

# **STUDIO SULLA QUALITA' DEL PLASMA DESTINATO AL FRAZIONAMENTO CONFERITO DALL'AIP**

David Gambelli – Responsabile Controllo Qualità

Claudio Farina – Responsabile Ricerca di base

---

Dr. David Gambelli



# Obiettivo

L'obiettivo dello studio è stato il monitoraggio della qualità del plasma fresco congelato di tipo B conferito a Kedrion dalle strutture trasfusionali aderenti all'AIP.

## Caratteristiche principali dello studio

- Le donazioni analizzate risalgono tutte al 2005 e risultano conformi ai controlli eseguiti in Kedrion.
- I parametri presi in esame sono stati: attività del FVIII (FVIII:C) e FVIII antigene (FVIII:Ag)
- Lo studio è stato realizzato in conformità alle cGMP.

# Fasi dello studio

- Definizione del piano e del criterio di campionamento in collaborazione con il CNR di Pisa.
- Scelta della sede per realizzare lo studio
- Definizione dei metodi di analisi e preparazione del protocollo di studio.
- Acquisto degli strumenti.
- Qualifica degli strumenti di nuovo acquisto e esistenti
- Validazione dei metodi di analisi
- Validazione del trasporto al Centro Ricerche
- Esecuzione dello studio come definito nel protocollo
- Elaborazione dei risultati da parte del CNR di Pisa

# Organizzazione dello studio

## Attività svolte:

### Controllo di Qualità (Kedrion)

- ✓ Collaborazione alla definizione del piano di campionamento
- ✓ Collaborazione alla definizione dei parametri da verificare e dei metodi di analisi
- ✓ Impostazione dello studio secondo cGMP

### CNR (Pisa)

- ✓ Definizione del piano e del criterio di campionamento
- ✓ Elaborazione statistica dei dati

### Centro Ricerche (Kedrion)

- ✓ Collaborazione per la definizione del piano e del criterio di campionamento
- ✓ Valutazione bleeding list e individuazione sacche da analizzare
- ✓ Esecuzione dei test e raccolta dati.

# Strumenti utilizzati

- **Lettores per micropiastre - Biorad**  
(Determinazione della concentrazione Ag del FVIII)
- **Coagulometro ACL Advance - IL**  
(Determinazione dell'attività del FVIII)
- **Scongelatore a secco Cytoterm - KW**  
(Scongelamento delle sacche prima dell'analisi)
- **Contenitori ICE & Go**  
(Trasporto delle sacche dal magazzino da Bolognana al Centro Ricerche)

# ***Studio della temperatura durante il trasporto***

*E' stata eseguita una verifica documentata della temperature all'interno di contenitori isotermici ICE & Go in polistirolo adatti per trasportare prodotti a temperatura refrigerata.*

- Tali contenitori sono stati impiegati per il trasporto delle sacche plasmatiche nel tratto dal magazzino presente dallo stabilimento Kedrion di Bolognana al Centro Ricerche situato a Castelvecchio Pascoli.
- La temperatura all'interno delle sacche è risultata sempre inferiore a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



# ***Test di qualifica dello scongelatore***

*E' stata eseguita una verifica documentata del test di qualifica dello scongelatore di sacche plasmatiche a secco. L'acqua riscaldata a temperatura controllata circola in una camicia che circonda completamente le sacche di plasma da scongelare, in tal modo la sacca rimane asciutta evitando la contaminazione attraverso la completa immersione in acqua.*

- Verifica della calibrazione della sonda di temperatura dello scongelatore
- Verifica del tempo di scongelamento

# Qualifica strumenti analitici

*Evidenza documentata che lo strumento analitico è conforme ai parametri richiesti.  
Fase necessaria per conferire qualità al risultato ottenuto.*

La qualifica si distingue essenzialmente in 3 fasi rispettivamente:

- 1) Qualifica dell'installazione (IQ)
- 2) Qualifica dell'operatività (OQ)
- 3) Qualifica delle prestazioni (PQ) e/o Convalida del metodo analitico

