

Rozdział

Preparatyka krwi i jej składników

I. OGÓLNE ZASADY PREPARATYKI KRWI

1. POJEMNIKI DO POBIERANIA I PREPARATYKI KRWI

Do pobierania, preparatyki i przechowywania krwi i jej składników należy stosować wyłącznie zestawy pojemników i pojemniki z tworzywa sztucznego dopuszczone do obrotu w Polsce i posiadające odpowiednie świadectwa rejestracji.

1.1. Płyny konserwujące

Do zabiegów pobierania krwi i jej składników metodami manualnymi i aferezy zaleca się korzystanie z komercyjnych płynów konserwujących zgodnych z Farmakopeą Europejską i posiadających znak CE.

Pojemnik macierzysty, do którego pobierana jest krew zawiera 63-70 ml płynu konserwującego. Płyn ten zapobiega krzepnięciu krwi, zawiera też substancje odżywcze, umożliwiające przechowywanie krwi i jej składników. Płyn konserwujący powinien być sterylny i apirogenny. Skład najczęściej używanych płynów konserwujących przedstawia tabela 1.

TABELA 1: Skład płynów konserwujących (g/l)

	ACD-A	CPD	CPDA-1
Cytrynian trójsodowy ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	22,00	26,30	26,30
Kwas cytrynowy ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	8,00	3,27	3,27
Glukoza ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	24,50	25,50	31,90
Dwuwodorofosforan sodowy (NaH_2PO_4)	-	2,22	2,22
Adenina ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$)	-	-	0,275

1.1.1. Roztwór CPDA-1

Umożliwia przechowywanie krwi pełnej lub koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) w temperaturze od 2 °C do 6 °C przez 35 dni.

1.1.2. Roztwór CPD

CPD pozwala na przechowywanie krwi pełnej lub KKCz w temperaturze od 2 °C do 6 °C do 21 dni. Przeważnie roztwór ten znajduje się w pojemniku macierzystym zestawów zawierających również pojemnik z roztworem wzbogacającym.

1.1.3. Roztwór ACD-A

Zaleca się stosowanie zestawów pojemników z tym roztworem jedynie do wykonywania zabiegów plazmaferezy manualnej. Roztwór ACD jest również powszechnie używany jako środek zapobiegający krzepnięciu krwi podczas zabiegów automatycznej plazmaferezy i cytaferezy (czasem do zabiegów plazmaferezy automatycznej bywa zalecany jako antykoagulant 4% roztwór cytrynianu sodowego).

1.1.4. Roztwory wzbogacające (uzupełniające)

Większość roztworów uzupełniających (ADSOL, AS-2, SAGM) zawiera chlorek sodowy, adeninę, glukozę i mannitol. W skład innych wchodzi cytrynian trójsodowy, mannitol,

dwuwodorofosforan sodowy lub guanozyna.

Podtrzymują one żywotność krwinek czerwonych zawartych w koncentraty otrzymanych po usunięciu osocza. Objętość dodawanych roztworów waha się od 80 do 110 ml. Stosowanie roztworów wzbogacających umożliwia przechowywanie KKCz w temperaturze od 2 °C do 6 °C do 42 dni.

1.2. Zasady preparatyki w pojemnikach z tworzywa sztucznego

Integralnie połączone pojemniki stanowią układ zamknięty, co zapobiega zakażeniu bakteryjnemu krwi podczas preparatyki.

Do udrożnienia drenów łączących pojemniki często niezbędne jest wyłamanie membrany u nasady jednego z pojemników. Aby zapobiec mieszanemu zawartości poszczególnych pojemników, należy posługiwać się zaciskami z tworzywa sztucznego lub kleszczykami hemostatycznymi zakładanymi na dreny.

W celu oddzielenia od siebie poszczególnych pojemników, należy rozciąć łączący je dren, po uprzednim zamknięciu go za pomocą zgrzewarki dielektrycznej lub metalowych zacisków. Zamknięcie drenu zaciskiem metalowym ma jedynie charakter prowizoryczny i przed zakończeniem preparatyki musi być zastąpione trwałym i szczelnym zgrzewem, wykonanym przy użyciu zgrzewarki. Każdy zgrzew należy poddać kontroli wizualnej, oceniając jego szczelność.

Przed pobraniem pełnej krwi należy zdecydować, jakiej preparatyce zostanie ona poddana i w zależności od tego wybrać odpowiedni zestaw pojemników. Rozdział krwi na jej składniki może być prowadzony zarówno przy użyciu manualnych jak i automatycznych pras ekstrakcyjnych.

1.3. Praca w systemie otwartym i zamkniętym

1.3.1. Otwarcie układu

Otwarcie układu zamkniętego, niezbędne podczas wykonywania niektórych procedur preparatyki (np. przemywanie KKCz i KKP, otrzymywanie KKCz pozbawionego kożuszka leukocytarno-płytkowego, otrzymywanie zlewanego KKP, rozmrażanie KKCz lub KKP, otrzymywanie krwi rekonstruowanej lub rekonstruowanego KKP), dopuszczalne jest jedynie w komorze z laminarnym przepływem sterylnego powietrza, przy zachowaniu wszystkich wymogów aseptyki. Dla zabezpieczenia przed namnażaniem się drobnoustrojów, które mogłyby się dostać do składnika krwi podczas otwierania układu, zaleca się przeznaczenie go do transfuzji w możliwie najkrótszym terminie (nie przekraczającym 8 godz., jeśli składnik przechowywany jest w temperaturze od 2 °C do 6 °C lub 6 godz., jeśli przechowywany jest w temperaturze od 20 °C do 24 °C).

Otwarcie układu ma na celu dokonanie połączeń pomiędzy pojemnikami. Służą do tego sterylne łączniki z tworzywa sztucznego lub zestawy jednorazowego użytku do preparatyki krwi. Dostępne są następujące zestawy:

1. typu A (dren plastikowy, zakończony końcówką z tworzywa sztucznego i igłą plastikową),
2. typu B (dren plastikowy, zakończony 2 końcówkami z tworzywa sztucznego),
3. typu C (dren plastikowy, zakończony końcówką z tworzywa sztucznego i igłą metalową),
4. typu D (dren plastikowy, zakończony 2 igłami metalowymi).

Wybór zestawu powinien być uzależniony od rodzaju tworzonego połączenia. Kończówką z tworzywa sztucznego można łączyć dreny, igła plastikowa służy do łączenia otworów wylotowych pojemników z tworzyw sztucznych, zaś igła metalowa umożliwia połączenie z butelką szklaną.

UWAGI:

A. Dopuszcza się używanie butelek szklanych wyłącznie jako opakowań płynów stosowanych podczas preparatyki.

B. Wykluczone jest stosowanie butelek szklanych jako opakowań jakichkolwiek składników krwi do użytku klinicznego.

1.3.2. Praca w systemie zamkniętym

Zaleca się stosowanie specjalnej zgrzewarki, umożliwiającej sterylne łączenie drenów pomiędzy pojemnikami. Pozwala to na przechowywanie wydzielonych porcji krwi pełnej, KKCz i osocza przez okres odpowiadający terminowi ważności składnika, bez obawy o wystąpienie zakażenia bakteryjnego. Umożliwia podział i przechowywanie porcji KKP otrzymanego metodą automatycznej aferezy, a także otrzymywanie i przechowywanie rekonstruowanego KKP oraz składników ubogoleukocytarnych. Zastosowanie zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów jest wysoce wskazane podczas preparatyki krwiotwórczych komórek macierzystych. Korzystając z tego urządzenia można też dołączać puste, sterylne dreny w celu sporządzenia dodatkowych próbek (np. do badań kontroli jakości).

Każde połączenie, wykonane przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów należy poddać kontroli wizualnej, oceniając jego szczelność. Proces sterylnego łączenia drenów musi podlegać walidacji (patrz rozdział „System jakości w służbie krwi”).

1.4. Podział składników krwi na porcje do użytku pediatrycznego

Jeśli do użytku pediatrycznego niezbędny jest podział jednej jednostki pełnej krwi, KKCz, KKCz pozbawionego kożuszka leukocytarno-platek, KKP lub osocza na mniejsze porcje niż te, jakie uzyskiwane są standardowo w układzie zamkniętym, zaleca się korzystanie z pustych pojemników z tworzywa. Żądaną objętość preparatu należy ustalać za pomocą wagi.

Z jednej jednostki krwi pełnej, KKCz, KKP lub osocza można, używając pustych pojemników z tworzywa sztucznego i zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów, wydzielić w układzie zamkniętym żądaną ilość porcji do użytku pediatrycznego. Porcje te mogą być przechowywane przez okres odpowiadający terminowi ważności jednostki macierzystej. W przypadku porcji pediatrycznych KKP okres przydatności zależy również od rodzaju pojemnika użytego do przechowywania.

Dopuszcza się otwarcie układu podczas podziału jednostki na mniejsze porcje w komorze z laminarnym przepływem powietrza, przy zachowaniu wszystkich wymogów aseptyki. Otrzymane porcje powinny być przeznaczone do przetoczenia w ciągu 8 godz. (KPK, KKCz) lub 6 godz. (KKP) od chwili otwarcia układu. Niedopuszczalne jest dzielenie w układzie otwartym osocza, które ma być przechowywane w stanie zamrożenia.

Niewykorzystaną część należy przeznaczyć do użytku klinicznego lub zniszczyć. Jeśli będzie ona wykorzystana do przetoczenia, na etykiecie należy podać faktyczną objętość składnika.

UWAGI:

- A. KPK i KKCz dzielić na porcje pediatryczne po uprzednim zakwalifikowaniu składnika do użytku (patrz p. 12.). Jednostkę macierzystą łączyć z pustymi pojemnikami, które zostały opatrzone uprzednio stosownymi etykietami. Nie należy wykonywać kontroli serologicznej wydzielonych porcji.*
- B. Osocze dzielić na porcje pediatryczne natychmiast po otrzymaniu jednostki macierzystej. Do pojemnika z osoczem przylaczać za pomocą zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów puste pojemniki, które zostały opisane uprzednio numerem donacji i grupą krwi. Kwalifikację do użycia prowadzić po zamrożeniu i uzyskaniu stosownych wyników badań.*

1.5. Przechowywanie krwi i jej składników w pojemnikach z tworzyw sztucznych

Pojemniki do pobierania krwi oraz pojemniki satelitarne znajdujące się w zestawie wykonane są z polichlorku winylu (PCV). Tworzywo to (nieoznaczone żadnym symbolem lub oznaczone symbolem PL 146) wywiera stabilizujący wpływ na błonę komórkową erytrocytów i chroni krwinki czerwone przed hemolizą podczas przechowywania ich w stanie płynnym. Jest

trwale do temperatury -90°C i pozwala na przechowywanie w stanie zamrożenia osocza, krioprecypitatu i KKP.

W niektórych zestawach znajdują się pojemniki ze zmodyfikowanego PCV albo z poliolefiny, zwane pojemnikami „oddychającymi”, gdyż zapewniają lepszą wymianę gazów pomiędzy zawartością pojemnika, a środowiskiem zewnętrznym. Z tego względu pojemniki te przeznaczone są do przechowywania KKP w temperaturze od 20°C do 24°C przez 5 dni. Niewskazane jest przechowywanie krwi pełnej i różnych rodzajów KKCz (np. po podziale na porcje do użytku pediatrycznego) w pojemnikach „oddychających” dłużej niż przez 7 dni, gdyż może dojść do wzmożonej hemolizy krwinek czerwonych.

Używanie zestawów do automatycznej trombaferezy w skład, których wchodzi pojemniki ze zmodyfikowanego PCV lub poliolefiny pozwala na przechowywanie KKP uzyskanych za pomocą separatora komórkowego do 7 dni. W celu przechowywania odpowiedniej ilości krwinek płytkowych w pojemnikach należy postępować zgodnie z instrukcją obsługi danego zestawu do separatora. Jeśli w zestawie znajdują się dwa pojemniki do przechowywania, należy pamiętać, aby w każdym znalazła się jednakowa ilość koncentratu. Dren łączący pojemnik odbiorczy (jeśli jest używany) i pojemnik/pojemniki do przechowywania należy zamknąć zgrzewarką dielektryczną, a pojemnik odbiorczy usunąć.

Dostępne są również puste pojemniki „oddychające” o pojemności 1000 ml, które można wykorzystać do 7-dniowego przechowywania KKP zlewanych lub otrzymanych metodą automatycznej aferezy. Przeniesienie składnika krwi do takiego pojemnika musi być wykonane w układzie zamkniętym, tj. po dokonaniu połączenia za pomocą zgrzewarki do sterylnej łącznicy drenów (liczba krwinek płytkowych w pojemniku musi być dostosowana do wielkości powierzchni, przez którą następuje wymiana gazów).

Przechowując KKP do 7 dni należy pamiętać, iż wymiana gazów, zapewniająca komórkom warunki do utrzymania prawidłowych przemian metabolicznych zachodzi wówczas, gdy liczba krwinek płytkowych w koncentracie nie przekracza $1,5 - 2 \times 10^9/\text{ml}$, a pH utrzymuje się przez cały czas w granicach 6,4-7,4. Z tego względu należy zwrócić szczególną uwagę na ustalenie właściwej objętości KKP przeznaczonych do dłuższego przechowywania. Istotne znaczenie ma również zdolność wymiany gazowej pojemnika: może być ona odmienna w przypadku pojemników pochodzących od różnych producentów.

UWAGI:

A. Wybierając transferowe pojemniki „oddychające” należy zażądać od producenta ich dokładnej specyfikacji i podania, jaką ilość krwinek płytkowych w jakiej objętości osocza można przechować w danym typie pojemnika przez okres 7 dni. Sposób przechowywania należy dostosować do własności posiadanych pojemników i opisać w wewnętrznych SOP.

*B. Użycie do celów klinicznych KKP przechowywanego powyżej 5 dni możliwe jest **wyłącznie** po uzyskaniu ujemnych wyników badań bakteriologicznych (patrz Rozdz.... część I p. 9)*

Jeśli KKP był przechowywany w dwóch pojemnikach „oddychających”, przed wydaniem do transfuzji, koncentrat powinien być zebrany do jednego z pojemników a drugi, opróżniony pojemnik, po zgrzaniu drenu należy usunąć.

Do przechowywania komórkowych składników krwi lub komórek macierzystych w stanie zamrożenia w temperaturze poniżej -90°C służą wyłącznie pojemniki kriogeniczne z poliolefiny lub teflonu. Po odpowiednim przygotowaniu składnika należy przelać go do pojemnika kriogenicznego. Wlot pojemnika kriogenicznego powinien być natychmiast zamknięty przy użyciu specjalnej zgrzewarki. Niedopuszczalne jest stosowanie do mrożenia metalowych pojemników.

2. PRÓBKPI PILOTUJĄCE

Próbki pilotujące są to próbki danego składnika pobierane w celu albo wykonania

dotychczasowych badań laboratoryjnych, albo archiwizacji. Muszą one być pobierane w sposób wykluczający naruszenie integralności układu zamkniętego.

2.1. Technika wykonania próbek pilotujących

1. Używając rolera wprowadzić zawartość drenu/drenów do wnętrza pojemnika.
2. Nie zwalniając zacisku rolera wymieszać dokładnie zawartość pojemnika.
3. Zwolnić zacisk rolera i wypełnić dren/dreny składnikiem krwi.
4. Powtórzyć czynności opisane powyżej.
5. Za pomocą zgrzewarki dielektrycznej wydzielić z drenu żadaną ilość odcinków o odpowiedniej długości. Poszczególne odcinki oddzielać od siebie, co najmniej 2 zgrzewami w odległości 5-10 mm od siebie. Ostatni odcinek oddzielić od pojemnika ze składnikiem krwi 3 zgrzewami. Końcowy fragment drenu należy przeznaczyć na próbkę do kontroli serologicznej pobranej krwi lub jej składników (jeśli jest potrzebna).
6. Jeśli dana jednostka ma być poddana kontroli serologicznej, potrzebna do tego celu próbka może być odłączona od pozostałych próbek pilotujących i pojemnika z preparatem tylko przez pracownika wykonującego kontrolę serologiczną.
7. Próbkę pilotującą najlepiej odłączać od reszty drenu przez rozcięcie go nożyczkami w miejscu zgrzewu.
8. Nie odłączać od pojemnika ze składnikiem krwi próbek przeznaczonych do wykonania próby zgodności.

2.2. Oznakowanie próbek pilotujących

Próbka do kontroli serologicznej nie wymaga oznakowania, gdyż jest odłączana od pojemnika ze składnikiem krwi bezpośrednio przed wykorzystaniem.

Próbki do kontroli jakości i archiwizacji muszą być oznaczone numerem donacji i symbolem składnika, z którego zostały pobrane.

