19th Edition. Strasbourg, france: European Committee (Partial Agreement) on Blood Transfusion (CD-P-TS), Council of Europe; 2017. (289-316; 325-337; 377-381str)
6. Grgičević D. i Vuk T. Imunohematologija i transfuzijska medicina. Zagreb: Medicinska naklada; 2000.
7. Grgičević D. i suradnici. Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada; 2006. (60-74; 116-129)
8. Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Mindray BC-3600 Auto Hematology Analyzer, Operator`s Manual. China; 2013.
9. NanoEnTek. ADAM rWBC Instruction Manual. Korea: NanoEnTek Inc. (HQ); 2013.
10. Zammit V: In vitro assessment of platelets stored for seven days in a platelet additive medium- A pilot study; University of Wolverhampton School of Applied Sciences Division of Biomedical Science; Malta, 2006.
11. Henseler O, Heiden M, Haschberger B, Hesse J, Seitz R: Report on notifications pursuant to Section 21 German Transfusion Act for 2007. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2009; 52:715-731
12. Slichter SJ: Platelet transfusion therapy. Hematol Oncol Clin North Am 2007; 21:697-729
13. Schrezenmeier H, Seifried E: Buffy-coat-derived pooled platelet concentrates and apheresis platelet concentrates: which product type should be preferred? Vox Sanguinis 2010; 99:12-15

14. Heuft HG, Mende W, Blasczyk R: A general change of the platelet transfusion policy from apheresis platelet concentrates to pooled platelet concentrates is associated with a sharp increase in donor exposure and infection rates. *Transfus Med Hemother* 2008; 35:106-113
15. Osselaer JC, Doyen C, Defoin L, Debry C, Goffaux M, Messe N, Van HM, Bosly A, Lin JS, Lin L, Corash L: Universal adoption of pathogen inactivation of platelet components: impact on platelet and red blood cell component use. *Transfusion* 2009; 49:1412-1422
16. Levin E, Jenkins C, Culibrk B, Gyöngyössi-Issa MI, Serrano K, Devine DV. Development of a quality monitoring program for platelet components: a report of the first four years experience at Canadian Blood Services. *Transfusion*. 2012 April; 52(4):810-818

10. Životopis

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Maja Dalšašo

Datum i mjesto rođenja: 27. ožujka 1984., Gradačac, BiH

Adresa stanovanja: Ulica Jela 31, Osijek

E-mail: majas7777@yahoo.com

OBRAZOVANJE

1990. – 1998. - osnovno obrazovanje

1998. – 2002. - Medicinska škola Osijek, smjer: zdravstveno-laboratorijski tehničar

2011. – 2014. - Sveučilišni preddiplomski studij Medicinsko laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu Osijek

ZAPOSLENJE

2005. - Klinički zavod za transfuzijsku medicinu (do danas),
Klinički bolnički centar Osijek