

Standardní operační postup (SOP)

CNRDD/P05/verze01

Posuzování kvality štěpu

1. Cíl

Cílem je ověřit a dokumentovat předpokládanou kvalitu transplantátu hemopoetických progenitorových buněk. Posouzení kvality štěpu probíhá v režii odběrového zařízení, které je akreditovaným tkáňovým zařízením.

2. Rozsah působnosti

laboranti odběrového centra

lékaři odběrového centra

3. Kompetence a zodpovědnosti

3.1. laboranti: provádí příslušná vyšetření, výpočty a zaznamenávají výsledky

3.2. lékaři: kontrolují a schvalují výsledky měření, řeší atypické nálezy nebo výsledky mimo očekávané meze

4. Zkratky a definice

WBC: leukocyty

NC: nukleární buňky (zahrnují všechny jaderné krvinky, především leukocyty ale i jaderné erytroidní buňky)

CD34+ bb.: hemopoetické progenitorové buňky identifikované podle povrchního antigenu CD34, který exprimují

MNC: mononukleární buňky (frakce leukocytů), zahrnují lymfocyty a monocyty

5. Přístroje a materiál

5.1. hematologický analyzátor

5.3. elektronické váhy

5.2. průtokový cytometr

5.4. mikroskop, Bürkerova komůrka

6. Postup

6.1. Požadavky na kvalitu štěpu

kontrolovaný parametr	požadavky na jakost	frekvence kontrol	kontrolu provádí
množství jaderných buněk/kg hmotnosti příjemce	$> 2.0 \times 10^8$ pro alogenní transplantaci	všechny odběry	odběrové centrum
množství CD34+ buněk/kg hmotnosti příjemce	$> 3.5 \times 10^6$ pro alogenní transplantaci	všechny odběry	odběrové centrum
životnost leukocytů	$> 90 \%$	všechny odběry	odběrové centrum
sterilita	sterilní	všechny odběry	ITEST plus s.r.o.

protilátky anti- HIV, p24 Ag	negativní schválenou screeningovou zkouškou	všechny odběry	virologická laboratoř TO
HBsAg	negativní schválenou screeningovou zkouškou	všechny odběry	virologická laboratoř TO
protilátky anti- HBc	negativní schválenou screeningovou zkouškou	všechny odběry	virologická laboratoř TO
protilátky anti- HCV	negativní schválenou screeningovou zkouškou	všechny odběry	virologická laboratoř TO
syfilis	negativní schválenou screeningovou zkouškou	všechny odběry	virologická laboratoř TO
ABO, Rh(D)	určení skupiny	první odběr	krevní sklad TO
HLA	typizace I. a II. třídy	všechny odběry	HLA laboratoř ČNRDD
protilátky anti- CMV fakultativně	negativní schválenou screeningovou zkouškou	podle požadavků	virologická laboratoř TO

6.2. Ukazatele kvality

6.2.1. Hematologické parametry

	parametr	zkratka	jednotka
1.	buněčnost	WBC	$\times 10^9/l$
2.	počet nukleárních buněk na hmotnost příjemce	NC/kg	$\times 10^8$
3.	procento CD34+ buněk	CD34+ %	%
4.	počet CD34+ buněk na hmotnost příjemce	CD34+/kg	$\times 10^6$
5.	absolutní počet T- lymfocytů	T- lymfo	$\times 10^{10}$
6.	počet T- lymfocytů na hmotnost příjemce	T- lymfo/kg	$\times 10^8$
7.	procento mononukleárních buněk	MNC %	%
8.	životnost	-	%

6.2.2. Testování sterility

- 6.2.2.1. Každý aferézni produkt i kostní dřeň musí být otestován na sterilitu. Kultivaci zajišťuje firma ITEST plus s.r.o. (blíže viz. SOP CNRDD/P06 *Testování sterility štěpu*).
- 6.2.2.2. Výsledek testu sterility, který je k dispozici za 2 – 3 týdny po odběru. Negativní výsledky se pouze zaznamenají. Všechny pozitivní výsledky musí lékař odběrového centra nahlásit do koordinačního centra registru (nejpozději následující den po obdržení výsledků).
- 6.2.2.3. Další postup, vyšetřování a eventuální nápravná opatření určuje lékař odběrového centra individuálně ve spolupráci s koordinačním centrem.