Próbki pilotujące przeznaczone do wykonania próby zgodności muszą zawierać informację dotyczącą grupy krwi układu ABO i Rh dawcy. Muszą być oznaczone tym samym numerem, jaki figuruje na pojemniku ze składnikiem, do którego są dołączone.

2.3. Krew pełna konserwowana do użytku klinicznego

Z drenu każdej jednostki KPK przeznaczonej do użytku klinicznego należy wydzielić próbkę pilotującą do kontroli serologicznej oraz 3 próbki do wykonania próby zgodności. Jeżeli KPK przeznaczona jest do dalszej preparatyki należy wydzielić próbkę do kontroli serologicznej i ewentualnie 3 próbki do wykonania próby zgodności.

W przypadku konieczności podziału jednej jednostki krwi pełnej na mniejsze porcje do użytku pediatrycznego, każdą z nich należy zaopatrzyć w dwie próbki pilotujące (do próby zgodności).

2.4. Koncentrat krwinek czerwonych

Każdy pojemnik zawierający KKCz powinien być zaopatrzony w 3 próbki pilotujące, które zostaną wykorzystane do wykonania próby zgodności. W niektórych przypadkach należy wykonać dodatkowe próbki pilotujące: do kontroli serologicznej (jeśli KKCz otrzymano metodą aferezy), do kontroli jakości składnika (na zlecenie DZJ).

W razie konieczności podziału jednej jednostki KKCz na mniejsze porcje do użytku pediatrycznego, każdą z nich należy zaopatrzyć w dwie próbki pilotujące (do wykonania próby zgodności).

2.5. Osocze, koncentrat krwinek płytkowych, koncentrat granulocytarny

Każdy pojemnik zawierający składnik krwi otrzymany metodą aferezy musi być

zaopatrzone w próbkę pilotującą do kontroli serologicznej. Dotyczy to jedynie składników macierzystych. W razie konieczności podziału składnika otrzymanego metodą automatyczną na mniejsze porcje (np. do użytku pediatrycznego, do produkcji krioprecypitatu) nie trzeba wykonywać próbek pilotujących z pojemników zawierających te porcje.

Takie same próbki (do serologicznej kontroli pobranych składników krwi) muszą być wykonane z każdego pojemnika zawierającego osocze otrzymane metodą plazmaferezy manualnej. Jeśli jest to podwójna plazmafereza, każdy z pojemników powinien być zaopatrzone we własne próbki pilotujące.

Nie jest wymagane sporządzanie próbek pilotujących do kontroli serologicznej z pojemników zawierających osocze oraz KKP, jeśli zostały one otrzymane podczas rozdziału krwi pełnej, w której wykonano kontrolę serologiczną.

UWAGA:

Wszystkie składniki krwi podlegające kontroli jakości należy zaopatrzyć w dodatkową próbkę pilotującą.

3. ROZDZIAŁ KRWI NA SKŁADNIKI

Rozdziału krwi na składniki dokonać można wykorzystując:

- a) różnicę ciężarów właściwych poszczególnych składników krwi (sedymentacja, wirowanie),
- b) różnicę wielkości składników komórkowych (filtracja),
- c) powinowactwo składników komórkowych do pewnych substancji (filtracja adsorpcyjna / adhezyjna).

Spontaniczny rozdział krwi na składniki w zależności od ich ciężaru właściwego zachodzi w procesie sedymentacji. Proces ten rozpoczyna się wkrótce po pobraniu krwi. Na dno pojemnika opadają najcięższe krwinki czerwone, nad nimi pozostaje osocze zawierające pozostałe składniki komórkowe. Po pewnym czasie opadają również i one, tworząc nad erytrocytami warstwę leukocytów i płytek krwi (kożuszek leukocytarno-płytkowy). Górną frakcję stanowi osocze pozbawione składników komórkowych. Zakończenie procesu spontanicznej sedymentacji następuje po upływie kilkunastu godzin. Aby przyspieszyć proces sedymentacji stosuje się metody wirownicze.

3.1. Wirowanie

Zastosowanie odpowiednio dobranych parametrów wirowania pozwala skrócić czas rozdziału krwi na wybrane frakcje oraz zmniejszyć ilość niepożądanych składników komórkowych. Przykładowe parametry wirowania zamieszczono w rozdziałach dotyczących poszczególnych składników. W razie potrzeby należy je jednak nieco zmodyfikować tak, aby otrzymywane składniki krwi spełniały kryteria kontroli jakości.

Siłę wirowania, wyrażoną w jednostkach G można przeliczyć na prędkość wirowania (obroty/min) wg następujących wzorów:

$$G = 1,12 \times r \left(\frac{\text{obroty/min}}{1000} \right)^2$$

$$\text{obroty/min} = 1000 \sqrt{\frac{G}{1,12 \times r}}$$

gdzie:

r - promień rotora w mm (mierzony od osi rotora do dna naczynia wirowniczego)

ustawionego w pozycji poziomej)
G - siła wirowania

Parametry wirowania, podane w części II i III tego rozdziału, mają wartości jedynie proponowane. Należy indywidualnie dostosować parametry wirowania do możliwości posiadanej wirówki. W przypadku wirówki osiągającej odpowiednio dużą siłę wirowania, można skrócić czas wirowania. Przeliczeń należy dokonać, korzystając z wzoru:

$$G_1 \times t_1 = G_2 \times t_2$$

gdzie:

G₁ - pierwotna siła wirowania

G₂ - żądana siła wirowania

t₁ - pierwotny czas wirowania

t₂ - żądany czas wirowania

Jeśli początkowo wirowano krew przez 20 min z siłą 1500 x g, można skrócić czas wirowania do 6 min, stosując siłę wirowania 5000 x g, co oblicza się w następujący sposób:

$$t_2 = \frac{G_1 \times t_1}{G_2} = \frac{1500 \times 20}{5000} = 6$$

g – przyspieszenie ziemskie

Dokonując zmian parametrów wirowania wg powyższego wzoru należy pamiętać jednak, że pozwala on jedynie na wyliczenie przybliżonych wartości. Nastawiany przez użytkownika czas, obejmuje zarówno efektywny czas wirowania (gdy wirówka osiągnęła już odpowiednie obroty) jak i czas, w którym wirówka nabiera obrotów (a ten jest różny dla każdego urządzenia, zmienia się nawet w przypadku tej samej wirówki, w zależności od stopnia jej zużycia; dlatego konieczne jest przeprowadzanie okresowej, ponownej walidacji). Ostateczne ustalenie parametrów wirowania powinno zostać dokonane w oparciu o wyniki kontroli jakości składników krwi uzyskiwanych przy użyciu danej wirówki.

Niektóre wirówki posiadają możliwość przyspieszonego uzyskiwania żądanych obrotów (ang. „acceleration”) oraz opcję hamowania (ang. „deceleration”). Wskazane jest takie zaprogramowanie wirówki, aby jak najszybciej osiągnęła oczekiwane obroty. Nie poleca się wymuszonego hamowania wirówki wówczas, gdy może spowodować to zmącenie granicy faz (otrzymywanie wszystkich rodzajów KKCz). Można zastosować hamowanie podczas wirowania osocza bogatopłytkowego (otrzymywanie KKP, rozmrażanie KKP) oraz przy produkcji krioprecypitatu metodą wirówkową.

Po odwirowaniu, rozdziału pełnej krwi na poszczególne składniki dokonać można techniką manualną lub automatyczną. Różnią się one sposobem pobierania frakcji otrzymanych w następstwie wirowania. Zastosowanie separatorów komórkowych umożliwia automatyczne uzyskanie żądanego składnika krwi (KKP, KG, KKCz).

3.2. Filtracja

3.2.1. Filtry kapilarne

Filtry kapilarne o odpowiedniej średnicy porów zatrzymując składniki komórkowe, umożliwiają oddzielenie osocza. Stosowane są w niektórych aparatach do automatycznej plazmaferezy.

3.2.2. Filtry adsorpcyjne i adhezyjne

Filtry adsorpcyjne i adhezyjne wykorzystują powinowactwo krwinek płytkowych i/lub

białych do pewnych materiałów i tworzyw (bawełna, octan celulozy, poliester, poliuretan, itp.). Zatrzymują także zanieczyszczenia komórkowe na drodze mechanicznej. W zależności od rodzaju tworzywa pozwalają na usunięcie większości leukocytów i płytek krwi z krwi pełnej oraz KKCz lub selektywną eliminację leukocytów z KKP, dlatego też zwane są filtrami antyleukocytarnymi. Zatrzymują również mikroagregaty.

Filtry antyleukocytarne charakteryzują się różną skutecznością usuwania krwinek białych i różną pojemnością, co wpływa na ilość składnika zatrzymanego w filtrze i tym samym na odzyskanie krwinek czerwonych lub płytkowych.

Końcowy wynik filtracji zależy nie tylko od rodzaju zastosowanego filtra; wpływają nań również parametry procesu filtracji (szybkość przepływu, temperatura, sposób wypełniania filtra, zastosowanie płukania po filtracji) oraz właściwości filtrowanego składnika (długość okresu przechowywania, wyjściowa zawartość leukocytów). Przed wprowadzeniem do użycia nowych filtrów należy przeprowadzić walidację procesu filtracji i tak określić sposób postępowania, aby uzyskać wyniki odpowiadające normom kontroli jakości.

4. ZAMRAŻANIE OSOCZA I KOMÓREK KRWI

4.1. Zamrażanie osocza

Wśród wielu białek, osocze zawiera labilne czynniki krzepnięcia: VIII i V. Ich aktywność spada już w pierwszych godzinach po pobraniu krwi, dlatego też osocze powinno być jak najszybciej oddzielone od składników komórkowych i zamrożone. Aby uniknąć strat labilnych czynników krzepnięcia podczas zamrażania, proces ten powinien trwać możliwie krótko, co można osiągnąć stosując specjalistyczny sprzęt chłodniczy, o temperaturze mrożenia od -40 do -80°C. Do aparatury tego typu należy zaliczyć:

- a) specjalne zamrażarki do osocza z wymuszonym obiegiem chłodzonego powietrza,
- b) alkoholowe łaźnie do zamrażania osocza,
- c) zamrażarki mechaniczne o temperaturze -80°C,

UWAGI:

- A) Prędkość procesu zamrażania zależy nie tylko od temperatury urządzenia chłodniczego, ale również od ilości zamrażanego materiału i sposobu jego rozmieszczenia.
- B) Aby osocze mogło być zakwalifikowane jako świeżo mrożone (FFP), winno osiągnąć stan całkowitego zamrożenia przed upływem 6-8 godz. od chwili pobrania, w zależności od metody jego uzyskania (8 godz. osocze otrzymane z krwi pełnej i 6 godz. osocze otrzymane podczas zabiegu plazmaferezy).

Proces zamrażania osocza musi zostać zwalidowany, powinien również podlegać ponownej walidacji co 12 miesięcy (patrz rozdział „System jakości w służbie krwi”). Warunki zamrażania muszą być tak ustalone (poprzez dobór ilości zamrażanych jednorazowo pojemników oraz sposób ich umieszczenia w aparacie chłodniczym), aby w ciągu 60 minut zawartość pojemników osiągnęła temperaturę poniżej -30°C.

4.2. Zamrażanie komórkowych składników krwi

Zamrażanie składników komórkowych krwi możliwe jest po dodaniu do nich specjalnych środków kriochronnych, np. glicerolu lub dwumetylosulfotlenku (DMSO). Wymaga ono zastosowania aparatury do kontrolowania prędkości procesu zamrażania lub specjalistycznego sprzętu chłodniczego (zamrażarki o temperaturze -80°C i/lub -140°C, zbiorniki kriogeniczne z ciekłym azotem). Komórkowe składniki mogą być przechowywane w stanie zamrożenia w temperaturze -80°C (zamrażarki), lub w temperaturze -140°C i niższej (zamrażarki, pary azotu).

4.2.1. Zamrażanie krwinek czerwonych

Glicerol jest substancją kriochronną, która najskuteczniej zapobiega uszkodzeniom erytrocytów w czasie zamrażania. Stosuje się odczynniki kriochronne o wysokim (ok. 40% w/v) lub niskim (ok. 20% w/v) stężeniu glicerolu. Wybór jednego z tych odczynników pociąga za sobą konieczność stosowania odmiennych technik zamrażania i rozmrażania oraz różnego rodzaju aparatury. Różnice pomiędzy obiema technikami zamrażania przedstawia tabela 2.

TABELA 2: Zastosowanie odczynników kriochronnych o wysokim i niskim stężeniu glicerolu w różnych technikach mrożenia krwinek czerwonych

	Wysokie stężenie glicerolu	Niskie stężenie glicerolu
Końcowe stężenie glicerolu (w/v)	ok. 40%	ok. 20%
Tworzywo pojemników do zamrażania KKCz	PCV, poliolefina, teflon	teflon, poliolefina
Prędkość zamrażania	powolna	szybka
Końcowa temperaturze zamrażania	- 80°C	Poniżej - 140°C
Sprzęt do zamrażania *)	zamrażarka mechaniczna	pojemniki z ciekłym azotem
Najwyższa dopuszczalna temperaturze przechowywania	- 60°C	- 140°C
Przechowywanie	zamrażarka mechaniczna	pary azotu **)
Transport w stanie zamrożenia	suchy lód	pary azotu
Czas przechowywania w stanie zamrożenia	do 10 lat i dłużej	do 10 lat i dłużej
Aparatura do deglicerolizacji	konieczna	zbędna

*) W każdym wypadku można użyć także aparatury z kontrolowaną prędkością procesu zamrażania.

**) Do przechowywania można też wykorzystać zamrażarki mechaniczne o temperaturze - 140°C.

5. PRZECHOWYWANIE KRWI I JEJ SKŁADNIKÓW

Obowiązujące warunki przechowywania oraz kontroli wyposażenia używanego do przechowywania krwi i jej składników przedstawiono w rozdziale „Przechowywanie i wydawanie krwi i jej składników oraz produktów krwiopochodnych – dział ekspedycji” oraz w rozdziale „System jakości w służbie krwi”.

6. KARENCJONOWANIE OSOCZA I KRIOPRECYPITATU

Karencję osocza i krioprecypitatu stosuje się w celu zmniejszenia możliwości przeniesienia zakażeń wirusowych przez ich przetoczenie. Karencjonowanie polega na przechowywaniu składnika krwi, przez co najmniej 16 tygodni i sprawdzeniu po tym czasie

wyników oznaczeń markerów wirusów u dawcy, z którego krwi uzyskano dany składnik.

Za karencjonowany uznaje się składnik krwi pochodzący z krwi dawcy, dla którego, w co najmniej dwóch badaniach uzyskano ujemne wyniki oznaczeń markerów HIV, zapalenia wątroby typu B i C oraz kiły. Pierwsze badanie jest to badanie wykonane w dniu obserwowanej donacji, zaś ostatnie (drugie) badanie musi być przeprowadzone dla próbek pobranych po upływie, co najmniej 16 tygodni od obserwowanej donacji. Ma to na celu eliminację tzw. „okienka serologicznego” u dawcy, czyli wczesnego okresu zakażenia, w którym pomimo obecności czynników patogennych jeszcze się ich nie wykrywa stosowanymi metodami.

Karencjonowaniu mogą być poddawane jedynie składniki krwi o długim okresie ważności, tj. FFP, osocze mrożone, krioprecypitat, osocze bez cz. VIII oraz osocze odpadowe i tylko wówczas, gdy otrzymano je z krwi pobranej od wielokrotnych, zgłaszających się systematycznie dawców.

Do użytku klinicznego należy przeznaczać osocze poddawane karencji. Etykieta takiego preparatu powinna zawierać informację: „Składnik po karencji”. W wyjątkowych sytuacjach dopuszcza się wydanie do użytku klinicznego nie karencjonowanego osocza, które musi być oznakowane w następujący sposób: „Składnik bez karencji. Możliwość przeniesienia zakażenia wirusowej taka sama, jak po przetoczeniu KKCz”.

7. NAPROMIENIOWYWANIE SKŁADNIKÓW KRWI

Żywe limfocyty zawarte w składnikach krwi mogą wywoływać potransfuzyjną chorobę przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u: pacjentów z niewydolnością układu immunologicznego, dzieci z ostrym zespołem niewydolności immunologicznej i u noworodków o małej wadze urodzeniowej. Ryzyko tego powikłania występuje także u pacjentów, u których wykonywane są: transfuzje od dawców rodzinnych (I i II stopień pokrewieństwa), transfuzje składników krwi dobieranych w układzie HLA, oraz transfuzje dopłodowe.