(\*) Nel presente studio è stata eseguita la convalida del metodo analitico

# Qualifica dell'Installazione

**Raccolta documentata delle attività necessarie per installare lo strumento analitico.**

- ✓ **Raccolta della documentazione dello strumento (manuali, certificati di conformità)**
- ✓ **Stesura di procedure operative interne per la corretta conduzione e manutenzione e calibrazione dello strumento analitico**
- ✓ **Descrizione dello strumento analitico con relativi sottomoduli presenti**
- ✓ **Verifica e descrizioni collegamenti tra sottomoduli**
- ✓ **Verifica utenze**

*I test sopra elencati sono uguali per entrambe gli strumenti analitici impiegati*

# Qualifica dell'Operatività

Raccolta documentata delle attività necessarie per verificare i parametri operativi dello strumento in conformità alle specifiche tecniche dichiarate dal fornitore

## Coagulometro ACL advance.

- ✓ Verifica protezione dello strumento presenza di password
- ✓ Verifica interfaccia operatore e funzionalità del sistema
- ✓ Verifica sistema di segnalazione di allarme
- ✓ Verifica delle funzioni di calcolo
- ✓ Verifica del Carry over del sistema di dispensazione
- ✓ Verifica della riproducibilità del sistema di dosaggio
- ✓ Verifica dei tempi di incubazione
- ✓ Verifica della termostatazione
- ✓ Verifica del ripristino delle condizioni operative in seguito a caduta di tensione

## Letture di micropiastre Biorad.

- ✓ Verifica interfaccia operatore, funzionalità e protezione del sistema
- ✓ Verifica sistema di segnalazione di allarme
- ✓ Verifica delle funzioni di calcolo
- ✓ Verifica della funzionalità del sistema analitico
- ✓ Verifica della variabilità della lettura di assorbanza nella piastra di analisi
- ✓ Verifica del ripristino delle condizioni operative in seguito a caduta di tensione

---

Dr. David Gambelli

# Convalida del metodo analitico

Raccolta documentata delle attività necessarie per verificare che il metodo di analisi sia conforme alle richieste specificate nelle linee guida ICH Q2A e Q2B

## Determinazione attività FVIII con Kit Coamatic (Cromogenix)

- ✓ Verifica della linearità
- ✓ Verifica dell'accuratezza
- ✓ Verifica della precisione intermedia
- ✓ Verifica della precisione entro la serie

## Determinazione della concentrazione dell'Ag del FVIII con il Kit ASSERACHROM (Stago)

- ✓ Verifica della linearità
- ✓ Verifica dell'accuratezza
- ✓ Verifica della precisione intermedia
- ✓ Verifica della precisione entro la serie

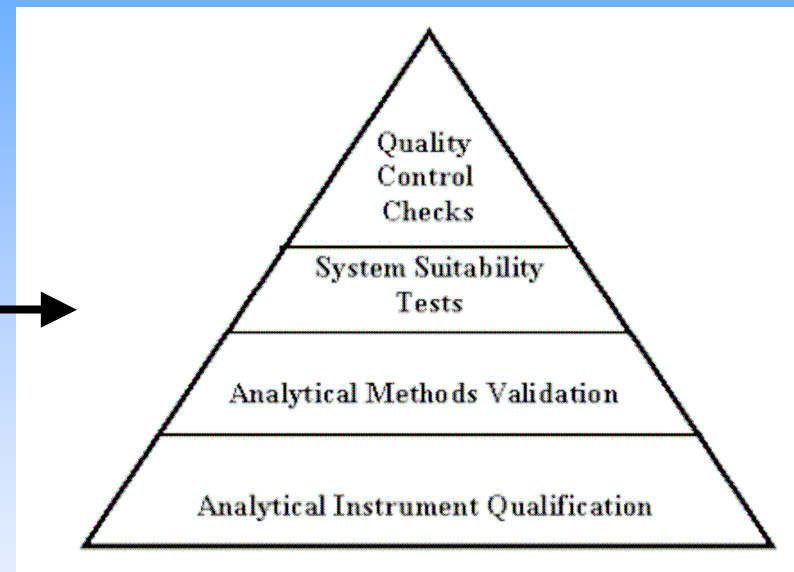
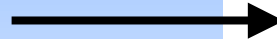
# Convalida del metodo analitico

Raccolta documentata delle attività necessarie per verificare che il metodo di analisi sia conforme alle richieste specificate nelle linee guida ICH Q2A e Q2B