6.2.3. Infekční markery

- 6.2.3.1. U všech dárců musí být vyšetřeny infekční markery (anti-HIV 1/2, anti-HCV, HBsAg, anti-HBc, syfilis) screeningovými zkouškami. Sérologické testy nesmí být starší více než 30 dní.
- 6.2.3.2. Výsledky těchto testů musí být negativní. Pokud je indikován alogenní odběr dárce pozitivního v některém z testů, musí být toto rozhodnutí zdůvodněno a dokumentováno - vedoucí transplantačního centra, koordinátor registru.

Zároveň musí být k této skutečnosti získán informovaný souhlas dárce a příjemce.

6.2.4. Ověření krevní skupiny

- 6.2.4.1. Krevní skupina dárce musí být znovu zkontrolována v den odběru a porovnána s údajem z předchozího vyšetření. Oba výsledky musí souhlasit.
- 6.2.4.2. Pokud krevní skupina nesouhlasí, musí lékař odběrového centra informovat koordinátora registru, který provede vyšetření události.
- 6.2.4.3. Produkt nesmí být vydán k aplikaci, dokud není diskrepance vyřešena a zůstává uložen v odběrovém centru.

7. Kontrola kvality

- 7.1. Přesná metodika stanovení a hodnocení jednotlivých testů je dána postupy odběrového centra a jeho laboratoře (tkáňového zařízení).

8. Očekávané výsledky

- 8.1. Očekávané množství buněk v transplantátu je dáno požadavkem transplantačního centra a je uvedeno v žádosti o odběr.
- 8.2. Minimální nároky na obsah nukleárních a CD34+ buněk jsou uvedeny v tabulce. Při jejich nedosažení se jedná o suboptimální štěp:

parametr	požadované množství (kg hmotnosti příjemce)		
	NC x 10 ⁸ /kg	CD34+ x 10 ⁶ /kg	CD3+ x 10 ⁷ /kg
alogenní PBSC	-	≥ 3.5	-
alogenní BM	≥ 2.0	-	-
dárcovské lymfocyty	-	-	≥ 6.5

- 8.3. Pokud je při zpracování odběru zjištěno, že požadovaného množství nebylo dosaženo, musí být tato skutečnost oznámena koordináčnímu centru ČNRDD.
- 8.4. Při odběru PBSC se dosažení očekávaného výtěžku hodnotí až po uzavření celé série leukaferéz (tedy až po posledním odběru).

9. Dokumentace

- 9.1. Záznamová dokumentace je dána standardizovanými postupy odběrového centra a jeho laboratoře.
- 9.2. Základní data se odesílají transplantačnímu centru ve formě zprávy z odběru („collection report“), detailní informace poskytne odběrové centrum na vyžádání.

10. Formuláře

- 10.1. Collection report (CNRDD P01).

11. Související SOP

- 11.1. CNRDD/P06 *Testování sterility štěpu*

12. Různé

12.1. Kalkulace číselných hodnot

- 12.1.1. Kalkulace všech číselných hodnot v průběhu zpracování odběru a výroby produktů může provádět automaticky software.
- 12.1.2. Všechny výpočty však musí být ověřeny manuálně pracovníkem odběrového centra, aby se zejména odhalila chyba ve špatném zadání vstupních dat do programu.

13. Reference

- 13.1. A.Gee, Product Release Assays, GMP workshop 2000.

ZMĚNY/REVIZE:

datum:	revidoval/schválil:	podpis:	revize/změna*:
10.01.2009	Lysák/DL		implementace SOP
1.1.2010	Lysák/DL		Výroční revize, beze změn.
1.1.2011	Lysák/DL		Výroční revize, beze změn.
1.1.2012	Lysák/DL		Výroční revize, beze změn.
01.01.2013	Lysák/DL		Výroční revize, beze změn.
01.01.2014	Lysák/DL		Výroční revize, beze změn.
01.09.2016	Lysák/DL		výroční revize , shoda s WMDA 2017, beze změn
10.01.2018	Lysák		revize , beze změn

* silně vyznačeny pravidelné roční revize