

## Standardní operační postup (SOP)

### CNRDD/P06/verze01

## Testování sterility produktu

### 1. Cíl

Cílem je ověřit sterilitu odebraného transplantátu hemopoetických progenitorových buněk. Vyšetření zajišťuje odběrové centrum v rámci kontroly kvality transplantátu.

### 2. Rozsah působnosti

laborantka odběrového centra

lékař odběrového centra

### 3. Kompetence a zodpovědnosti

- 3.1. laborantka: provádí značení a odběr vzorků, vyplňování žádanek, přípravu vzorků k transportu, zakládání a zapisování výsledků.
- 3.2. lékař: kontroluje výsledky kultivací a odpovídá za řešení situace při případné pozitivitě zkoušky na sterilitu.

### 4. Zkratky a definice

- 4.1. zkouška na sterilitu: ověření sterility produktu podle postupu daného Českým Lékopisem

### 5. Přístroje a materiál

#### 5.1. Přístroje

- 5.1.1. Laminární box.

#### 5.2. Materiál

- 5.2.1. Sterilní 10 ml PNC lahvičky (ITEST plus s.r.o.) s T a TSB kultivační půdou (á 2,7 ml).


### 5. Postup

#### 6.1. Zdroje kontaminace produktů

##### 6.1.1. Odběr štěpu:

- 6.1.1.1. Kůže dárce při neúčinné dezinfekci místa vpichu nebo v důsledku kožních fragmentů zanesených do produktu při venepunkci.
- 6.1.1.2. Transientní bakteriémie v dárcově krvi v době odběru (chronické střevní infekce, enteritida, zubní nebo jiné invazivní lékařské ošetření, razantní čištění zubů u dárců se špatnou orální hygienou atd.).
- 6.1.1.3. Porušení uzavřeného systému při leukefaréze (obtížní získání žilního přístupu, závada na odběrovém setu) nebo kontaminace štěpu v rámci otevřeného systému při odběru a filtraci kostní dřeně na operačním sále.

##### 6.1.2. Zpracování štěpu:

 <p>ČESKÝ NÁRODNÍ REGISTR DÁRCŮ DŘENĚ</p>	<b>Testování sterility produktu</b>	číslo: CNRDD/P06/verze01
--	-------------------------------------	--------------------------

- 6.1.2.1. Zpracování štěpu (odběr vzorku, aliquotace) vyžaduje opakované vstupy do vaku/ů s produktem ("semiuzavřený" systém) a je tedy spojeno s rizikem kontaminace. Pravděpodobnost kontaminace roste s počtem manipulačních kroků, které se štěpem provádíme.
- 6.1.2.2. Zpracování probíhá v laminárním boxu v čistém prostoru a při dodržování pravidel aseptického přístupu.

## 6.2. Odběr vzorků

- 6.2.1. Odběr vzorku k vyšetření musí probíhat za aseptických podmínek, aby nedocházelo k sekundární kontaminaci a falešné pozitivitě výsledků (v laminárním boxu).
- 6.2.2. Pro každé vyšetření se odebírají **2 vzorky** o objemu 0.5 ml. Vzorky se aplikují do sterilních 10 ml PNC lahviček. Používají se pouze lahvičky s neprošlou expirační dobou.
- 6.2.3. Vzorky jsou do doby transportu kultivovány v laboratoři odběrového centra. Lahvička s „T“ půdou se umístí do termostatu (do 35 °C), lahvička s „TSB“ půdou do pokojové teploty (do 25 °C). Teploty se monitorují.

## 6.3. Metoda

- 6.3.1. Zkoušky sterility zajišťuje firma ITEST plus s.r.o. na základě smlouvy o externí kontrolní činnosti a odběrovým zařízením.
- 6.3.2. Použitá metoda vychází z aktuální verze Českého Lékopisu a je schválena Státním ústavem pro kontrolu léčiv.
- 6.3.3. U pozitivních zkoušek se provádí bližší identifikace zjištěných mikroorganismů a stanovení jejich citlivosti na antibiotika.