<u>Determinazione attività FVIII con Kit Coamatic (Cromogenix)</u>		<u>Determinazione della concentrazione dell'Ag del FVIII con il Kit ASSERACHROM (Stago)</u>	
<u>Parametri controllati</u>	<u>Risultati ottenuti</u>	<u>Parametri controllati</u>	<u>Risultati ottenuti</u>
Linearità	0,125 UI/ml ÷ 1,3 UI/ml	Linearità	0,0625 UI/ml ÷ 1,0 UI/ml
Accuratezza	R% 100,5	Accuratezza	R% 99,6
Precisione intermedia	CV % 6,5%	Precisione intermedia	CV % 6%
Precisione entro la serie	CV % 3,2%	Precisione entro la serie	CV % 4,2

# *A che cosa serve qualificare gli strumenti analitici e convalidare i metodi di analisi ?*

Garantire e assicurare la QUALITA' del dato analitico secondo il seguente schema



Completano il sistema di qualità la presenza del System Suitability test e il Quality Control checks che rendono valida ogni analisi eseguita.

# Piano di campionamento

- Plasma di tipo B conferito a Kedrion nel 2005 dalle Strutture Trasfusionali (ST) delle Regioni aderenti all'Accordo Interregionale Plasma (AIP)
  - La selezione delle ST è stata definita in base alla numerosità delle donazioni per regione (valutata per l'anno 2004)
  - Per ogni singola regione le ST sono state selezionate in ordine di numerosità in modo da raggiungere una % totale di donazioni per regione almeno del 80%. Per la valutazione statistica sono state fissate in ogni caso delle condizioni minime di prelievo, in particolare:
- |                             |   |               |
|-----------------------------|---|---------------|
| • Numero minimo per Regione | → | 100 donazioni |
| • Numero minimo per ST      | → | 20 donazioni  |

---

Dr. Claudio Farina

# Piano di campionamento

Centro trasfusionale	n°sacche	% rispetto al totale	Sacche da campionare e su base %	Integrazione	totale
GENOVA GALLIERA (1°)	7.466	17,5	21	0	21
GENOVA GASLINI (7°)	3.283	7,7	9	11	20
GENOVA RIVAROLO (12°)	897				
GENOVA S.MARTINO (3°)	5.290	12,4	15	5	20
GENOVA SAMPIERDARENA (8°)	2.524	5,9	7	13	20
GENOVA VOLTRI (11°)	1.448				
IMPERIA (6°)	3.695	8,7	10	10	20
LA SPEZIA (2°)	5.293	12,4	15	5	20
LAVAGNA (5°)	3.915	9,2	11	9	20
PIETRA LIGURE (9°)	2.222				
SAVONA (4°)	4.825	11,3	13	7	20
SESTRI PONENTE (10°)	1.794				
<b>TOTALE LIGURIA</b>	<b>42.652</b>	<b>85</b>	<b>101</b>	<b>60</b>	<b>161</b>

Dr. Claudio Farina

8 ST = 85.1 % delle donazioni  
7 ST = 79.1 % delle donazioni

# Piano di campionamento

Centro trasfusionale	n° sacche	% rispetto al totale	sacche da campionare su base %	Integrazione	totale
AVIANO	3.581	7,3	8	12	20
GORIZIA	6.509	13,2	15	5	20
LATISANA	1.131				
PALMANOVA	2.136				
PORDENONE	7.717	15,6	18	2	20
SAN DANIELE D.F.	4.974	10,1	12	8	20
SAN VITO TAGL.	2.323				
TOLMEZZO	1.051				
TRIESTE INFANZIA	218				
TRIESTE MAGGIORE	8.422	17,1	20	0	20
UDINE	11.298	22,9	27	0	27
<b>TOTALE FRIULI V.G.</b>	<b>49.360</b>	<b>86</b>	<b>100</b>	<b>27</b>	<b>127</b>

