

# Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

Kjersti Roen Eriksen

Spesialbioingeniør

Seksjon for komponentfremstilling

Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin

Oslo universitetssykehus, Ullevål



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- Hva gjør vi?
- Hvorfor gjør vi det?
- Hvordan gjør vi det?



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- Blodforskriften - reglene
  - Norsk versjon av EU's regelverk; «Bloddirektivene»
  - Helsedirektoratet forvalter forskriften
  - Lovpålagt å følge, krav
  - Angir en del kvalitets- og sikkerhetskrav for blod og blodkomponenter
- Europarådets «Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components» - verktøyet
  - Ikke lovpålagt å følge, ikke krav, mer en veileder, men vi synes den er fornuftig å støtte seg på
  - Indirekte krav pga plasmafraksjoneringsavtalen med Octapharma
  - Forklarer statistisk prosesskontroll



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- Veileder for transfusjonstjenesten
  - Ment som et hjelpemiddel i daglig, norsk blodbankarbeid
  - Delvis basert på krav i Blodforskriften
  - Henviser til Blodforskriften som sier at «den påkrevde prøvetakingsfrekvens for alle målinger bestemmes ved anvendelse av statistisk prosesskontroll»



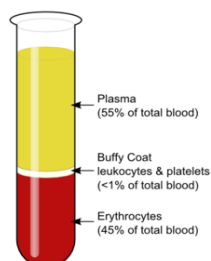
## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- For oss ble «Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components» et hjelpemiddel i utregning av prøvetakingsfrekvenser ved innføring av SPK. Alle anbefalingene er imidlertid ikke optimale
- Det ble derfor i tillegg utarbeidet et dokument internt som beregner prøvetakingsfrekvenser og begrunner valget av statistiske tester bak beregningene



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

Omsatt til praksis gjør dette at vi ved seksjon for komponentfremstilling ved Blodbanken i Oslo gjør flere typer kvalitetskontroller i flere typer blodkomponenter...



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Erythrocyttkonsentrat

#### Hemoglobin-innhold/HCT

- 10 konsentrater/uke
- Hemoglobin  $\geq 40\text{g/enhet}$
- HCT  $\geq 50\% \leq 70\%$
- På hematologi-instrument
- Overvåkes av SPK



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Erythrocyttkonsentrat

#### Hemolyse

- 4 utdaterte erythrocyttkonsentrater/35.dag
- HGB og HCT
- $< 0,8\%$  av erythrocyttmassen ved utløpsdato
- På hematologi-instrument
- Overvåkes av SPK



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Erytrocyttkonsentrat

#### Leukocytt-innhold

- 25 konsentrater/uke
- $<1 \times 10^6$  WBC/enhet
- På flowcytometer
- Overvåkes av SPK



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Trombocyttkonsentrat

#### Trombocytinnhold

- Tilnærmet alle konsentrater
- Måler konsentrasjon,  $\text{TRC} \times 10^9/\text{l}$
- 240-359  $\text{TRC} \times 10^9/\text{TE}$
- På hematologi-instr.
- Overvåkes av SPK



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Trombocyttkonsentrat

#### Leukocytinnhold

- 13 konsentrater fra buffy coat/uke
- Alle trombafereser tappet man+ons/uke(2/3)
- $<1 \times 10^6$  WBC/TE
- På flowcytometer
- Overvåkes av SPK



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Plasma

#### Innhold av residuale celler

- 3 plasma/mnd fra hver «type» tapping;
  - Fullblodstapping
  - Trombaferese med plasma
  - Plasmaferese
- **Erytrocytter:**  $<6,0 \times 10^9/l$
- **Leukocyttter:**  $<0,1 \times 10^9/l$
- **Trombocyttter:**  $<50 \times 10^9/l$
- På hematologi-instrument og flowcytometer
- Overvåkes av SPK



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Pentra XL80



- Helautomatisk blodcelleteller
- RBC HGB HCT MCV MCH MCHC RDW
- PLT MPV PCT PDW
- WBC 5-parts DIFF



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Måling av hemoglobin

- Lysebio lyserer erytrocyttene og HGB frigis
- Hem-jern blir oksidisert og stabilisert
- Produserer en kromogen forbindelse
- Optisk avlesning ved 550nm
- Lineært område: 1,3 til 20 g/dl  $\pm$  3%