Limfocyty mogą być pozbawione możliwości namnażania się poprzez zastosowanie promieniowania jonizującego. Promieniowanie to nie wykazuje istotnego wpływu na pozostałe składniki krwi, w związku z tym mogą one być bezpiecznie podawane pacjentom.

Procedura napromieniowywania musi być tak poprowadzona, aby każda część składnika otrzymała dawkę promieniowania nie mniejszą niż 25 Gy i nie większą niż 50 Gy. Czas ekspozycji musi być zwalidowany dla każdego źródła promieniowania i poddawany systematycznej ponownej walidacji z uwzględnieniem czasu rozpadu izotopu.

Krwinki czerwone mogą być napromieniowywane w ciągu 14 dni od daty pobrania i po napromieniowaniu przechowywane do 28 dni od daty pobrania. Krwinki czerwone przeznaczone do transfuzji wewnątrzmacicznych i masywnych transfuzji u noworodków, z uwagi na zwiększoną utratę jonów potasu pod wpływem napromieniowania, muszą być użyte w ciągu 48 godzin od napromieniowania.

Napromieniowane krwinki płytkowe mogą być użyte zgodnie z oryginalną datą ważności.

Pojemniki ze składnikami krwi przeznaczonymi do napromieniowania należy oklejać promienioczułą nalepką.

8. SKŁADNIKI KRWI POZBAWIONE WIRUSA CYTOMEGALII

Cytomegalowirus (CMV) może być przeniesiony podczas transfuzji składników krwi. Ryzyko przeniesienia wirusa jest bardzo duże, gdy przetaczane są świeże składniki, zawierające mono- i wielojądrzaste leukocyty. U zdrowych osób zakażenie CMV przebiega często bezobjawowo. Przeciwciała pojawiają się zazwyczaj 4 do 8 tygodni po zakażeniu i ich obecność może być potwierdzona za pomocą standardowych badań przeglądowych.

Zakażenie tym wirusem zazwyczaj nie ma istotnego znaczenia klinicznego u pacjentów z

prawidłową odpornością. Może natomiast wywołać poważne, nawet śmiertelne powikłania u tych pacjentów, którzy wcześniej nie byli poddani ekspozycji na wirus:

- biorców przeszczepów;
- pacjentów z ciężkim niedoborem odporności;
- płodów (podczas transfuzji wewnątrzmacicznych);
- anty-CMV ujemnych kobiet ciężarnych;
- wcześniaków o małej wadze urodzeniowej - niemowląt i noworodków.

Pacjenci ci w celu zmniejszenia ryzyka przeniesienia infekcji CMV powinni otrzymywać składniki krwi od wybranych dawców lub poddane odpowiedniej preparatyce.

Zastosowanie składników od dawców anty-CMV ujemnych lub składników ubogoleukocytarnych w znaczący sposób zmniejsza ryzyko przeniesienia CMV. Jednak żadna ze znanych metod stosowana pojedynczo lub w połączeniu z inną metodą nie zapobiega w 100% przeniesieniu CMV w przypadku wirerii we wczesnym etapie ostrej infekcji.

9. KONTROLA BAKTERIOLOGICZNA KRWI I JEJ SKŁADNIKÓW

Rutynowej kontroli bakteriologicznej nie podlegają te składniki krwi, które poddawane są preparatyce w zamkniętym systemie pojemników z tworzyw sztucznych. Kontrola taka jest niezbędna jedynie w procesie walidacji zgrzewarki do sterylnej łącznicy drenów oraz walidacji odkażania miejsca wkłucia (patrz rozdział „System jakości w służbie krwi”).

W tych pracowniach, w których otrzymuje się składniki krwi, przy pomocy systemu otwartego, powinna być prowadzona systematyczna (jeden raz w tygodniu) kontrola sterylności używanej komory z laminarnym przepływem powietrza. Obowiązuje również prowadzenie odpowiedniej dokumentacji.

Każdy KKP, którego czas przechowywania przedłużony jest do 7 dni podlega kontroli bakteriologicznej. Próbek do badań (2 – 5 ml z jednej jednostki) powinny być pobierane 48 godzin po donacji. Próbkę o większej objętości (5 – 10 ml) mogą być pobierane 24 godziny po donacji. Próbkę do kontroli bakteriologicznej powinny być pobierane ściśle według instrukcji podanych przez producenta sprzętu stosowanego do tych badań. Jeżeli przy pobieraniu nie zostaną zachowane sterylne warunki, można uzyskać fałszywie dodatnie wyniki badań.

10. WYPOSAŻENIE DZIAŁU PREPARATYKI KRWI

Zakres wykonywanej preparatyki zależy od wyposażenia działu. Podstawowe wyposażenie stanowią: wirówki z regulacją temperatury wirowania, lodówki o temperaturze od 2°C do 6°C, zamrażarki o temperaturze poniżej -30°C, zgrzewarki dielektryczne oraz sprzęt chłodniczy do zamrażania osocza w temperaturze od -40 °C do -80°C. Rozszerzenie zakresu preparatyki umożliwiają: komory z laminarnym przepływem sterylnego powietrza, zamrażarki o temperaturze -80°C, zamrażarki o temperaturze -140°C, zbiorniki kriogeniczne z ciekłym azotem, urządzenia z programowaną prędkością procesu zamrażania, zgrzewarki do pojemników teflonowych, łaźnie do produkcji krioprecypitatu metodą syfonową, łaźnie wodne z regulacją temperatury i mieszaniem, mieszadła do przechowywania KKP (horyzontalne i/lub obrotowe), urządzenia do rozmrażania, urządzenia do sterylnej łącznicy drenów, oraz radiatory.

Preparatykę krwi przyspieszają i ułatwiają automatyczne prasy do oddzielania osocza. Specjalne komory termostatujące, w których umieszczone są mieszadła zapewniają stałą temperaturę przechowywania KKP i odpowiednie warunki mieszania.

Osocze oraz krioprecypitat powinno być przechowywane w zamrażarkach lub centralnych mroźniach wyposażonych w alarm dźwiękowy i wizualny. Temperatura tych urządzeń kontrolowana jest za pomocą dwóch niezależnych mierników.

11. DOKUMENTACJA DZIAŁU / PRACOWNI PREPARATYKI KRWI

Dokumentację należy prowadzić w systemie komputerowym. W przypadku braku systemu komputerowego, należy prowadzić dokumentację w postaci protokołów lub ksiąg laboratoryjnych. Powinno z niej wynikać: skąd otrzymano materiał do preparatyki, jakie składniki wykonano i w jaki sposób oraz gdzie zostały one przekazane. Szczególny nacisk należy położyć na przejrzystą dokumentację kontroli badań w kierunku nosicielstwa chorób wirusowych i kiły oraz na dokumentację sposobu eliminacji składników otrzymanych z krwi zakażonych dawców.

Rodzaj, ilość i sposób prowadzenia poszczególnych protokołów / ksiąg zależą od zakresu preparatyki.

11.1. Centra

11.1.1. Dokumentacja preparatyki podstawowej

W centrum obowiązuje dokumentowanie w systemie komputerowym wszystkich czynności związanych z podstawową preparatyką, czyli z preparatyką krwi pełnej i składników pobranych metodą aferezy. Zapis komputerowy powinien obejmować, co najmniej następujące dane:

- data dostarczenia surowca do działu preparatyki,
- numer donacji,
- grupa krwi układu ABO i Rh,
- nazwa surowca – zgodnie ze stanem faktycznym,
- objętość surowca (w ml),
- nazwy i ilość wykonanych składników (w jednostkach) – zgodnie ze stanem faktycznym.

Oprócz zapisu w komputerze obowiązuje archiwizacja wydruków komputerowych.

Zaleca się wprowadzenie takiego samego sposobu dokumentacji w oddziałach terenowych wyposażonych w system komputerowy z dokumentacyjnym programem komputerowym.

11.1.2. Dokumentacja zamrażania FFP

Osocze po zamrożeniu można zakwalifikować jako FFP wówczas gdy, sposób mrożenia spełnia wymagania określone w p. 4.1. niniejszego rozdziału. Zamieszczony poniżej protokół umożliwi kontrolę prawidłowości procesu zamrażania FFP:

Data otrzymywania FFP:							
Numer donacji	Objętość osocza	Godzina i minuta zakończenia donacji	Godzina i minuta rozpoczęcia mrożenia	Godzina i minuta zakończenia mrożenia	Czas trwania mrożenia	Czas trwania preparatyki	Podpis osoby kwalifikującej składnik jako FFP

11.1.3. Dokumentacja otrzymywania zlewanych KKP

Dokumentując otrzymywanie zlewanych KKP najlepiej posługiwać się sporządzanymi we własnym zakresie protokołami. Ze względu na to, że stosuje się dwie równorzędne metody wytwarzania zlewanych KKP, należy wprowadzić odpowiadające im rodzaje formularzy.

11.1.3.1. Protokół otrzymywania zlewanych KKP (z osocza bogatopłytkowego)

Data otrzymywania zlewanych KKP	Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data pobrania krwi	Termin ważności zlewanych KKP	Podpis osoby wykonującej

11.1.3.2. Protokół otrzymywania zlewanych KKP (z kożuszków leukocyтарно-пłytkowych)

Data otrzymywania zlewanych KKP:			Termin ważności zlewanych KKP:		
Podpis osoby wykonującej:					
Kožuszki leukocyтарно-пłytkowe			Osocze		
Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data pobrania	Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data pobrania

11.1.4. Dokumentacja uzupełniająca

Przykładowe wzory dokumentacji wykonania pozostałych składników krwi zamieszczono poniżej.

11.1.4.1. Protokół preparatyki KKCz

Data preparatyki:						
Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Wykonana czynność			Podpis osoby wykonującej
			Filtracja	Przemywanie	Napromieniowanie	

11.1.4.2. Protokół preparatyki KKP

Data preparatyki:						
Numer(y) donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Wykonana czynność			Podpis osoby wykonującej
			Filtracja	Przemywanie	Napromieniowanie	

11.1.4.3. Protokół otrzymywania krwi pełnej rekonstruowanej (KPR)

Data preparatyki:				Podpis osoby wykonującej:			
KKCz				FFP			
Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Objętość	Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Objętość

11.1.4.4. Protokół otrzymywania rekonstruowanego KKP

Data preparatyki:		
KKP	FFP	Podpis osoby

Numer donacji	(y)	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Objętość	wykonującej

11.1.4.5. Protokół otrzymywania mrożonego KKCz

Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data donacji	Zamrażanie		Rozmrażanie	
			Data	Podpis osoby wykonującej	Data	Podpis osoby wykonującej

11.1.4.6. Protokół otrzymywania mrożonego KKP

Numer donacji	(y)	Grupa układu ABO i Rh	Zamrażanie		Rozmrażanie			
			Data	Podpis osoby wykonującej	Numer donacji FFP	Objętość FFP	Data	Podpis osoby wykonującej

11.1.4.7. Protokół otrzymywania porcji pediatrycznych

Data preparatyki:							
Składnik macierzysty				Podział na porcje			
Nazwa	Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Objętość	1 Objętość (ml)	2 Objętość (ml)	3 Objętość (ml)	Podpis osoby wykonującej

11.1.4.8. Protokół produkcji krioprecypitatu

Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	Data pobrania osocza (FFP)	WYKONANO			UWAGI
			Krioprecypitat (1 jedn.)	Osocze bez AHG (1 jedn.)	Podpis osoby wykonującej	

11.2. Oddziały terenowe

W oddziałach terenowych, które wykonują jedynie podstawową preparatykę i przekazują wszystkie otrzymane składniki do centrum, zaleca się codzienne wypełnianie protokołu preparatyki (korzystając z formularza dostarczanego przez centrum):

11.2.1. Protokół preparatyki

Data preparatyki:					
Numer donacji	Grupa układu ABO i Rh	OTRZYMANO (ml)		WYKONANO (1 jedn.)	
		Krew pełna	Osocze (FFP)	KKCz	Podpis osoby wykonującej

Gdy preparatyce poddawane jest również osocze pobrane metodą plazmaferezy, rubrykę „Otrzymano” należy podzielić na 2 części: „Krew pełna” i „Osocze”. Jeśli zdarza się, że OT wytwarza również osocze mrożone, do rubryki „Wykonano” trzeba wprowadzić dodatkowe pole, przeznaczone do dokumentacji tej produkcji.

11.2.2. Protokół preparatyki i ekspedycji

Jeśli wytworzone w OT składniki krwi przekazywane są kilku odbiorcom (np. do centrum oraz do banku krwi w miejscowym szpitalu), obowiązuje prowadzenie protokołu dokumentującego wykonaną preparatykę i dalsze przeznaczenie poszczególnych składników:

Numer donacji	Data pobrania	Grupa układu ABO i Rh	OTRZYMANO (ml)		WYKONANO			
			Krew pełna	Osocze	KKCz	FFP	Osocze mrożone	Podpis

WYDANO									UWAGI
Krew pełna (1 jedn.)			KKCz (1 jedn.)			Osocze (1 jedn.)			
Odbiorca	Data	Podpis	Odbiorca	Data	Podpis	Odbiorca	Data	Podpis	

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Jeśli w OT nie wykonuje się zabiegów plazmaferezy, można zrezygnować z rubryki „Otrzymano osocze”. Odpowiednio zbędne mogą okazać się rubryki „Wykonano osocze mrożone” oraz „Wydano krew pełną” – gdy obowiązujące procedury nie przewidują takiego postępowania.

11.2.3. Dokumentacja uzupełniająca

Każdy OT wytwarzający FFP zobowiązany jest do dokumentowania przebiegu tego procesu wg wzoru przedstawionego w p. 11.1.2. Wszystkie pozostałe czynności powinny być dokumentowane przy użyciu protokołów przedstawionych w p. 11.1.3. oraz 11.1.4.

12. KWALIFIKOWANIE SKŁADNIKÓW KRWI DO UŻYCIA

Do celów klinicznych, dalszej preparatyki, fabrycznego frakcjonowania należy stosować składniki krwi, które zostały poddane uprzednio serologicznej kontroli układu ABO i antygeny D. Do dalszego użytku mogą być przeznaczone wyłącznie składniki krwi, otrzymane z krwi dawców, którzy nie są nosicielami chorób wirusowych i/lub kiły. Oznaczenia wykrywające antygen HBs (HBsAg), przeciwciała anti-HCV, przeciwciała anti-HIV1/2, podwyższoną aktywność ALAT oraz testy kiłowe i testy stwierdzające obecność materiału genetycznego HBV, HCV i HIV (DNA HBV, RNA HCV i RNA HIV), które mają na celu wyeliminowanie osób zakażonych z grona dawców, są jednocześnie badaniami kwalifikującymi krew i jej składniki do dalszego użytku lub kasacji. Aby uniknąć możliwości dopuszczenia do obrotu składników krwi pochodzących od zakażonego dawcy, oraz od dawcy, u którego wykryto przeciwciała odpornościowe do krwinek czerwonych (patrz „Dział immunologii transfuzjologicznej”), należy wprowadzić przedstawiony poniżej system zabezpieczeń.

1. Wyniki badań HBsAg, DNA HBV, anti-HCV, RNA HCV, anti-HIV1/2, RNA HIV, testu kiłowego, ALAT i przeciwciał odpornościowych powinny być przekazywane do działu preparatyki w formie wspólnego wydruku komputerowego. Jeśli nie ma takiej możliwości, dopuszcza się zastąpienie wydruku protokołem, sporządzonym według zamieszczonego poniżej wzoru. Przedstawiony poniżej wzór pozwala za pomocą jednego protokołu udokumentować wyniki badań krwiodawców i fakt kwalifikacji składników krwi. Gdy podstawą kwalifikacji jest wydruk z programu komputerowego, fakt dokonania kwalifikacji należy potwierdzić osobnym protokołem lub na wydruku umieścić pieczętkę o treści „Dokonano kwalifikacji” oraz datę i czytelne podpisy osób biorących udział w dopuszczeniu składników do obrotu.
2. Dopuszczenie do obrotu krwi i jej składników powinno odbywać się komisyjnie. W skład komisji powinny wchodzić osoby z: działu zapewnienia jakości, działu immunologii transfuzjologicznej i działu preparatyki krwi:
 - jedna osoba odczytuje numer donacji umieszczony na pojemniku,
 - druga osoba sprawdza wyniki badań dawcy w kierunku nosicielstwa chorób wirusowych i kiły oraz wyniki oznaczeń przeciwciał w protokole zbiorczym.

Powyższa procedura powinna odbywać się w ten sam sposób dla każdego rodzaju składników z osobna. Postępowanie to obowiązuje również podczas zwalniania składników krwi z jednoczesnym wykorzystaniem systemu komputerowego. Wykluczone jest wyszukiwanie składników krwi zakażonych spośród wszystkich wyprodukowanych w danym dniu.