Dr. Claudio Farina

6 ST = 86.1 % delle donazioni  
5 ST = 78.5 % delle donazioni

# Piano di campionamento

Regione	N°centri totali	% plasma Totale consorzio	N°centri da campionare	Centri selezionati % donazioni su Totale Regione	Sacche da campionare	% donazioni prelevate sul totale dei Centri prelevati
<b>Valle D'Aosta</b>	1	0,7	1	100	<b>20</b>	0,9
<b>Liguria</b>	12	7,2	8	85	<b>161</b>	7,4
<b>Trentino A.A</b>	4	6,2	3	88	<b>102</b>	6,6
<b>Friuli V.G</b>	11	8,4	6	86	<b>127</b>	8,5
<b>Emilia R.</b>	12	17,0	8	83	<b>162</b>	17,0
<b>Umbria</b>	4	3,8	4	100	<b>100</b>	4,2
<b>Veneto</b>	31	27,7	20	81	<b>400</b>	26,9
<b>Toscana</b>	40	22,2	24	81	<b>480</b>	21,6
<b>Abruzzo</b>	10	5,5	6	85	<b>139</b>	5,6
<b>Basilicata</b>	5	1,3	3	83	<b>100</b>	1,3
<b>Totale</b>	<b>130</b>	<b>100,0</b>	<b>83</b>		<b>1791</b>	<b>100</b>

Dr. Claudio Farina

# Criterio di campionamento

Il campionamento è stato eseguito secondo un criterio di selezione casuale, ma tenendo conto dei seguenti parametri:

- frequenza dei gruppi sanguigni: sono stati prelevati un numero di sacche di gruppo 0, dove la concentrazione di FVIII è statisticamente più bassa, in percentuale circa uguale rispetto alla frequenza del gruppo sanguigno di tipo 0 sull'intera popolazione (42-44%)
- data di prelievo (donazione): sono state selezionate, per singola ST e singola Regione, donazioni eseguite in diversi giorni della settimana e in diversi mesi, al fine di conferire la massima significatività possibile al campionamento.

# Criterio di campionamento

(relativo ai CT con 20 sacche)

Mese	I	II	III	IV	V
Giorno di prelievo	1°2°3°4°	5°6°7°8°	9°10°11°12°	13°14°15°16°	17°18°19°20°
Tipo di sacca	1 1 1 0	1 0 1 0	1 1 1 0	1 0 1 0	1 0 1 0
N° sacche per giorno	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1

---

Dr. Claudio Farina

# Metodo di lavoro

- 1° Fase: analisi dei documenti e delle bleeding list delle ST per selezionare (sulla carta) le sacche previste dal piano di campionamento (attenzione al gruppo sanguigno, al giorno della settimana, al giorno del mese)
- 2° Fase: Selezione fisica delle sacche destinate allo studio analitico da parte del personale del reparto Gestione plasma
- 3° Fase: Prelievo ed analisi delle donazioni selezionate

# Metodo di lavoro

## 3° Fase: Prelievo ed analisi delle donazioni selezionate:

- a) Prelievo dal magazzino plasma di 24 sacche preventivamente scelte, selezionate e distribuite in 2 scatole da 12.
- b) Compilazione del "Modulo prelievo donazioni"
- c) Trasporto dallo stabilimento Kedrion di Bolognana al Centro Ricerche di Castelvecchio Pascoli in contenitori validati
- d) Controllo corrispondenza tra "Modulo prelievo donazioni" e sacche effettivamente presenti.

# Metodo di lavoro

- e) Scongellamento di 12 sacche (6 alla volta) e registrazione sul "Modulo scongelamento donazione"
- f) Calibrazione metodo cromogenico FVIII:C su ACL ADVANCE
- g) Analisi attività fattore VIII delle sacche scongelate
- h) Controllo validità seduta, registrazione su "modulo di registrazione dati" e approvazione responsabile
- i) Ripetizione delle fasi d)-h), effettuate nella seduta analitica della mattina, nella seduta analitica del pomeriggio
- j) Registrazione dati su formato elettronico

LA DETERMINAZIONE DEL FVIII:Ag E' STATA ESEGUITA SOLITAMENTE IL VENERDI' O NEI GIORNI IN CUI NON ERANO DISPONIBILI LE SACCHE DI PLASMA

# Personale Kedrion

## CONTROLLO DI QUALITA'

- Dr. David Gambelli
- Dr.ssa Antonella Bertolini

## RICERCA DI BASE

- Dr. Claudio Farina
- Dr. Filippo Mori
- Dr.ssa Ilaria Nardini
- Dr.ssa Ilaria Tonarelli (a contratto)

## REPARTO GESTIONE PLASMA

---

Dr. Claudio Farina