## 6.4. Značení a odesílání vzorků

- 6.4.1. PNC lahvičky musí být vždy označeny identifikačním číslem vyšetřovaného odběru/produktu.
- 6.4.2. Vzorky se odesílají do kontrolní laboratoře jedenkrát týdně (každé úterý), pokud je třeba.
- 6.4.3. Způsob transportu určuje odběrové centrum. Kontaktní místo, kde vzorky přebírá pracovník firmy ITEST plus, je v nemocnici Na Homolce.

## 6.5. Export výsledků

- 6.5.1. Výsledky vyšetření sděluje kontrolní laboratoř odběrovému centru v písemné formě s cca 14 denním (max. 3- týdenním) odstupem.
- 6.5.2. Pokud je v průběhu kultivace zjištěno podezření na pozitivitu zkoušky, pracovník kontrolní laboratoře informuje o této skutečnosti ještě týž den emailem pracovníka odběrového centra zodpovědného za zpracování transplantátů (kontakt uveden na žádance). Další kroky se stanovují individuální dohodou lékaře odběrového centra a kvalifikované osoby fy ITEST plus.
- 6.5.3. Stejným způsobem se předávají i ostatní důležité informace týkající se konkrétního určení patogenu event. jeho citlivosti k ATB. Po ukončení zkoušky se závěrečný výsledek odesílá standardně v tištěné podobě.

## 6. Kontrola kvality

### 7.1. Frekvence kontrol

zpracoval: MUDr. Daniel Lysák	ověřil: MUDr. Kateřina Steinerová	schválil: MUDr. Pavel Jindra
-------------------------------	-----------------------------------	------------------------------

 <p>ČESKÝ NÁRODNÍ REGISTR DÁRCŮ DŘENĚ</p>	<b>Testování sterility produktu</b>	číslo: CNRDD/P06/verze01
--	-------------------------------------	--------------------------

- 7.1.1. Kontrolu sterility provádíme u všech odebraných štěpů.
- 7.1.2. Počet vyšetření u daného štěpu je dán počtem manipulací. Po každé významnější manipulaci by mělo být provedeno nové testování.
- Alogenní štěpy určené k přímé aplikaci se na sterilitu vyšetřují pouze **1 x**. Vzorek se odebírá současně se vzorkem pro vyhodnocení hematologických parametrů.
  - Manipulované štěpy (sedimentace kostní dřeně atd.) se zpravidla vyšetřují vícekrát.

## 7.2. Postup při pozitivní zkoušce na sterilitu

- 7.2.1.1. Pokud je u některého produktu pozitivní výsledek zkoušky na sterilitu, vyšetřuje se takovýto nález jako nežádoucí událost podle SOP CNRDD/F01 *Postup při hlášení (S)AE/CH/N*. Lékař odběrového centra se snaží nalézt zdroj pravděpodobné kontaminace (viz. bod. 6.1.).
- 7.2.1.2. Lékař odběrového centra musí informovat koordinační centrum ČNRDD o pozitivním kultivačním nálezu a zároveň se dotazuje na aktuální zdravotní stav příjemce.
- 7.2.1.3. Konkrétní postup, vyšetřování a eventuální nápravná opatření určuje lékař odběrového centra individuálně ve spolupráci s manažerem kontroly kvality, mikrobiologem atd.:
- kontrola mikrobiální kontaminace prostředí s akcentem na kontrolu účinnosti dezinfekce místa vpichu
  - prověření edukace odběrových sester (dezinfekce) a laborantek
  - fakultativně prověření pracovních postupů ve spolupráci s epidemiologem
  - kontrola event. nežádoucích událostí spojených s odběrem nebo zpracováním
  - zpětné posouzení možnosti resp. známek septikémie u dárce v době odběru
  - zvážení možnosti falešně pozitivního výsledku nebo kontaminace vzorku při inokulaci nebo v mikrobiologické laboratoři
- 7.2.2. Lékař koordinačního centra registru zajistí informování transplantačního centra, pokud je to nutné/vhodné. Informován o výsledku šetření musí být také manažer kontroly kvality registru. Podle uvážení lékaře odběrového centra může být kontaktován nebo informován dárce.