3. Etykieta ostateczna powinna zawierać adnotację dotyczącą ujemnych wyników badań dawcy w kierunku nosicielstwa chorób wirusowych i kiły o następującej treści:

Wyniki badań wirusowych i kiły ujemne

Adnotacja ta odnosi się wyłącznie do obowiązujących w krwiodawstwie badań i może być ona umieszczona na etykiecie pojemnika ze składnikiem krwi dopiero po faktycznym uzyskaniu wyników tych badań (w przypadku FFP - dopiero po zamrożeniu osocza). Obok informacji o ujemnych wynikach badań kwalifikacyjnych na etykiecie powinien znaleźć się podpis (sygnatura) osoby, która sprawdziła wyniki badań w protokole zbiorczym i dopuściła składnik do obrotu.

Jeżeli dla danej donacji dodatkowo wykonywane są inne badania np. w kierunku nosicielstwa wirusa cytomegalii (CMV), to na etykiecie ostatecznej należy umieścić informację o wyniku tych badań w formie opisowej np.:

anty-CMV: (-) ujemny

lub

DNA CMV: (-) ujemny

4. Krew i jej składniki pochodzące od dawcy, u którego wykryto odpornościowe przeciwciała można zakwalifikować do przetoczenia, jeśli spełniają warunki podane w rozdziale „Dział immunologii transfuzjologicznej” Wobec tego, że krwi (i jej składników), w której wykryto przeciwciała odpornościowe nie wolno przetaczać noworodkom, a można ją przetoczyć pacjentom w innych grupach wiekowych, komisja winna na kartce dołączonej do pojemnika umieścić informację: „Nie wolno przetaczać noworodkom” Jeśli warunki wymienione w rozdziale „Dział immunologii transfuzjologicznej” nie są spełnione, krew lub jej składniki należy przekazać do działu immunologii transfuzjologicznej lub zniszczyć.
5. Składniki uzyskane z krwi dawców, u których stwierdzono dodatnie wyniki któregośkolwiek z testów przeglądowych HBsAg, DNA HBV, anty-HCV, RNA HCV, anty-HIV1/2, lub RNA HIV, dodatni wynik odczynów kilowych, aktywność AlAT ponad dwukrotnie przekraczającą wartość górnej granicy normy dla danej metody oznaczania, muszą być wyeliminowane i zniszczone, gdyż mogą spowodować przeniesienie chorób zakaźnych. Nie dotyczy to osocza, z którym należy postępować zgodnie ze wskazaniami w Rozdziale „Diagnostyka czynników zakaźnych przenoszonych przez krew”.
6. Jeśli wynik któregośkolwiek z badań dawcy nie jest jeszcze znany, wszystkie składniki krwi otrzymane z takiej donacji należy oznaczyć jako „zastrzeżony” i do czasu otrzymania kompletu wyników przechowywać w wydzielonym miejscu, w warunkach przewidzianych dla danego składnika.
7. Składniki krwi dopuszczone do obrotu nie mogą być przechowywane razem (w jednej lodówce lub zamrażarce) ze składnikami pochodzącymi od zakażonych dawców lub tymi, których wyniki badań nie są jeszcze znane.
8. Protokoły zbiorcze z wynikami badań dawców i/lub protokoły potwierdzające dokonanie kwalifikacji należy przechowywać przez co najmniej 30 lat.

PROTOKÓŁ ZBIORCZY WYNIKÓW BADAŃ KRWIODAWCÓW

..... centrum w:

Data pobrania próbek:

Data wykonania badań:

Numer donacji	AIAT	HBsAg	DNA HBV	anty-HCV	RNA HCV	anty-HIV1/2	RNA HIV	Test kitowy	Przeciwciała odpornościowe
XX-YY-1110	8 IU (N)	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	NB
XX-YY-1111	41 IU (N)	(-) ujemny	(-) ujemny	(+) dodatni	NB	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	NB
XX-YY-1113	126 IU (D)	(+) dodatni	NB	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) nie stw.
XX-YY-1115	111 IU (D)	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	NB
XX-YY-1116	4 IU (N)	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(-) ujemny	(+) obecne

N = Norma

D = Dyskwalifikacja

NB = Nie badano

Badanie AIAT wykonał: (podpis, data)

Badania HBsAg, anty-HCV, anty-HIV1/2 wykonali: (podpis, data)

Badanie DNA HBV, RNA HCV, RNA HIV wykonali: (podpis, data)

Test kitowy wykonał: (podpis, data)

Badanie przeciwciał odpornościowych wykonali: (podpis, data)

Dnia sprawdzono wyniki badań i dokonano kwalifikacji składników krwi

..... (podpis)

..... (podpis)

..... (podpis)

UWAGA:

Zaleca się dokonywanie kwalifikacji połączonej z wydrukiem etykiety na poszczególne składniki krwi. Takie postępowanie stanowi dodatkowe zabezpieczenie przed dopuszczeniem do obrotu składnika pochodzącego od zakażonego dawcy, jeśli system komputerowy uniemożliwia wydruk etykiety w przypadku dodatnich wyników badań kwalifikacyjnych oraz wówczas, gdy badania te nie zostały wykonane lub zakończone.

II. POWSZECHNIE OTRZYMYWANE SKŁADNIKI KRWI

W oparciu o podane niżej wskazówki, dotyczące metod otrzymywania poszczególnych składników krwi, należy sporządzić własne procedury otrzymywania tych składników (SOP), określające dokładnie np. warunki wirowania oraz rodzaj i sposób dokonywania połączeń. Procedury te powinny być umieszczone w stałym i łatwo dostępnym dla wszystkich pracowników miejscu. Osoby, które podejmują pracę w dziale preparatyki krwi muszą dokładnie zapoznać się z procedurami otrzymywania poszczególnych składników krwi.

Wdrożenie otrzymywania innych składników krwi niż wymienione w tej publikacji lub zmiana metod otrzymywania takich składników może nastąpić po uzyskaniu pisemnej akceptacji Instytutu Hematologii i Transfuzjologii.

Temperatura urządzeń do przechowywania i transportu krwi i jej składników musi być systematycznie kontrolowana i dokumentowana. Przed dopuszczeniem urządzeń do użytku należy przeprowadzić ich kwalifikację i walidację, a co 12 miesięcy należy przeprowadzać ponowną walidację za pomocą atestowanego miernika (patrz rozdział „System jakości w służbie krwi”).

1. KREW PEŁNA KONSERWOWANA (KPK)

1.1. Definicja i właściwości

Pełna krew do transfuzji pobierana jest od zdrowych dawców przy użyciu sterylnych pojemników z tworzywa sztucznego, zawierających apirogenny płyn konserwujący. Jedną jednostkę (1 jedn.) stanowi 450 ml krwi pełnej ($\pm 10\%$), zmieszanej z odpowiednią objętością płynu konserwującego.

Poszczególne składniki pełnej krwi zachowują niezmiennione właściwości tylko przez pewien czas. Podczas przechowywania w stanie płynnym zachodzą w nich liczne zmiany, np. spadek zdolności przenoszenia tlenu i utrata żywotności krwinek czerwonych, obniżenie aktywności hemostatycznej czynników krzepnięcia (przede wszystkim cz. VIII i V), utrata zdolności funkcjonalnych i rozpad krwinek płytkowych, powstawanie mikroagregatów, uwalnianie składników wewnątrzkomórkowych, np. K^+ , proteaz leukocytarnych oraz aktywacja czynników osoczowych, np. kalikreiny.

1.2. Sposób otrzymywania

Krew w ilości 450 ml $\pm 10\%$ należy pobierać do pojedynczych pojemników z tworzywa sztucznego, zawierających CPD lub CPDA-1. Jeśli krew ma być przeznaczona do dalszej preparatyki, należy pobrać ją do pojemnika z płynem konserwującym stanowiącego część zestawu pozwalającego na jej odpowiednie rozfrakcjonowanie. Jeśli pobrano mniej niż 405 ml krwi i nie usunięto wcześniej nadmiaru płynu konserwującego - jednostkę należy zniszczyć lub po odwirowaniu (patrz p. 2.2.1.1.) zniszczyć krwinki, a uzyskane osocze wykorzystać jako osocze odpadowe.

1.3 Wykonanie próbek pilotujących

Natychmiast po pobraniu wykonać próbki pilotujące zgodnie z zasadami podanymi w rozdz. 6. część I p. 2.

1.4. Oznakowanie składnika

Jednostki krwi pełnej przeznaczone do dalszej preparatyki winny być oznaczone datą i numerem donacji, a w przypadku dawców wielokrotnych również symbolem grupy krwi z układu ABO i Rh. Jeśli donacja miała miejsce poza placówką służby krwi (ekipa wyjazdowa),

na pierwotnej etykiecie pojemnika należy podać także czas donacji i godzinę zakończenia donacji, co pozwoli ustalić, czy uzyskane osocze można będzie zakwalifikować jako FFP oraz czy można będzie wykonać KKP.

Pojemniki z krwią pełną, przeznaczoną do przetoczeń, przed wydaniem do działu ekspedycji należy okleić etykietami, zawierającymi następujące informacje:

1. Nazwa centrum, na terenie którego otrzymano składnik.
2. Nazwa: „Krew pełna konserwowana” lub „KPK”.
3. Grupa układu ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Inne oznaczone antygeny krwinek czerwonych.
5. Nr jednostki (odpowiadający numerowi donacji).
6. Ilość krwi.
7. Rodzaj płynu konserwującego.
8. Data pobrania.
9. Data ważności.
10. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich testów).
11. Wskazówki:
 - „Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6 °C”.
 - „Nie przetaczać w przypadku stwierdzenia hemolizy, innych zmian składnika lub uszkodzenia pojemnika”.
 - „Przetaczać przez filtr 170-200 µm”.

UWAGI:

- A. Jako ilość krwi podawać: "Jedna jednostka" (1 jedn.) i objętość w ml (w przypadku porcji do użytku pediatrycznego - tylko rzeczywistą objętość w ml). Jeśli pobrano mniej niż 405 ml krwi (przy zachowaniu wymaganej proporcji płynu konserwującego), podawać tylko faktyczną objętość w ml - również na etykietach składników krwi uzyskanych z takiej donacji podawać tylko objętość w ml.
- B. Jeśli dokonano podziału jednej jednostki na porcje do użytku pediatrycznego, numer opakowania powinien stanowić numer donacji łamany przez symbol porcji. Jako symbolu porcji należy używać cyfr arabskich, np. przy podziale na 3 porcje: 24-00-8112/1, 24-00-8112/2, 24-00-8112/3.

Do pojemnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej. Powinna ona zawierać informacje wyszczególnione w punktach 1, 2, 7, i 11 oraz podane w p. 1.6., 1.8., 1.9., 1.10. i 1.11. niniejszego rozdziału. Wprowadzenie takiej ulotki zwalnia z umieszczania na etykiecie informacji przedstawionych w punktach 7 i 11.

1.5. Przechowywanie i termin ważności

1. Krew pełną, przeznaczoną do transfuzji należy jak najprędzej po pobraniu umieścić w temperaturze od 2 °C do 6 °C i przechowywać ją w tej temperaturze. Dopuszczalne jest przechowywanie krwi do 2 godz. po pobraniu w temperaturze pokojowej, aby nastąpiła fagocytoza bakterii, które ewentualnie mogły dostać się do pojemnika. Termin ważności krwi pełnej pobranej na płyn CPD wynosi 21 dni, zaś krwi pobranej do płynu CPDA-1: 35 dni.
2. Jeżeli krew przeznaczona jest do dalszej preparatyki w celu uzyskania KKP to należy ją jak najszybciej schłodzić do temperatury od 20 °C do 24 °C i przechowywać w tej temperaturze nie dłużej niż 5 godz. do chwili rozpoczęcia preparatyki. Jeśli nie można rozpocząć preparatyki w tym terminie, krew pełną jak najszybciej schłodzić do temperatury od 2 °C do 6 °C i przechowywać w tej temperaturze do dalszej preparatyki w trakcie, której nie otrzymuje się KKP.

1.6. Transport

Krew pełna powinna być transportowana w warunkach poddanych walidacji, w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi. Krew przeznaczona do dalszej preparatyki w celu uzyskania KKP powinna być transportowana w warunkach poddanych walidacji w temperaturze od 20 °C do 24°C.

1.7. Kontrola jakości krwi pełnej

Kontrola jakości krwi pełnej obejmuje testy, zebrane w tabeli 3.

TABELA 3: Kontrola jakości krwi pełnej

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Grupa krwi	A, B, O, AB	Każda jednostka
2	Rh D	dodatni, ujemny	
3	Test kiłowy	ujemny	
4	HBsAg	ujemny	
5	DNA HBV	ujemny	
6	anty-HCV	ujemny	
7	RNA HCV	ujemny	
8	anty-HIV1/2	ujemny	
9	RNA HIV	ujemny	
10	AIAT	< 2 x górna wartość normy metody	
11	Objętość (ml)	450± 10% bez antykoagulantu	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 4 jedn. / miesiąc)
12	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 45	4 jedn. / miesiąc
13	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	<0,8% masy krwinek czerwonych	4 jedn./ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

1.8. Wskazania do stosowania

Krew pełna konserwowana stanowi przede wszystkim materiał do izolowania składników krwi, a wskazania do jej stosowania w krwiolecznictwie są bardzo ograniczone. Powinna być stosowana jedynie w tych przypadkach, w których występuje równocześnie niedobór erytrocytów i znaczny spadek objętości krwi krążącej (> 25%) oraz do przygotowania składników do transfuzji wymiennych dla noworodków.

1.9. Przeciwwskazania

1. Niedokrwistość bez spadku objętości krwi,
2. różnego typu nietolerancje osocza,
3. nietolerancje spowodowane alloimmunizacją antygenami leukocytów.

1.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności),
2. należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

1.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
4. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym krwi.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażona krew przed przetoczeniem była przechowywana w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
8. Alloimmunizacja antygenami HLA i antygenami krwinek czerwonych.
9. Zatrucie cytrynianem - może wystąpić po przetoczeniu dużych ilości krwi pełnej u noworodków i chorych z zaburzeniami czynności wątroby.
10. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
11. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
12. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI - Transfusion Related Acute Lung Injury).
13. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

2. KONCENTRAT KRWINEK CZERWONYCH (KKCz)

2.1. Definicja i właściwości

Jedna jednostka KKCz jest to składnik krwi uzyskany z jednej jednostki pełnej krwi po usunięciu z niej większości osocza. Zawiera wszystkie krwinki czerwone obecne w jednej jednostce pełnej krwi (hematokryt od 0,65 do 0,75) oraz, w zależności od warunków wirowania, różną ilość płytek krwi i leukocytów.

Preparatyka powinna być wykonana podczas jednego etapu, tak szybko jak to możliwe po zakończeniu donacji. Podczas przechowywania KKCz mogą wytworzyć się mikroagregaty.

2.2. Sposób otrzymywania

KKCz można otrzymać metodą wirowania lub spontanicznej sedymentacji pełnej krwi.

2.2.1. Metoda wirowania

2.2.1.1. Rozdział na KKCz i osocze

Krew wirować w temperaturze od 2 °C do 6°C, tak aby uzyskać jej rozdział na 3 frakcje: krwinki czerwone, kożuszek leukocytarno-płytkowy i osocze ubogokomórkowe. Przykładowe parametry wirowania:

- 13 min, 2300 x g
- lub: 6 min, 5000 x g
- lub: 20 min, 1500 x g.

Używając prasy precyzyjnie uzyskać osocze do pustego pojemnika satelitarnego. W celu zapewnienia właściwego hematokrytu otrzymanego KKCz, nad warstwą krwinek pozostawić 30-70 ml osocza. Jeśli osocze zostanie odpowiednio szybko oddzielone od KKCz, może zostać zamrożone jako FFP.

UWAGI:

- A. *W oparciu o własne doświadczenia i wyniki badań kontrolnych każde centrum może bardziej precyzyjnie określić objętość pozostawianego osocza (np.: 50-70 ml), tak aby umożliwić wytwarzanie składnika o wymaganym hematokrycie.*
- B. *Z krwi przeznaczonej do przechowywania zaleca się usuwanie kożuszka leukocyтарно-пłytkowego.*

2.2.1.2. Rozdział na KKCz, KKP i osocze

Krew wirować w temperaturze od 20 °C do 24°C, tak aby rozdzielić ją na 2 frakcje: krwinki czerwone i osocze bogatopłytkowe. Przykładowe parametry wirowania:

9 min, 770 x g
lub: 5 min, 1400 x g

Otrzymane osocze precyzyjnie przy pomocy prasy do jednego z pustych pojemników, przeznaczyć je do powtórnego wirowania w celu uzyskania KKP i osocza ubogokomórkowego. Jeśli osocze zostanie odpowiednio szybko oddzielone od KKP, może zostać zamrożone jako FFP.