For HGB over 20 g/dl blir prøven automatisk fortynnet 1 : 2



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Måling av HCT

- Kalkulert verdi
- Prosentvise volumandelen av et blodvolum som er erythrocytter
- Antall puls for erythrocytter og størrelsen på disse
- Lineært område: 1,9 til 72 %  $\pm$  3%



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Telling av trombocytter og erythrocytter

- Impedans (motstand)
- Når en blodcelle passerer igjennom et elektrisk felt, øker motstanden mellom de to elektrodene
- Motstanden er proporsjonal med cellevolumet
- Elektronikken i instrumentet fortserker pulsene som blir målt for å kunne skille blodceller fra bakgrunnsstøy





## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

– Lineære områder:

**Erythrocytter:** 0,22 til  $8,9 \times 10^{12}/l \pm 3\%$

**TRC i fullblod:** 7 til  $2087 \times 10^9/l \pm 12,5\%$

**TRC i trombocyttkonsentrat:** 5 til  $2792 \times 10^9/l \pm 12,5\%$

For PLT over  $2800 \times 10^9/l$  blir prøven automatisk fortynnet 1 : 2



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- Pentra XL80 er ikke laget først og fremst for telling i blodkomponenter, selv om telletallene våre er innenfor lineære områder
- Daglig kontroll kjørt på maskinen er i normalområde



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

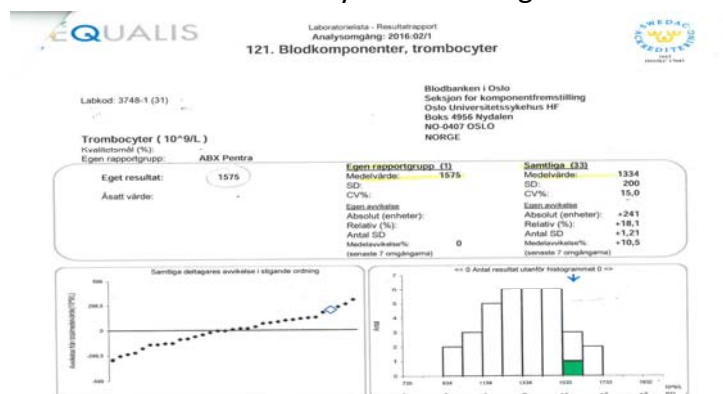
### Eksterne kvalitetskontroller

- 4x/år; 1 prøve fra venøst EDTA-fullblod  
NKK, kontroll i normal-område for blodgivere av vanlige hematologiske parametre
- 2x/år; 2 prøver fra erytrocyttkonsentrat  
EQUALIS, kontroll av blodkomponenter for HGB og WBC
- 2x/år; 2 prøver fra trombocyttkonsentrat  
EQUALIS, kontroll av blodkomponenter for TRC og WBC



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- Resultatene fra EKK i trombocyttkonsentrat har vist at vi får TRC-tallet som er høyere enn mange andre

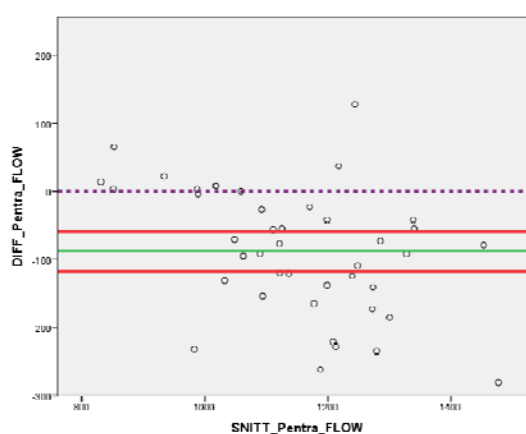


## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

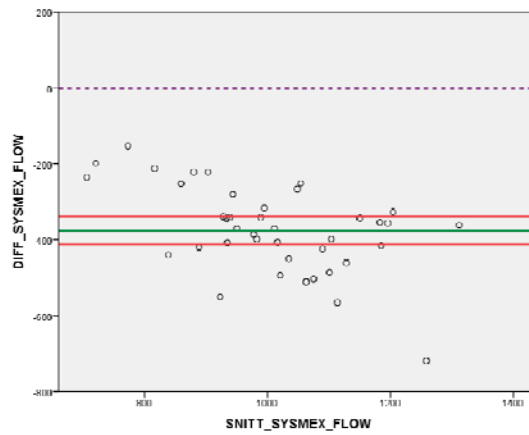
- Vi ønsket å undersøke hvorvidt trc-tallet fra Pentra er til å stole på, eller om de er enten for høye eller for lave
- 41 prøver, hvorav 10 fra trombafereser og resterende 31 fra buffy coat trc-konsentrat
- Alle prøver ble kjørt på Pentra XL80, på Sysmex XN 9000 og flowcytometer (Gallios, Beckman Coulter)