## 7. Očekávané výsledky

NA

## 8. Dokumentace

- 9.1. Lékař odběrového centra kontroluje atesty o zkoušce sterility. Originální výsledky se uchovávají v laboratoři odběrového centra.

## 9. Formuláře


- 10.1. žádanka o vyšetření sterility produktu (dle odběrového centra).

## 10. Související SOP

- 11.1. CNRDD/F01 *Postup při hlášení (S)AE/CH/N*.

## 11. Různé

zpracoval: MUDr. Daniel Lysák	ověřil: MUDr. Kateřina Steinerová	schválil: MUDr. Pavel Jindra
-------------------------------	-----------------------------------	------------------------------

 <p>ČESKÝ NÁRODNÍ REGISTR DÁRCŮ KŘEVE</p>	<b>Testování sterility produktu</b>	číslo: CNRDD/P06/verze01
--	-------------------------------------	--------------------------

## 12.1. Postupy snižující riziko bakteriální kontaminace

### 12.1.1. Před odběrem:

- Kontrola dárce při podezření na bakteriémii (po horečnatém infektu, s teplotou  $\geq 37.5$  °C, s průjmy, po zubní extrakci apod.).

### 12.1.2. Při odběru:

#### 12.1.2.1. Leukaferéza:

- účinná a kontrolovaná dezinfekce místa vpichu
- vhodná volba místa venepunkce na nepoškozené kůži (mimo jizvy, minulé vpichy apod.)
- odsátí několika prvních mililitrů krve, aby se zabránilo kontaminaci odběru po venepunkci kožním fragmentem a komezálními bakteriemi
- odběr ve funkčně uzavřeném aferetickém systému

#### 12.1.2.2. Odběr BM:

- dodržování zásad aseptického přístupu při odběru a filtraci na OS

## 12.2. Kontakty

Kontrolní laboratoř:

**ITEST plus s.r.o.**

Bílé Vchýnice 10

Vápno u Přelouče 533 16

tel./fax. 466 937 106

MVDr. Jiří Pospíšil

mobil: 603 822 081

e-mail: [itest-plus@prl.czn.cz](mailto:itest-plus@prl.czn.cz)

## 12. Reference

- 13.1. Padley DJ, Dietz AB, Gastineau DA. Sterility testing of hematopoietic progenitor cell products: a single- institution series of culture- positive rates and successful infusion of culture- positive products. *Transfusion* 2007; 47, 636-643.
- 13.2. Bližší detaily použité metody viz. originální SOP firmy ITEST plus: *SOP 08 Zkouška na sterilitu podle ČL 97 – DOPL. 99.*

zpracoval: MUDr. Daniel Lysák	ověřil: MUDr. Kateřina Steinerová	schválil: MUDr. Pavel Jindra
-------------------------------	-----------------------------------	------------------------------

 ČESKÝ NÁRODNÍ REGISTR DÁRCŮ DŘENĚ	<b>Testování sterility produktu</b>	číslo: CNRDD/P06/verze01
---	-------------------------------------	--------------------------

**ZMĚNY/REVIZE:**

datum:	revidoval/schválil:	podpis:	revize/změna*:
12.01.2009	Lysák/DL		implementace SOP
1.1.2010	Lysák/DL		<b>Výroční revize, beze změn.</b>
1.1.2011	Lysák/DL		<b>Výroční revize, beze změn.</b>
1.1.2012	Lysák/DL		<b>Výroční revize, beze změn.</b>
01.01.2013	Lysák/DL		<b>Výroční revize</b> , očkování vzorků přímo do média, změna kontaktních údajů kontrolní laboratoře
01.01.2014	Lysák/DL		<b>Výroční revize, beze změn.</b>
01.09.2016	Lysák/DL		<b>výroční revize</b> , shoda s WMDA, beze změn
10.01.2018	Lysák		<b>revize</b> , beze změn

\* silně vyznačeny pravidelné roční revize

zpracoval: MUDr. Daniel Lysák	ověřil: MUDr. Kateřina Steinerová	schválil: MUDr. Pavel Jindra
-------------------------------	-----------------------------------	------------------------------