UWAGI:

- A. *Po umieszczeniu w prasie, każdą jednostkę odwirowanej krwi należy poddać kontroli wizualnej, oceniając prawidłowość rozdziału składników i szczelność pojemników.*
- B. *Prawidłowo odwirowane osocze nie powinno zawierać widocznych makroskopowo erytrocytów.*
- C. *Warstwa erytrocytów musi być stabilna, nie powinna ulec zmaczeniu w czasie wyjmowania pojemników z wirówki i umieszczania ich w prasie.*
- D. *W przypadku nieprawidłowego rozdziału, dokładnie wymieszać zawartość pojemnika i odwirować ponownie.*
- E. *Składniki krwi zawarte w uszkodzonych pojemnikach lub zawierające osocze, którego wygląd nie odpowiada obowiązującym wymogom (np. zhemolizowane) należy przekazać do działu zapewnienia jakości.*

2.3. Wykonanie próbek pilotujących

Po oddzieleniu pojemnika z KKCz od reszty zestawu, wydzielić 3 próbki pilotujące do wykonania próby zgodności i ewentualnie próbkę do badań kontroli jakości (zgodnie z rozdz. 6 I.2.).

2.4. Oznakowanie KKCz

Etykieta ostateczna powinna zawierać co najmniej następujące informacje:

1. Nazwa centrum, na terenie którego otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika: „Koncentrat krwinek czerwonych” lub „KKCz”.
3. Grupa ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Inne oznaczone antygeny krwinek czerwonych.
5. Nr składnika (odpowiadający numerowi donacji).
6. Ilość składnika (jednostki i ml).
7. Rodzaj płynu konserwującego.
8. Data pobrania.
9. Data wykonania preparatyki (jeśli jest inna niż data pobrania).

10. Data ważności.

11. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich testów).

12. Wskazówki:

- „Przechowywać w temperaturze 4°C”.
- „Nie przetaczać w przypadku stwierdzenia hemolizy, innych zmian składnika lub uszkodzenia pojemnika”.
- „Przetaczać przez filtr 170-200 µm”.

UWAGI:

A. Jako ilość składnika podawać: "1 jedn." i objętość w ml (w przypadku porcji do użytku pediatrycznego - tylko rzeczywistą objętość w ml).

B. Jeśli dokonano podziału jednej jednostki KKCz na porcje do użytku pediatrycznego, numer składnika powinien stanowić numer donacji łamany przez symbol porcji. Jako symbolu porcji należy używać cyfr arabskich, np. przy podziale na 3 porcje: 24-00-8112/1, 24-00-8112/2, 24-00-8112/3.

Do składnika wydawanego odbiorcy zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o składniku. Powinna ona zawierać informacje wyszczególnione w punktach 1, 2, 7, i 12 oraz podane w p. 2.6., 2.8., 2.9., 2.10. i 2.11. niniejszego rozdziału. Wprowadzenie takiej ulotki zwalnia z umieszczania na etykiecie informacji przedstawionych w punktach 7 i 12.

2.5. Przechowywanie i termin ważności

KKCz uzyskany z krwi pobranej do płynu CPD ma termin przydatności 21 dni, zaś z krwi pobranej do CPDA-1: 35 dni.

Przechowywać w temperaturze od 2°C do 6°C.

2.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

2.7. Kontrola jakości KKCz

Kontrola jakości obejmuje testy od nr 1 do nr 10, zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto obowiązują przeprowadzenie badań, przedstawionych w tabeli 4.

TABELA 4: Kontrola jakości koncentratu krwinek czerwonych

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	280 ± 50	1% wszystkich jednostek
2	Hematokryt	0,65 - 0,75	4 jednostki / miesiąc
3	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 45	
4	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	<0,8% masy krwinek czerwonych	4 jednostki/ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

2.8. Wskazania do stosowania

KKCz jest stosowany w celu uzupełnienia utraconej krwi krążącej oraz w leczeniu niedokrwistości.

2.9. Przeciwwskazania

KKCz nie jest wskazany:

1. gdy wystąpi alloimmunizacja antygenami leukocytarnymi,
2. u pacjentów z nadwrażliwością na białka osocza,
3. w transfuzjach wymiennych u noworodków chyba, że zostanie dodana uzupełniająca objętość osocza.

2.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

2.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Alloimmunizacja antygenami HLA i krwinek czerwonych.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
8. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
9. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
10. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
11. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
12. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

3. KONCENTRAT KRwinek CZERWONYCH POZBAWIONY KOŻUSZKA LEUKOCYTARNO-PŁYTKOWEGO (KKCz bez koż. l.-pł.)

3.1. Definicja i właściwości

Składnik ten uzyskuje się przez usunięcie z nad frakcji krwinek czerwonych warstwy kożuszka leukocytarno-płytkowego wraz z towarzyszącą mu niewielką ilością osocza i krwinek czerwonych. Usunięcie kożuszka leukocytarno-płytkowego pozwala na zmniejszenie zawartości krwinek białych i płytkowych w KKCz, tym samym zmniejsza też prawdopodobieństwo wytworzenia mikroagregatów podczas przechowywania składnika. Całkowita liczba leukocytów w składniku nie powinna przekraczać $1,2 \times 10^9$, co nie zabezpiecza przed alloimmunizacją antygenami HLA, ale zmniejsza ryzyko powikłań gorączkowych i może stanowić wstępny etap do otrzymania składnika ubogoleukocytarnego metodą filtracji. Średnia zawartość krwinek płytkowych powinna być mniejsza niż 20×10^9 /jedm. Hematokryt tak uzyskanego składnika powinien wynosić 0,65-0,75.

3.2. Sposób otrzymywania

Po odwirowaniu krwi w warunkach podanych w p. 2.2.1.1., używając prasy precyzyjnie osocze ubogokomórkowe do jednego z pustych pojemników satelitarnych, do drugiego zaś kożuszek leukocytno-płytkowy. Po zamknięciu zaciskiem drenu łączącego pojemniki zawierające KKCz i kożuszek leukocytno-płytkowy, dodać 30-70 ml osocza do pojemnika z KKCz. Oddzielić poszczególne pojemniki za pomocą zgrzewarki. Odrzucić pojemnik zawierający kożuszek leukocytno-płytkowy (objętość tej frakcji powinna wynosić od 20 do 60 ml).

UWAGI:

- A. Po wirowaniu dokonać oceny wizualnej, stosując się do uwag zawartych w p. 2.2.
- B. W oparciu o własne doświadczenia i wyniki badań kontrolnych każde centrum powinno precyzyjnie określić objętość dodawanego osocza (np.: 50-70 ml), tak aby umożliwić wytwarzanie składnika o wymaganym hematokrycie.
- C. W wyjątkowych wypadkach można usunąć kożuszek leukocytno-płytkowy w systemie otwartym. KKCz otrzymany wg wskazówek zawartych w p. 2.2. lub 4.2. odwirować w warunkach podanych w p. 2.2.1.1. Za pomocą zestawu do preparatyki typu B połączyć dreny pojemnika z KKCz i pustego pojemnika transferowego, po czym używając prasy odciągnąć supernatant i kożuszek leukocytno-płytkowy. Aby ułatwić przetaczanie lub filtrację, do jednej jednostki składnika można dodać 100 ml fizjologicznego roztworu NaCl. Takie postępowanie można zastosować, jeżeli składnik jest przygotowywany bezpośrednio przed transfuzją. Zaleca się usuwanie w ten sposób kożuszek leukocytno-płytkowy z KKCz przechowywanego nie dłużej niż 5 dni.

3.3. Wykonanie próbek pilotujących

Postępować analogicznie jak w p. 2.3.

3.4. Oznakowanie składnika

Składnik nazwać: „Koncentrat krwinek czerwonych pozbawiony kożuszek leukocytno-płytkowy” lub „KKCz bez koż. leuk.-pł”, pozostałe informacje jak w p. 2.4.

W przypadku jednostek, z których usuwano kożuszek leukocytno-płytkowy w systemie otwartym, podać również godzinę, w której składnik krwi traci ważność oraz zamieścić dodatkową wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Do składnika wydawanego odbiorcy zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej na zasadach podanych w p. 2.4.

3.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6 °C.

Termin ważności:

1. Składnik otrzymany w systemie zamkniętym z krwi pobranej do płynu CPD - 21 dni.
2. Składnik otrzymany w systemie zamkniętym z krwi pobranej do płynu CPDA-1 - 35 dni.
3. Składnik otrzymany w systemie otwartym - 8 godzin od chwili zakończenia preparatyki.

3.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

3.7. Kontrola jakości KKCz bez koż. leuk.-pł.

Kontrola jakości obejmuje testy nr 1 - 10, zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy przeprowadzić badania, przedstawione w tabeli 5.

TABELA 5: Kontrola jakości KKCz pozbawionego kożuszka leukocyarno-platekowego

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	250 ± 50	1% wszystkich jednostek
2	Zawartość leukocytów/jedn.	<1,2 x 10 ⁹	4 jedn./mies. (90% jednostek musi spełniać to kryterium)
3	Hematokryt	0,65 - 0,75	4 jednostki / miesiąc)
4	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 43	
5	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	<0,8% masy krwinek czerwonych	4 jednostki/ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

3.8. Wskazania do stosowania

KKCz pozbawiony kożuszka leukocyarno-platekowego jest stosowany w celu uzupełnienia utraconej krwi oraz w leczeniu niedokrwistości.

3.9. Przeciwwskazania

Składnik nie jest wskazany w:

1. różnego typu nietolerancjach osocza,
2. transfuzjach wymiennych u noworodków chyba, że zostanie dodana uzupełniająca ilość osocza,
3. transfuzjach u wcześniaków i biorców, u których występuje ryzyko przeciążenia żelazem.

3.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

3.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Alloimmunizacja antygenami HLA i krwinek czerwonych.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
8. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
9. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.

10. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
11. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
12. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

4. KONCENTRAT KRWIENEK CZERWONYCH Z ROZTWOREM WZBOGACAJĄCYM (KKCz/RW)

4.1. Definicja i właściwości

Jest to składnik uzyskany po usunięciu większości osocza z jednej jednostki pełnej krwi i dodaniu odpowiedniej objętości płynu wzbogacającego, który umożliwia przechowywanie koncentratu krwinek czerwonych przez 42 dni. Objętość roztworu wzbogacającego może wahać się od 80 do 110 ml w zależności od producenta danego zestawu do pobierania krwi.

Jedna jednostka zawiera wszystkie krwinki czerwone, obecne w jednej jednostce krwi pełnej oraz różną liczbę krwinek białych i płytkowych (w zależności od warunków wirowania).

4.2. Sposób otrzymywania

Do pobrania pełnej krwi wykorzystać zestaw zawierający pojemnik z roztworem wzbogacającym. Krew pobrać do pojemnika z roztworem CPD, rozdzielić ją na składniki poprzez wirowanie lub sedymentację, jak opisano w p. 2.2.

Przy użyciu prasy precyzyjnie osocze do pustego pojemnika. Do pojemnika z KKCz dodać roztwór wzbogacający i dokładnie wymieszać zawartość. Jeśli wirowanie prowadzono w warunkach podanych w p. 2.2.1.2., podczas produkcji KKP pojemnik po roztworze wzbogacającym wykorzystać na osocze ubogokomórkowe.

UWAGA:

Preparatykę wykonać najszybciej jak to możliwe po zakończeniu donacji, nie później niż w ciągu 3 dni od zakończenia donacji. Jeżeli nie dodano roztworu wzbogacającego w tym czasie, to KKCz może być przechowywany przez 21 dni.

4.3. Wykonanie próbek pilotujących

Patrz p. 2.3.

4.4. Oznakowanie składnika

Składnik nazwać: „Koncentrat krwinek czerwonych w roztworze wzbogacającym” lub: „KKCz + ADSOL ew. SAGM (nazwa płynu wzbogacającego)”. Pozostałe informacje jak w p. 2.4.

Do składnika wydawanego odbiorcy zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej na zasadach podanych w p. 2.4.

4.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6 °C

Termin ważności: 42 dni.

4.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10 °C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełnioną wkładami chłodzącymi.

4.7. Kontrola jakości KKCz/RW

Kontrola jakości obejmuje testy od nr 1 - 10, zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy

przeprowadzić badania, przedstawione w tabeli 6.

TABELA 6: Kontrola jakości koncentratu krwinek czerwonych z dodatkiem roztworu wzbogacającego

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	Ustalona dla używanego systemu	1% wszystkich jednostek
2	Hematokryt	0,50 - 0,70	4 jednostki / miesiąc)
3	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 45	
4	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	<0,8% masy krwinek czerwonych	4 jednostki/ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

4.8. Wskazania do stosowania

KKCz/RW jest stosowany w celu uzupełnienia utraconej krwi oraz w leczeniu niedokrwistości.

4.9. Przeciwwskazania

KKCz z dodatkiem roztworu wzbogacającego nie jest wskazany:

1. gdy wystąpi alloimmunizacja antygenami leukocytarnymi,
2. w różnego rodzaju nadwrażliwości na białka osocza (może nie dotyczyć jednostek KKCz o małej zawartości osocza, chyba że występuje niezgodność IgA,
3. w transfuzjach wymiennych u noworodków, chyba że składnik zostanie przetoczony w ciągu 5 dni po donacji, a w dniu użycia roztwór wzbogacający zostanie zastąpiony odpowiednią objętością FFP.

4.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

4.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Alloimmunizacja antygenami HLA i krwinek czerwonych.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.

8. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
9. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
10. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
11. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
12. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

5. KONCENTRAT KRWIENEK CZERWONYCH W ROZTWORZE WZBOGACAJĄCYM, POZBAWIONY KOŻUSZKA LEUKOCYTARNO-PLYTKOWEGO (KKCz/RW-bez koż. l.-pł.)

5.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowią krwinki czerwone uzyskane z jednej jednostki pełnej krwi po jej odwirowaniu i usunięciu osocza oraz kożuszka leukocytarno-platek, do których dodano następnie roztwór wzbogacający. Objętość roztworu wzbogacającego może wahać się od 80 do 110 ml w zależności od producenta danego zestawu do pobierania krwi.

Usunięcie kożuszka leukocytarno-platek pozwala na zmniejszenie zawartości krwinek białych i platek, a tym samym obniża ryzyko wystąpienia poprzetoczeniowych odczynów gorączkowych i prawdopodobieństwo wytworzenia mikroagregatów podczas przechowywania składnika. Przyjmuje się, że całkowita liczba leukocytów w jednej jednostce nie powinna przekraczać $1,2 \times 10^9$, a całkowita liczba krwinek platek jest mniejsza niż 20×10^9 . Dodanie płynu wzbogacającego umożliwia wydłużone przechowywanie składnika w stanie płynnym.

5.2. Sposób otrzymywania

Krew pełną, pobraną do zestawu z CPD odwirować w warunkach podanych w p. 2.2.1.1. Po wirowaniu dokonać oceny wizualnej, stosując się do uwag zawartych w p. 2.2. Używając prasy precyzyjnie do pustych pojemników osocze i kożuszek leukocytarno-platek. Do pojemnika z KKCz dodać roztwór wzbogacający i dokładnie wymieszać zawartość.

UWAGA:

Jeśli wyniki badań kontroli jakości wskazują, że hematokryt składnika jest zbyt wysoki, należy zmodyfikować postępowanie i przed dodaniem roztworu wzbogacającego, do pojemnika z KKCz dodać 10-15 ml osocza. Zastosowanie takiego rozwiązania należy opisać w odpowiedniej procedurze.

Składnik powinien zostać wykonany przed upływem 3 dni od chwili pobrania krwi (najszybciej jak to możliwe). Jeżeli nie dodano roztworu wzbogacającego w tym czasie, to KKCz może być przechowywany przez 21 dni. Jeśli osocze zostanie zamrożone przed upływem 8 godz. od pobrania krwi, można traktować je jako FFP.

5.3. Wykonanie próbek pilotujących

Patrz p. 2.3.

5.4. Oznakowanie składnika

Składnik oznaczyć jako: „Koncentrat krwinek czerwonych w roztworze wzbogacającym, pozbawiony kożuszka leukocytarno-platek” lub: „KKCz bez koż. leuk.-pł. + (nazwa płynu)”. Na etykiecie/ulotce informacyjnej umieścić też informacje podane w p. 2.4.

5.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6°C.
Termin ważności: do 42 dni.

5.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

5.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości obejmuje testy od nr 1 do nr 10, zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy przeprowadzić badania, wymienione w tabeli 7.