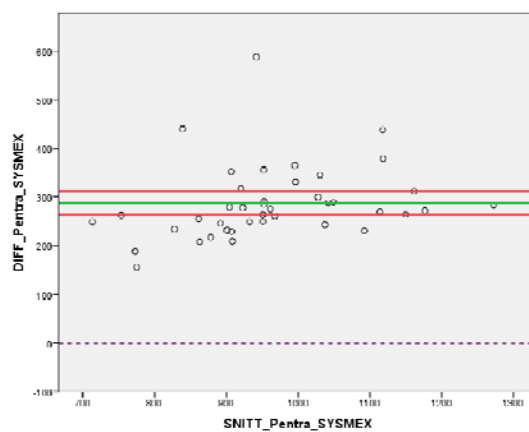
## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### Vi fant at...

- Pentra måler signifikant høyere TRC enn SYSMEX: 287 (263, 312;  $p < 0,001$ )
- Pentra måler signifikant lavere TRC enn Flow: -88 (-118, -59;  $p < 0,001$ )
- Sysmex måler signifikant lavere enn Flow: -376 (-412, -339;  $p < 0,001$ )



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

«SYSMEX måler signifikant lavest av alle 3 modaliteter, og forskjellen er betydelig både sammenholdt Pentra og Flow. Flow måler signifikant høyere TPK sammenholdt Pentra, men forskjellen er mye mindre enn sammenholdt SYSMEX. Flow måler i snitt 1195, Pentra 1107 ( $\cdot 10^9$ ). Hva dette eventuelt betyr i klinisk hverdag må vurderes nærmere. Det bemerkes at SYSMEX muligens/sannsynligvis er optimalisert for måling av TPK i betydelig lavere områder enn hva tilfellet er for trombocyttkonsentrat. Slikt sett ikke uventet at vi observerer de forskjeller vi gjør.»



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

- Fremgangsmåte på flow
  - 100µl TRC-kons+900µl PEB i PP-rør, bland
  - 100µl fort.prøve +900µl PEB i nytt PP-rør, bland
  - Fortynn anti-cd41a 1:100 i PEB
  - 20µl fort.TRC-prøve+20µl fort.anti-cd41a i TrueCount-rør
  - Inkuber mørkt, 15min, 20°C
  - Tilsett 400µl PEB
  - Kjør prøven til 2500 kuler er samlet og beregn TRC-kons.



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### *Kan man stole på flow-svarene?*

- flowcytometere er følsomme instrumenter
- avhengig av korrekt vedlikehold (unngå støvpartikler, riktig oppbevaring av reagenser og renseløsninger)
- korrekt prøve – og reagensbehandling (riktig type rør, god blanding, filtrering)
- riktig bruk

### *Hvorfor er det viktig å gi ut riktig trc-innhold?*

- vi opererer mye med intervaller av trc-konsentrasjoner
- ikke av kritisk betydning klinisk sett at tallet er «på trombocytten» korrekt
- hyperkonsentrater skal ha høy konsentrasjon
- gi ut så korrekte tall som mulig



## Hematologisk kvalitetskontroll av blodkomponenter

### *Hvorfor føler vi oss komfortable med dagens løsning?*

- Å telle trombocytter er utfordrende
- Flowcytometri som en slags gullstandard
- Flowcytometriske metoder er dyre og tidkrevende
- Vanlige hematologiske tellinger er bra nok
- Pentra XL80 ligger under flow, så vi overestimerer ikke trc-utbyttet
- Begrenset risiko ved underestimert trc-utbytte

*P.F.van der Meer, W.Karssing-van Leeuwen, J.Kurtz et.al. A flow cytometric method for platelet counting in platelet concentrates. Transfusion (2012)52, 173-180*

