

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:

- 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 lahvíček. 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 s odběrovým zařízením (smluvní laboratoř).
- 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) přes kontaktní místo určené kontrolní laboratoří.

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

- 7.1.1. Kontrolu sterility provádíme u všech odebraných (nativních) 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 dřene 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. známk 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

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

9. Formuláře

9.1. Žádanka o vyšetření sterility produktu (dle odběrového centra).

10. Související SOP

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

11. Různé

11.1. Postupy snižující riziko bakteriální kontaminace

11.1.1. Před odběrem:

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

11.1.2. Při odběru:

11.1.2.1. 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 komenzálními bakteriemi
- odběr ve funkčně uzavřeném aferetickém systému

11.1.2.2. Odběr BM:

- dodržování zásad aseptického přístupu při odběru a filtraci na OS

11.2. 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

12. Reference

- 12.1. 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.
- 12.2. Bližší detaily použité metody viz. originální SOP firmy ITEST plus: *SOP 08 Zkouška na sterilitu podle ČL 97 – DOPL. 99.*

ZMĚNY/REVIZE:

datum:	revidoval/schválil:	podpis:	revize/změna:
12.01.2009	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, očkování vzorků přímo do média, změna kontaktních údajů kontrolní laboratoře
01.01.2014	Lysák/DL		Výroční revize, beze změn.
01.09.2016	Lysák/DL		výroční revize, shoda s WMDA, beze změn
10.01.2018	Lysák		revize, beze změn
25.5.2020	Lysák		revize, upřesnění transportu vzorků do kontrolní laboratoře
20.09.2022	Lysák		výroční revize, beze změn