TABELA 7: Kontrola jakości koncentratu krwinek czerwonych z roztworem wzbogacającym, pozbawionego kożuszka leukocyta-plateletowego

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	Ustalona dla używanego systemu	1% wszystkich jednostek
2	Hematokryt	0,50 - 0,70	4 jednostki / miesiąc
3	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 43	
4	Leukocyty/jedn.	<1,2 x 10 ⁹	4 jednostki/mies. (90% jedn. musi spełniać wymaganie)
5	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	<0,8% masy krwinek czerwonych	4 jednostki/ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

5.8. Wskazania do stosowania

Składnik jest stosowany w celu uzupełnienia utraconej krwi oraz w leczeniu niedokrwistości.

5.9. Przeciwwskazania

Składnik nie jest wskazany w:

1. transfuzjach wymiennych u noworodków, chyba że składnik zostanie przetoczony w ciągu 5 dni po donacji, a w dniu użycia roztwór wzbogacający zostanie zastąpiony odpowiednią objętością FFP,
2. różnego typu nietolerancjach osocza (może nie dotyczyć jednostek KKCz/RW o małej zawartości osocza).

5.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

5.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Alloimmunizacja antygenami HLA i krwinek czerwonych.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
8. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
9. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
10. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
11. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
12. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

6. KONCENTRAT KRWINEK CZERWONYCH - otrzymany metodą automatycznej aferezy (KKCz-Af.)

6.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowią krwinki czerwone uzyskane przy użyciu separatora komórkowego (metodą automatycznej erytroaferezy) z krwi jednego dawcy.

Typowa erytroafereza pozwala na uzyskanie 1 lub 2 jednostek KKCz pobranych od tego samego dawcy. Dzięki możliwości pobrania 2 jednostek KKCz od jednego dawcy można ograniczyć ekspozycję biorcy na obce antygeny i zmniejszyć ryzyko przeniesienia infekcji wirusowych drogą krwi. Technika ta jest najczęściej wykorzystywana do otrzymania 2 jednostek UKKCz lub 2 jednostek UKKCz w roztworze wzbogacającym.

W zabiegu aferezy można także od tego samego dawcy pobrać jednocześnie koncentrat krwinek czerwonych, koncentrat krwinek płytkowych i osocze. Rodzaj i objętość uzyskanych składników zależą od zaprogramowanej metody separacji i rodzaju użytego separatora.

6.2. Sposób otrzymywania

KKCz może być otrzymywany przy użyciu różnego rodzaju separatorów komórkowych. Pobrana od dawcy krew jest mieszana z roztworem antykoagulantu, który zapobiega jej krzepnięciu, oraz podlega rozfrakcjonowaniu na odpowiednie składniki krwi. Wszystkie czynności są zaprogramowane i wykonywane automatycznie.

Podczas lub po zakończeniu procedury zazwyczaj dodawany jest roztwór wzbogacający o objętości 80 – 110 ml, w zależności od ilości pobranych krwinek, otrzymanego hematokrytu i docelowego hematokrytu. Aby zmniejszyć liczbę zanieczyszczeń leukocytarnych w KKCz, procedura zazwyczaj jest rozszerzona o filtrację otrzymanego składnika.

Szczegółowe instrukcje wykonywania zabiegu są przedstawione przez producentów separatorów. Zaleca się ściśle przestrzeganie powyższych wytycznych, szczególnie dotyczących rodzaju i ilości stosowanego antykoagulantu i/lub innych płynów infuzyjnych oraz czasu trwania zabiegu (liczby cykli zabiegu). W przypadku aferezy, której celem jest otrzymanie 2 jednostek KKCz, należy bezwzględnie przestrzegać odrębnych zasad kwalifikacji dawcy do tego zabiegu i odstępów pomiędzy poszczególnymi donacjami. Odstępstwa od takiego postępowania mogą przyczynić się do wystąpienia powikłań u dawcy lub wpłynąć niekorzystnie

na jakość otrzymanych składników.

6.3. Wykonanie próbek pilotujących

Po oddzieleniu pojemnika z KKCz od reszty zestawu wykonać próbki pilotujące zgodnie z rozdz. 6 część I. p. 2.

6.4. Oznakowanie składnika

W zależności od rodzaju otrzymanego składnika, oznaczyć go jako:

1. „Koncentrat krwinek czerwonych z aferezy” lub „KKCzAf”,
2. „Koncentrat krwinek czerwonych z aferezy w roztworze wzbogacającym” lub: „KKCzAf + (nazwa płynu)”,
3. „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych z aferezy” lub: „UKKCzAf.”,
4. „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych z aferezy w roztworze wzbogacającym” lub: „UKKCzAf. + (nazwa płynu)”.

Na etykiecie/ulotce informacyjnej umieścić też informacje podane w p. 2.4.

UWAGA:

W przypadku otrzymania z jednej donacji 2 jednostek KKCz, numer donacji powinien być łamany przez numer porządkowy otrzymanego składnika, oznaczany cyframi rzymskimi: np. 26-00-7668/I i 26-00-7668/II.

6.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6 °C.

Dopuszczalny czas przechowywania:

1. KKCz - do 21 dni.
2. KKCz z roztworem wzbogacającym - do 42 dni.

6.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

6.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości obejmuje testy od nr 1 do nr 10, zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy przeprowadzić badania, wymienione w tabeli 8.

TABELA 8: Kontrola jakości koncentratu krwinek czerwonych otrzymanego metodą automatyczną

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	określona przez program separatora	1% wszystkich jednostek
2	Hematokryt	0,65 - 0,75 ¹⁾ 0,50 - 0,70 ²⁾	4 jednostki / miesiąc)

3	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 40	
4	Liczba leukocytów / jedn. ³⁾	$< 1 \times 10^6$	1% wszystkich jedn. (nie mniej niż 10 jedn./miesiąc)
5	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	$< 0,8\%$ masy krwinek czerwonych	4 jednostki/ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

1) Dotyczy KKCz

2) Dotyczy KKCz z roztworem wzbogacającym

3) Test dotyczy tylko tych jednostek, które zostały poddane filtracji, przy czym 90% badanych jednostek powinno zawierać $< 1 \times 10^6$ leukocytów.

6.8. Wskazania do stosowania

Składnik ten jest stosowany w celu uzupełnienia utraconej krwi oraz w leczeniu niedokrwistości. Szczególnie wskazany jest dla chorych wymagających przetoczenia 2 jednostek KKCz (można wówczas podać 2 jednostki od tego samego dawcy).

Otrzymany metodą aferezy UKKCz może być stosowany w celu zabezpieczenia przed przeniesieniem zakażenia wirusem cytomegalii (CMV), zamiast KKCz od CMV-ujemnego dawcy.

6.9. Przeciwwskazania

KKCz otrzymany metodą aferezy nie jest wskazany w:

1. różnego rodzaju nadwrażliwości na białka osocza,
2. transfuzjach wymiennych u noworodków chyba, że zostanie usunięty roztwór wzbogacający i dodana odpowiednia ilość osocza.

6.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.
3. Jeśli stosuje się UKKCz a w tym samym czasie niezbędne są przetoczenia KKP, należy wówczas stosować UKKP.

6.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Alloimmunizacja antygenami HLA (mało prawdopodobna podczas stosowania składnika ubogoleukocytarnego) i krwinek czerwonych.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.

8. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
9. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
10. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
11. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
12. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

7. PRZEMYWANY KONCENTRAT KRWIINEK CZERWONYCH (PKKCz)

7.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowią krwinki czerwone, uzyskane przez usunięcie osocza z jednej jednostki krwi pełnej i przemyte 0,9% roztworem NaCl.

Przemywanie 0,9% roztworem NaCl ma na celu usunięcie przede wszystkim białek osocza. Eliminuje też znaczną ilość leukocytów, krwinek płytkowych i mikroagregatów, ale nie zabezpiecza przed alloimmunizacją antygenami HLA. Powoduje pewne straty krwinek czerwonych. Hematokryt składnika powinien być dostosowany do wymagań klinicznych.

7.2. Sposób otrzymywania

Przemywaniu można poddać wszystkie rodzaje koncentratów krwinek czerwonych po odwirowaniu i maksymalnym usunięciu kożuszka leukocytarno-płytkowego i osocza (w warunkach podanych w p. 2.2.1.1.). Przemywanie składników, znajdujących się w końcowym okresie przydatności, powoduje wzmożoną stratę erytrocytów.

Do przemywania KKCz należy przystępować po uprzednim wykonaniu próby zgodności. Zalecane jest wykonywanie przemywania w systemie zamkniętym.

Przemywany KKCz można produkować:

1. metodą manualną (przy użyciu wirówki),
2. metodą automatyczną (przy użyciu separatora komórkowego).

UWAGI:

- A. Liczba cykli przemywania powinna być dostosowana do potrzeb klinicznych. Zazwyczaj stosuje się 1-3 cykle przemywania (obowiązującą liczbę cykli przemywania należy przedstawić w odpowiedniej instrukcji). Wzrost liczby cykli przemywania prowadzi do zmniejszenia zawartości erytrocytów w składniku.
- B. W celu ułatwienia przetaczania składnika przemywany KKCz można zawiesić w 0,9% roztworze NaCl lub innym roztworze izotonicznym. Objętość dodanego roztworu powinna być zgodna z życzeniem zlecniodawcy (zwykle jest to 100-250 ml).

7.2.1. Przemywanie KKCz metodą manualną w systemie otwartym

1. Dren pojemnika z KKCz połączyć za pomocą odpowiedniego łącznika z 0,9% roztworem NaCl o temperaturze od 4 °C do 6°C. Dodać 250 ml fizjologicznego roztworu NaCl do pojemnika z KKCz. Używając zgrzewarki, zgrzać dren tuż poniżej dokonanego połączenia.
2. Pojemnik z KKCz wirować w temperaturze od 2 °C do 6°C przez 6 min z siłą 5000 x g (lub w warunkach podanych w p. 2.2.1.1.).
3. Umieścić pojemnik w prasie do odciągania osocza. Używając odpowiedniego zestawu do preparatyki połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym. Usunąć nadsącz przeciskając go do pojemnika transferowego.
4. Procedurę przemywania powtórzyć.
5. Zamknąć dren jak najbliżej pojemnika z KKCz, używając zgrzewarki.

7.2.2. Przemywanie KKCz metodą manualną w systemie zamkniętym

1. Używając zgrzewarki do sterylного łączenia drenów, połączyć pojemnik z KKCz i pojemnik zawierający 0,9% roztwór NaCl.

2. Do KKCz dodać 250 ml 0,9% roztworu NaCl. Za pomocą zgrzewarki dielektrycznej zamknąć połączenie pomiędzy drenami. Oddzielić oba pojemniki.
3. Stosując zgrzewarkę do sterylnej łączności drenów, do pojemnika z KKCz dołączyć pusty pojemnik transferowy. Połączenie pomiędzy pojemnikami zamknąć za pomocą zacisku plastikowego.
4. Oba pojemniki wirować w temperaturze od 2 °C do 6°C przez 6 min z siłą 5000 x g (lub w warunkach podanych w p. 2.2.1.1.).
5. Po zdjęciu zacisku, używając prasy, przecisnąć nadsącz do pustego pojemnika.
6. Procedurę przemywania powtórzyć.
7. Zamknąć dren jak najbliżej pojemnika z KKCz, używając zgrzewarki.

7.2.3. Przemycanie KKCz metodą automatyczną

Automatyczne przemywanie KKCz umożliwiają specjalne wirówki z przepływem ciągłym. Czynność tę można również wykonać używając specjalnych urządzeń lub separatorów komórkowych. Procedura wymaga firmowych zestawów jednorazowego użytku do przemywania KKCz. Zestaw taki składa się ze sterylnej systemu plastikowych drenów, naczynia wirowniczego, pojemnika na popłuczyny oraz odbiorczego pojemnika z tworzywa sztucznego. Podłączenie zestawu i obsługa aparatu powinny odbywać się zgodnie z instrukcją wytwórcy. Do przemywania jednej jednostki KKCz należy przeznaczyć 1500 - 2000 ml 0,9% roztworu NaCl. Otrzymany składnik zawiera krwinki czerwone, zawieszono w 0,9% roztworze NaCl. Jego objętość jest równa objętości naczynia wirowniczego (zwykle 375 ml). Po zakończeniu procedury przemywania niektóre urządzenia umożliwiają dodanie roztworu wzbogacającego w warunkach sterylnych.

7.3. Wykonanie próbek pilotujących

Z każdej wykonanej jednostki wyodrębnić próbkę do kontroli jakości otrzymanego składnika.

7.4. Oznakowanie składnika

Na etykiecie umieścić nazwę: „Przemycany koncentrat krwinek czerwonych” lub „PKKCz”. Etykieta powinna zawierać również informacje nr 1 - 6 i nr 8 - 12, przedstawione w p. 2.4. Jako ilość składnika podawać: 1 jednostka (objętość w ml). Podać datę i godzinę, w której składnik traci ważność. Zamieścić też dodatkową wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Zaleca się dołączanie do składnika wydawanego odbiorcy ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej wg zasad podanych w p. 2.4.

7.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6°C.

Termin przydatności:

1. Przemycany KKCz otrzymany metodą manualną w systemie otwartym i metodą automatyczną: 8 godz. od chwili zakończenia produkcji.
2. Przemycany KKCz otrzymany metodą manualną w systemie zamkniętym: 24 godz. od chwili zakończenia produkcji.

UWAGA:

Jeżeli cała procedura została wykonana w systemie zamkniętym, a w ostatnim etapie przemywania zastosowano roztwór wzbogacający i zawieszono w nim KKCz dopuszcza się dłuższy czas przechowywania (do 48 godz.)

7.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

7.7. Kontrola jakości składnika

Poza wykonaniem badań od nr 1 do nr 10, przedstawionych w tabeli 3, str. 21, wymagane jest wykonanie oznaczeń wymienionych w tabeli 9.

TABELA 9: Kontrola jakości przemyszanego koncentratu krwinek czerwonych

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	Ustalona dla stosowanego systemu	Wszystkie jednostki
2	Hematokryt	0,65 - 0,75	
3	Hemoglobina (g/jedn.)*	≥ 40	
5	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	<0,8% masy krwinek czerwonych	
4	Zawartość białka	< 0,5 g/jedn.	

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

7.8. Wskazania do stosowania

Przemyszaną KKCz wskazany jest jedynie w celu uzupełnienia niedoborów erytrocytów u chorych z przeciwciałami skierowanymi przeciwko białkom osocza, szczególnie anty IgA i u chorych z ciężkimi objawami reakcji alergicznych, występującymi po przetoczeniach składników krwi.

7.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

7.10. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Alloimmunizacja antygenami HLA i krwinek czerwonych.
4. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
5. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
6. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
7. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.

8. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

8. UBOGOLEUKOCYTARNY KONCENTRAT KRwineK CZERWONYCH (UKKCz)

8.1. Definicja i właściwości

Składnik uzyskany przez usunięcie większości leukocytów i płytek krwi z jednej jednostki KKCz, powinien zawierać mniej niż 1×10^6 krwinek białych. Ubogoleukocytarny KKCz zmniejsza ryzyko alloimmunizacji antygenami HLA oraz poprzetoczeniowego zakażenia CMV. Jeśli leukocyty zostaną usunięte przed przechowywaniem składnika, zmniejszy się zawartość uwalnianych cytokin oraz możliwość wytworzenia mikroagregatów.

8.2. Sposób otrzymywania

Otrzymanie KKCz zawierającego mniej niż 1×10^6 leukocytów/jedn. możliwe jest tylko za pomocą specjalnych filtrów, usuwających krwinki białe i płytkowe. Stanowią one integralny składnik zestawu do filtracji. Zestaw do użytku laboratoryjnego albo wyposażony jest w pojemnik do odbioru UKKCz, albo wymaga podłączenia pustego pojemnika transferowego. Obsługa filtra powinna odbywać się ściśle wg instrukcji wytwórcy.

Nie wolno stosować tego samego filtra do usuwania leukocytów z 2 jednostek KKCz.

Wprowadzenie do użycia każdej nowej serii filtrów musi być poprzedzone procedurą walidacyjną, mającą na celu stwierdzenie skuteczności filtracji (kontrola jakości pierwszych co najmniej 6 jednostek UKKCz uzyskanych przy użyciu filtrów nowej serii) i ewentualnie ustalenie optymalnych warunków filtracji.

Zaleca się usuwanie leukocytów w ciągu 48 godzin po donacji, przy zastosowaniu postępowania w systemie zamkniętym tj. po połączeniu zestawu filtracyjnego z pojemnikiem/pojemnikami przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łącznicy drenów. Otrzymany składnik nadaje się wówczas do użycia w okresie ważności jednostki KKCz poddawanej filtracji a próbę zgodności wykonuje się bezpośrednio przed przetoczeniem UKKCz.

Do filtracji można przeznaczyć jednostki KKCz, przechowywane uprzednio nie dłużej niż 5 dni. Do filtracji najlepiej przystąpić po uprzednim wykonaniu próby zgodności lub wykonywać filtrację w systemie zamkniętym.

UWAGA:

Jeżeli na pojemniku z przefiltrowanym składnikiem, przed jego odłączeniem od pojemnika macierzystego, zostanie umieszczona wypełniona etykieta, a przed filtracją wykonano próbę zgodności, to nie obowiązuje kontrola serologiczna krwinek po filtracji (UKKCz).

8.3. Wykonanie próbek pilotujących

1. Jeśli przed filtracją wykonano próbę zgodności, korzystając z próbek pilotujących macierzystej jednostki KKCz - wydzielić z drenu odcinek przeznaczony do kontroli jakości (jeśli potrzeba).
2. W przypadku usunięcia leukocytów w systemie zamkniętym (przed przechowywaniem składnika) - wykonać 3 próbki pilotujące, przeznaczone do próby zgodności oraz w razie potrzeby jedną próbkę do badań kontroli jakości.

8.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych” lub „UKKCz”. Etykieta/ulotka powinna zawierać również informacje przedstawione w p. 2.4. W przypadku składników wykonanych w systemie otwartym, podając termin ważności należy

określić datę i godzinę oraz zamieścić dodatkową wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

8.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6 °C.

Termin ważności:

1. składniki przygotowane w systemie otwartym - 8 godz. od chwili zakończenia preparatyki,
2. składniki przygotowane w systemie zamkniętym - zgodnie z terminem ważności macierzystej jednostki KKCz.

8.6. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

8.7. Kontrola jakości

Oprócz testów od nr 1 do nr 10, zebranych w tabeli 3, str. 21, kontrola jakości obejmuje badania przedstawione w tabeli 10.

TABELA 10: Kontrola jakości ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek czerwonych

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Liczba leukocytów / jedm.	$< 1 \times 10^6$ ⁽¹⁾	1 % wszystkich jedn. (nie mniej niż 10 jedn./miesiąc)
2	Hemoglobina (g/jedm.)*	≥ 40	1 % wszystkich jedn. (nie mniej niż 4 jedn./miesiąc)
3	Hematokryt	0,65-0,75 ⁽²⁾ 0,50-0,70 ⁽³⁾	4 jednostki/miesiąc
4	Objętość	Ustalona zgodnie z używanym systemem	1% wszystkich jednostek
5	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	$< 0,8\%$ masy krwinek czerwonych	4 jednostki/ miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

⁽¹⁾ Co najmniej 90% badanych jednostek powinno zawierać $< 1 \times 10^6$ leukocytów

⁽²⁾ dla UKKCz

⁽³⁾ dla UKKCz/RW

8.8. Wskazania do stosowania

1. W leczeniu chorych z niedokrwistością, u których stwierdzono przeciwciała anti-HLA, lub podejrzewa się obecność tych przeciwciał.
2. Dla potencjalnych wielokrotnych biorców (zwłaszcza dla wielokrotnych biorców KKP), w celu zabezpieczenia ich przed alloimmunizacją antygenami HLA.

3. Do transfuzji dopłodowych i u noworodków.
4. W celu zabezpieczenia przed przeniesieniem zakażenia wirusem cytomegalii (CMV), zamiast KKCz od CMV-ujemnego dawcy.

8.9. Przeciwwskazania

Składnik nie jest wskazany w:

1. różnego typu nadwrażliwości na białka osocza (może nie dotyczyć jednostek o małej zawartości osocza),
2. transfuzjach wymiennych u noworodków chyba, że składnik zostanie przetoczony w ciągu 5 dni po donacji.

8.10. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.
3. Jeśli w tym samym czasie niezbędne są przetoczenia innych składników krwi, to muszą one również być ubogoleukocytarne.

8.11. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
5. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
6. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
7. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
8. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
9. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
10. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
11. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
12. Alloimmunizacja antygenami HLA (rzadko) i antygenami krwinek czerwonych.

9. MROŻONY KONCENTRAT KRwinek CZERWONYCH (MKKCz)

9.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowią krwinki czerwone wraz z odpowiednim roztworem kriochronnym, zamrożone w ciągu 7 dni od chwili pobrania i przechowywane w temperaturze od -60° do -80°C lub niższej w zależności od stosowanej metody (wysokie lub niskie stężeniu glicerolu). Przed użyciem krwinki są rozmrażane, przemywane i zawieszane w izotonicznym roztworze NaCl lub innym roztworze izotonicznym.

Rozmrożony i przemyty KKCz prawie całkowicie pozbawiony jest białek osocza, granulocytów i płytek. Zawiera wystarczająco dużo limfocytów, aby spowodować alloimmunizację antygenami HLA. Zamrażanie i rozmrażanie powoduje straty krwinek czerwonych.

9.2. Sposób otrzymywania

Do zamrożenia należy przeznaczyć KKCz uzyskany z krwi pełnej pobranej do płynów CPD lub CPDA-1 i przechowywany w temperaturze od 2 °C do 6 °C nie dłużej niż 7 dni.

Krew przeznaczona do mrożenia powinna być pobrana do takiego zestawu pojemników, aby istniała możliwość pozostawienia pustego pojemnika, połączonego z pojemnikiem zawierającym KKCz.

UWAGA:

Ponieważ kriokonserwacja znacznie wydłuża czas przechowywania składnika krwi należy przechowywać (najlepiej w tych samych warunkach co składnik) dodatkowe próbki surowicy lub osocza w celu zbadania w przyszłości obecnie nieznanymi markerów chorób zakaźnych.

9.2.1. Przygotowanie KKCz do mrożenia

Pojemnik z KKCz wirować w temperaturze 22 °C przy 5000 x g przez 6 min (inne metody - patrz p. 2.2.1.1.). Używając prasy precyzyjnie osocze oraz kożuszek leukocyto-płytkowy do pustego pojemnika i odrzucić. Otrzymany składnik powinien mieć hematokryt ok. 0,90.

Przy pomocy wagi określić masę KKCz.

9.2.2. Kriokonserwacja KKCz przy użyciu roztworu o niskim stężeniu glicerolu

9.2.2.1. Zamrażanie

UWAGA:

Wszystkie czynności można wykonywać w systemie zamkniętym przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączności drenów.

1. Za pomocą odpowiedniego zestawu do preparatyki połączyć pojemnik zawierający KKCz i pojemnik z odczynnikami kriochronnymi.
2. Pojemnik z KKCz umieścić na wytrząsarce horyzontalnej pracującej z prędkością 150-200 cykli/min. Wolno, kroplami dodać 50-70 ml odczynnika kriochronnego. Przerwać dodawanie odczynnika na 2 min, lecz nadal mieszać krwinki. Szybko, kroplami dodać resztę odczynnika. Całkowita objętość dodanego odczynnika kriochronnego powinna być równoważna objętości KKCz przeznaczonego do zamrożenia.
3. Używając zestawu do preparatyki przelać mieszaninę do pojemnika kriogenicznego.
4. Pojemnik umieścić w osłonie. Pojemnik zawierający KKCz oraz osłona powinny być opatrzone adnotacją: " MROŻONY KKCz". Pozostałe informacje jak w p. 9.4.
5. Pojemnik umieścić w parach azotu albo w zamrażarce o temperaturze -140 °C lub niższej.

UWAGA:

Wskazane jest zamrażanie składnika z kontrolowaną prędkością. Należy w tym celu posłużyć się aparatem do kontrolowanego zamrażania, wybrać program wskazany w instrukcji producenta i postępować zgodnie z tą instrukcją.

6. Przechowywać w temperaturze -140 °C lub niższej (w parach azotu lub w zamrażarce) do 10 lat. Czas przechowywania można przedłużyć o następne 10 lat, jeśli temperatura przechowywania była regularnie kontrolowana, dokumentowana i nie była wyższa -140 °C.

9.2.2.2. Rozmrażanie

1. Po wyjęciu z zamrażarki pojemnik (ewentualnie wraz z osłoną) umieścić w łaźni wodnej z termoregulacją i stałym mieszaniem wody (temperaturze 42 °C).
2. Jak tylko stanie się to możliwe (po upływie 2-3 min), usunąć osłonę.
3. Rozmrażać do osiągnięcia stanu płynnego. Nie ogrzewać.

9.2.2.3. Deglicerolizacja i przemywanie KKCz

1. Rozmrożone krwinki czerwone przelać do pustego pojemnika z PCV.
2. Wirować w temperaturze 22 °C z siłą 5000 x g przez 6 min (lub przez 13 min z siłą 2300 x g).
3. Za pomocą zestawu do preparatyki podłączyć pusty pojemnik transferowy, do którego usunąć supernatant.

9.2.2.3.1. Metoda wirówkowa

1. Pojemnik zawierający KKCz dopełnić 3,5% roztworem NaCl. Wirować jak podano w p. 9.2.2.3. punkt 2. Usunąć supernatant do pustego pojemnika transferowego.
2. Do osadu krwinek czerwonych dodać 0,9% roztwór NaCl zbuforowany do pH 7,0; tak aby całkowicie wypełnić pojemnik. Wirować jak podano wyżej. Usunąć supernatant do pustego pojemnika transferowego.
3. Procedurę przemywania 0,9% roztworem NaCl zbuforowanym do pH 7,0 powtórzyć, co najmniej dwukrotnie (do momentu, gdy popłuczyny przybiorą słomkowe zabarwienie).
4. Osad krwinek czerwonych zawiesić w 0,9% roztworze NaCl zbuforowanym do pH 7,0. Objętość składnika doprowadzić do 185 ml.
5. Po wymieszaniu wypełnić dren otrzymanym KKCz i sporządzić próbki pilotujące.

9.2.2.3.2. Metoda automatyczna

Do deglicerolizacji rozmrożonych krwinek czerwonych można wykorzystać wirówkę z ciągłym przepływem, przeznaczoną do przemywania KKCz lub niektóre separatory komórkowe. Procedurę deglicerolizacji przy użyciu separatora przeprowadzić zgodnie z instrukcją obsługi tego urządzenia. W niektórych separatorach przebiega ona następująco:

1. Zestaw do przemywania umieścić w aparacie zgodnie z instrukcją wytwórcy.
2. Do pojemnika z zagęszczonymi krwinkami dodać 150 ml 3,5% roztworu NaCl. Dokładnie wymieszać.
3. Podłączyć pojemnik z KKCz oraz pojemniki lub butelki z płynami do deglicerolizacji:
 - a) zawierające 3,5% roztwór NaCl,
 - b) zawierające 0,9% roztwór NaCl zbuforowany do pH 7,0.
4. Uruchomić wirówkę i ustawić prędkość obrotów pompy na 100 ml/min.
5. Wypełnić naczynie wirownicze rozcieńczonym KKCz.
6. Rozpocząć dodawanie 3,5% roztworu NaCl. Zużyć 500 ml płynu (prędkość przepływu 200 ml/min).
7. Zmniejszyć prędkość pompy do 150 ml/min i przemywać KKCz 0,9 % roztworem NaCl zbuforowanym do pH 7,0 aż do momentu gdy popłuczyny przybiorą słomkowe zabarwienie (1000-2000 ml).
8. Zatrzymać wirówkę. Zawartość naczynia wirowniczego przenieść do pojemnika odbiorczego przez uciśnięcie pojemnika z popłuczynami.
9. Odłączyć pojemnik odbiorczy od zestawu. Zgrzać dren.

UWAGI:

- A. To samo naczynie wirownicze może być wykorzystane do rozmrożenia dwóch jednostek KKCz, przeznaczonych dla tego samego biorcy.
- B. Objętość otrzymanego składnika odpowiada pojemności naczynia wirowniczego (zwykle 375 ml). Jego Ht jest miarą odzyskania krwinek czerwonych, zależy też od Ht zamrażanego składnika (zwykle 0,35 - 0,55).

9.2.2.4. Odczynniki: kriochronny i do deglicerolizacji

Zaleca się używanie gotowych, dostępnych na rynku odczynników do glicerolizacji i przemywania krwinek czerwonych, wyprodukowanych przez firmy posiadające certyfikaty systemu jakości. Odczynniki te można również wykonać samodzielnie, wg przedstawionych poniżej receptur.

1. Odczynnik kriochronny o niskim stężeniu glicerolu

Skład odczynnika:

glicerol (C ₃ H ₈ O ₃)	350,0 g
sorbitol (C ₆ H ₁₄ O ₆)	40,0 g
chlerek sodowy (NaCl)	8,5 g
woda do wstrzykiwań	do 1000 ml

Roztwór doprowadzić do pH 6,8.

Wysterylizować metodą filtracji (np. sącąc przez filtry bakteryjne Seitz, Milipore, Pall lub inne) lub w sterylizatorze na parę wodną (30 min; 0,2 atm; $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

2. 3,5% roztwór NaCl

Skład płynu:

chlerek sodowy (NaCl)	35,0 g
woda do wstrzykiwań	do 1000 ml

Płyn doprowadzić do pH = 6,6-7,2 za pomocą roztworu zawierającego 0,15 g Na_2HPO_4 / 100 ml wody do wstrzykiwań.

Wysterylizować metodą filtracji (sącąc przez filtry bakteryjne np. Seitz, Milipore, Pall) lub w sterylizatorze na parę wodną (30 min; 0,2 atm; $134 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

3. 0,9% roztwór NaCl zbuforowany do pH 7,0

Skład płynu:

chlerek sodowy (NaCl)	9,0 g
woda do wstrzykiwań	do 1000 ml

Płyn doprowadzić do pH = 6,6-7,2 za pomocą roztworu zawierającego 0,15 g Na_2HPO_4 / 100 ml wody do wstrzyknięć.

Wysterylizować metodą filtracji (np. sącąc przez filtry bakteryjne Seitz, Milipore, Pall) lub w sterylizatorze na parę wodną (30 min; 0,2 atm; $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

9.2.3. Kriokonserwacja przy użyciu roztworu o wysokim stężeniu glicerolu

9.2.3.1. Zamrażanie

Wykonywanie procedur zamrażania z wysokim stężeniem glicerolu jest możliwe dzięki zastosowaniu specjalistycznego sprzętu: urządzenia z kontrolowaną prędkością procesu glicerolizacji, a przede wszystkim aparatury z ciągłym przepływem do deglicerolizacji. Zaleca się używanie gotowych odczynników do glicerolizacji i przemywania krwinek czerwonych, które są przeznaczone dla danego urządzenia do zamrażania KKCz z wysokim stężeniem glicerolu. Odczynniki te powinny pochodzić wyłącznie od producentów posiadających certyfikaty systemu jakości. Należy stosować się do wytycznych producenta danego urządzenia i postępować zgodnie z instrukcją obsługi. Niektóre urządzenia umożliwiają wydłużenie czasu przechowywania rozmrożonego KKCz powyżej 24 godz. jeżeli stosowano podczas całej procedury system zamknięty i krwinki zawieszono w roztworze wzbogacającym.

Uzyskane tą metodą KKCz należy zamrażać i przechowywać w zamrażarce w temperaturze -80°C , w pojemniku umieszczonym w osłonie.

Na etykietce pojemnika ze składnikiem i na osłonie umieścić napis: "MROŻONY KKCz". Pozostałe informacje jak w p. 9.4.

9.3. Wykonanie próbek pilotujących

Wyodrębnić z drewna 1 odcinek o długości ok. 10 cm (do kontroli jakości) oraz 3 odcinki o długości 5 cm do próby zgodności i innych badań serologicznych.

9.4. Oznakowanie składnika

Składnik zamrożony należy oznaczyć jako: „Mrożony koncentrat krwinek czerwonych” lub „MKKCz”.

Etykieta powinna zawierać również informacje nr 1 - 6 i nr 8 - 12, przedstawione w p. 2.4. oraz - nazwę i objętość odczynnika kriochronnego

- temperaturę przechowywania

Po rozmrożeniu i deglicerolizacji mrożonego KKCz należy zmienić datę ważności podając datę i godzinę terminu ważności obowiązującą po rozmrożeniu. Nazwę i objętość odczynnika kriochronnego należy zamienić na nazwę i objętość roztworu, w którym zawieszono krwinki. Zamieścić również dodatkową wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Zaleca się sporządzenie ulotki informacyjnej o składniku, przygotowanej wg zasad przedstawionych w p. 2.4.

9.5. Przechowywanie i termin ważności

Po rozmrożeniu przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6°C.

Termin ważności: 8 godz. od chwili zakończenia preparatyki w systemie otwartym, 24 godz. od zakończenia preparatyki w systemie zamkniętym.

UWAGA:

Jeżeli podczas preparatyki stosowano system zamknięty, a krwinki zawieszono w roztworze wzbogacającym, po zakończeniu rozmrożenia dopuszczalne jest wydłużenie czasu ważności do 48 godzin. Niezbędne jest jednak wcześniejsze przeprowadzenie walidacji takiego procesu.

9.6. Transport

KKCz zamrożony z płynem o niskim stężeniu glicerolu transportować w stanie zamrożenia w pojemniku do transportu z ciekłym azotem. W czasie transportu temperatura nie może być wyższa niż -120°C.

Do transportu KKCz zamrożonego z płynem o wysokim stężeniu glicerolu należy stosować specjalne urządzenia transportowe, w których temperatura w czasie transportu nie może wzrosnąć powyżej -60°C.

Rozmrożony KKCz transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

9.7. Kontrola jakości

Poza wykonaniem badań nr 1 - 10, przedstawionych w tabeli 3, str. 21, wymagane jest wykonanie oznaczeń zamieszczonych w tabeli 11.

TABELA 11: Kontrola jakości rozmrożonego koncentratu krwinek czerwonych

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	> 185 ml	Wszystkie jednostki
2	Całkowita zawartość hemoglobiny (g/jedn.)	≥ 36	
3	Hb w nadsączu (g/jedn.)*	< 0,2	
4	Hematokryt	0,65-0,75	
5	Sterylność	sterylne	1% wszystkich jedn. (nie mniej niż 4 jedn./miesiąc)

4	Liczba leukocytów /jedm.	$< 0,1 \times 10^9$	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 4 jedn. / miesiąc) (90% jednostek musi spełniać to wymaganie)
---	--------------------------	---------------------	--

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

9.8. Wskazania do stosowania

Składnik jest stosowany w celu uzupełnienia niedoborów krwinek czerwonych w szczególnych sytuacjach:

1. dla chorych o rzadkim fenotypie erytrocytów, u których obecne są liczne przeciwciała,
2. do transfuzji autologicznych (w niektórych przypadkach).

9.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.
3. W przypadku składnika przygotowywanego w układzie otwartym, podczas transfuzji należy zachować szczególną czujność, ponieważ zwiększone jest ryzyko zakażenia bakteryjnego,.

9.10. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Alloimmunizacja antygenami krwinek czerwonych.
3. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych
4. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
5. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
6. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

9.11. Kriokonserwacja KKCz do szczepień

Do zamrożenia przeznaczyć krwinki czerwone pobrane do dawcy wielokrotnego. Do szczepień należy wykorzystać erytrocyty przechowywane w stanie zamrożenia przez co najmniej 4 miesiące (patrz rozdział „Dział immunologii transfuzjologicznej”).

KKCz do szczepień można zamrażać stosując odczynniki kriochronne o wysokim lub niskim stężeniu glicerolu (w zależności od rodzaju posiadanego sprzętu chłodniczego).

9.11.1. Kriokonserwacja z roztworem o niskim stężeniu glicerolu

9.11.1.1. Zamrażanie

Postępować zgodnie z procedurą opisaną w p. 9.2.1. i 9.2.2.1 punkty 1-2.

Krwinki zawieszane w odczynniku kriochronnym w pojemniku macierzystym, przelać do pojemników kriogenicznych (zazwyczaj 5 porcji po ok. 90 ml każda). Zgrzać otwory wlotowe i każdy z pojemników umieścić w oddzielnej osłonie. Zamrażać przy pomocy ciekłego azotu. Przechowywać w parach azotu lub w zamrażarce o temperaturze -140°C .

Na etykiecie pojemnika ze składnikiem i na osłonie umieścić napis: "MROŻONY KKCz DO SZCZEPIEN". Pozostałe informacje jak w p. 2.4.1.-6. i 8-9.

9.11.1.2. Rozmrażanie

Rozmrażać po jednym pojemniku, zgodnie ze wskazówkami podanymi w p. 9.2.2.2.

9.11.1.3. Deglicerolizacja i przemywanie

1. Używając zestawu do preparatyki typu A przelać rozmrożone krwinki czerwone do pustego

- pojemnika transferowego.
2. Wirować w temperaturze 22°C z siłą 5000 x g przez 6 min (lub przez 13 min z siłą 2300 x g). Aby uniknąć strat erytrocytów związanych z wirowaniem małych objętości w dużych pojemnikach, przed wirowaniem usztywnić pojemnik w tulei.
 3. Podłączyć pusty pojemnik transferowy, do którego usunąć supernatant.
 4. Pojemnik zawierający KKCz dopełnić 3,5% roztworem NaCl. Wirować w warunkach przedstawionych wyżej. Usunąć supernatant.
 5. Do osadu krwinek czerwonych dodać 0,9% roztwór NaCl zbuforowany do pH 7,0 tak, aby całkowicie wypełnić pojemnik. Wirować jak wyżej. Usunąć supernatant do pustego pojemnika transferowego.
 6. Procedurę przemywania 0,9% roztworem NaCl powtórzyć co najmniej dwukrotnie (do momentu gdy popłuczyny przybiorą słomkowe zabarwienie). Usunąć nadsącz.
 7. W pojemniku powinno pozostać ok. 30 ml rozmrożonego KKCz. W komorze z laminarnym przepływem sterylnego powietrza pobierać strzykawką porcje o objętości zleconej przez dział immunologii transfuzjologicznej.

9.11.2. Kriokonserwacja z roztworem o wysokim stężeniu glicerolu

9.11.2.1. Zamrażanie

1. Pojemnik zawierający jedną jednostkę KKCz uzyskanego z krwi pełnej konserwowanej CPD lub CPDA (nie starszego niż 7 dni) wirować w temperaturze 22°C przy 5000 x g przez 6 min. (lub przez 13 min. z siłą 2300 x g). Używając prasy precyzyjnie osocze oraz kożuszek leukocytno-płytkowy do pustego pojemnika i odrzucić. Ustalić ciężar KKCz. Glicerolizację prowadzić w następujący sposób:
2. Za pomocą zestawu do preparatyki połączyć pojemnik zawierający KKCz i pojemnik z odczynnikiem kriochronnym.
3. Pojemnik z KKCz umieścić na wytrząsarce horyzontalnej pracującej z prędkością 150-200 cykli / min. W ciągu 2 min. dodać pierwszą porcję odczynnika kriochronnego.

UWAGA:

Całkowita objętość odczynnika kriochronnego oraz objętość jaką należy dodać w pierwszym etapie glicerolizacji zależą od masy zamrażanego KKCz (patrz tabela 12).

4. Przerwać dopływ odczynnika kriochronnego, a KKCz pozostawić w spoczynku na 10 min.
5. Przy stałym mieszaniu dodać resztę płynu. Zgrzać dren.
6. Używając zestawu do preparatyki typu B rozlać mieszaninę do pojemników transferowych (po ok. 90 ml/pojemnik). Zamknąć pojemniki, pozostawiając możliwie długie odcinki drenów.
7. Każdy z pojemników umieścić w oddzielnej osłonie. Zamrażać i przechowywać w zamrażarce o temperaturze -80°C. Na etykiecie pojemnika ze składnikiem i na osłonie umieścić napis: "MROŻONY KKCz DO SZCZEPIEN". Pozostałe informacje jak w p. 9.4.

TABELA 12: Objętość płynu kriochronnego a masa KKCz

Masa KKCz (g)	Pierwsza porcja odczynnika kriochronnego (ml)	Całkowita objętość odczynnika kriochronnego (ml)
80 - 120	40	150
121 - 160	50	200
161 - 200	60	250
201 - 240	75	300

241 - 280	85	350
281 - 320	100	400

9.11.2.2. Rozmrażanie

Po wyjęciu z zamrażarki pojemnik wraz z osłoną umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 37°C. W czasie rozmrażania stale mieszać. Gdy tylko stanie się to możliwe (2-3 min.), usunąć osłony. Rozmrażać do osiągnięcia stanu płynnego, nie ogrzewać. Deglicerolizację prowadzić następująco:

1. Używając zestawu do preparatyki dodać do pojemnika z KKCz dodać 30 ml 12% roztworu NaCl.
2. Wirować w temperaturze 22°C przez 6 min. z siłą 5000 x g (lub przez 13 min z siłą 2300 x g). Aby uniknąć strat erytrocytów związanych z wirowaniem małych objętości w dużych pojemnikach, przed wirowaniem usztywnić pojemnik w tulei.
3. Używając łącznika plastikowego lub zestawu typu B połączyć pojemnik zawierający KKCz z pustym pojemnikiem z tworzywa sztucznego. W prasie usunąć supernatant do pustego pojemnika.
4. Dodać 250-300 ml 1,6% roztworu NaCl. Wirować w warunkach podanych wyżej. Usunąć supernatant.
5. Dodać 200 ml 0,9% roztworu NaCl zbuforowanego do pH 7,0. Wirować jak wyżej. Usunąć supernatant.
6. W pojemniku powinno pozostać ok. 30 ml rozmrożonego KKCz. W komorze z laminarnym przepływem powietrza pobierać strzykawką porcje o objętości zleconej przez dział immunologii transfuzjologicznej.

9.11.2.3. Odczynniki: kriochronny i do deglicerolizacji

Zaleca się używanie gotowych, dostępnych na rynku odczynników do glicerolizacji i przemywania krwinek czerwonych, wyprodukowanych przez firmy posiadające certyfikaty systemu jakości. Odczynniki te można również wykonać samodzielnie, wg przedstawionych poniżej receptur i w p. 9.2.2.4.

1. Odczynnik kriochronny o wysokim stężeniu glicerolu

Skład odczynnika:

glicerol (C ₃ H ₈ O ₃)	571,0 g
mleczan sodu (C ₃ H ₅ O ₃ Na)	15,7 g
chlerek potasowy (KCl)	0,4 g
wodorofosforan sodowy bezwodny (Na ₂ HPO ₄)	7,1 g
woda do wstrzykiwań	do 1000 ml

Roztwór doprowadzić do pH = 6,8

Wysterylizować metodą filtracji (np. sącąc przez filtry bakteryjne Seitz, Milipore, Pall i in.) lub w sterylizatorze na parę wodną (30 min., 0,2 atm., 105 ± 2°C).

2. 12% roztwór NaCl

Skład roztworu:

chlerek sodowy (NaCl)	120,0 g
woda do wstrzykiwań	do 1000 ml

Roztwór doprowadzić do pH = 6,6-7,2 za pomocą roztworu zawierającego 0,15 g Na₂HPO₄ / 100 ml wody do wstrzykiwań.

Wysterylizować metodą filtracji (np. sącąc przez filtry bakteryjne Seitz, Milipore, Pall i in.) lub w sterylizatorze na parę wodną (30 min., 2 atm., $134 \pm 2^\circ\text{C}$).

3. 1,6% roztwór NaCl

Skład roztworu:

chlerek sodowy (NaCl)	16,0 g
woda do wstrzykiwań	do 1000 ml

Roztwór doprowadzić do pH = 6,6-7,2 za pomocą roztworu zawierającego 0,15 g Na_2HPO_4 / 100 ml wody do wstrzykiwań.

Wysterylizować metodą filtracji (np. sącąc przez filtry bakteryjne Seitz, Milipore, Pall i in.) lub w sterylizatorze na parę wodną (30 min., 2 atm., $134 \pm 2^\circ\text{C}$).

4. 0,9% roztwór NaCl zbuforowany do pH 7,0

Patrz p. 9.2.2.4.

10. NAPROMIENIOWANY KONCENTRAT KRwinek CZERWONYCH (NKKCz)

10.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowi KKCz poddany działaniu dawki promieniowania jonizującego (25-50 Gy). Napromieniowanie hamuje zdolność proliferacyjną limfocytów, co umożliwia zapobieganie potransfuzyjnej chorobie przeszczep przeciw biorcy (Transfusion Associated Graft-versus-Host Disease – TA-GvHD), nie obniża natomiast zdolności immunogennych krwinek białych i nie zapobiega immunizacji antygenami HLA. Przy dłuższym przechowywaniu napromieniowanego KKCz może dojść do nieznacznej hemolizy erytrocytów i wzrostu poziomu K^+ w płynie pozakomórkowym.

10.2. Sposób otrzymywania

Napromieniowaniu można poddać wszystkie rodzaje KKCz. Do napromieniowania należy przeznaczyć jednostki KKCz przechowywane uprzednio nie dłużej niż przez 14 dni, a do transfuzji dopłodowych, wymiennych i dla noworodków - przechowywane nie dłużej niż przez 5 dni.

Do napromieniowania można używać wyłącznie urządzeń zatwierdzonych przez jednostkę właściwą do spraw nadzoru zastosowań promieniowania jonizującego. Do urządzeń tych należą radiatory, wyposażone w zamknięte źródło promieniowania, które stanowi izotop ^{137}Cs lub ^{60}Co albo przeznaczone specjalnie do tego celu aparaty emitujące promieniowanie rentgenowskie (X). KKCz poddaje się działaniu promieni γ lub X w dawce 25 Gy. Czas napromieniowania zależy od rodzaju aparatu lub źródła promieniotwórczego, należy go więc dostosować ściśle do wskazówek zamieszczonych w instrukcji producenta. Obsługując aparat należy postępować dokładnie wg instrukcji producenta. Walidacji radiatora dokonywać zgodnie z Rozdziałem „System jakości w służbie krwi”

UWAGI:

- A) Jeśli przygotowujemy KKCz ma być napromieniowany i pozbawiony leukocytów metodą filtracji, kolejność tych dwóch etapów preparatyki jest dowolna.
- B) Jeśli przygotowujemy KKCz ma być napromieniowany i przemywany, kolejność tych dwóch etapów preparatyki jest dowolna.
- C) W przypadku mrożonego KKCz napromieniowanie wykonywać bezpośrednio po zakończeniu procesu rozmrażania. Składnik taki przetoczyć jak najszybciej po napromieniowaniu.

10.3. Oznakowanie składnika

Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik z KKCz specjalną promienioczułą

etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

UWAGA:

Na etykietce KKCz zmienić termin ważności składnika, wg wskazówek podanych w p. 10.4.

Zaleca się sporządzenie ulotki informacyjnej o składniku, przygotowanej wg zasad przedstawionych w p. 2.4.

10.4. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 2 °C do 6 °C.

1. Napromieniowanie skraca termin przydatności KKCz do 28 dni, licząc od chwili pobrania (bez względu na rodzaj płynu konserwującego).
2. Napromieniowane KKCz i KPR, przeznaczone do transfuzji wymiennych u noworodków lub do transfuzji wewnątrzmacicznych powinny być zużyte w ciągu 24 godzin po napromieniowaniu.

10.5. Transport

Transportować w warunkach poddanych walidacji w temperaturze nie przekraczającej 10°C, najlepiej w specjalnych samochodach-chłodniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową lodówkę zasilaną elektrycznie albo w kontener z izolacją wypełniony wkładami chłodzącymi.

10.6. Kontrola jakości

Napromieniowany KKCz nie podlega dodatkowym badaniom kontroli jakości.

10.7. Wskazania do stosowania

Stosowanie NKKCz ma na celu zapobieganie potransfuzyjnej GvHD. Składnik wskazany jest w leczeniu chorych z wrodzoną/nabytą niewydolnością układu immunologicznego, szczególnie do transfuzji wewnątrzmacicznych i u noworodków z niską wagą urodzeniową (albo jeśli stosowano transfuzje wewnątrzmaciczne) oraz dla pacjentów otrzymujących leki immunosupresyjne. Napromienianie konieczne jest również w przypadku przetoczeń KKCz otrzymanego od dawców spokrewnionych z biorcą (pokrewieństwo I i II stopnia), nawet wówczas, gdy układ immunologiczny biorcy jest w pełni sprawny i w przypadku transfuzji składników zgodnych w HLA.

Napromienianie nie powoduje znaczącego uszkodzenia erytrocytów, wobec tego NKKCz może być stosowany dla wszystkich biorców.

10.8. Przeciwwskazania

Składnik nie jest wskazany w:

1. przypadkach wystąpienia alloimmunizacji spowodowanej antygenami HLA (chyba, że napromieniowaniu poddany zostanie UKKCz lub NKKCz, z którego leukocyty zostaną usunięte metodą filtracji),
2. różnego typu nadwrażliwości na białka osocza.

10.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Serologiczna zgodność składnika musi być potwierdzona przed przetoczeniem odpowiednimi badaniami laboratoryjnymi (próba zgodności).
2. Należy przetaczać przez filtr zatrzymujący mikroagregaty.

10.10. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.

3. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka), ale pojawiające się rzadziej niż po przetoczeniach KPK.
4. Alloimmunizacja antygenami HLA i krwinek czerwonych.
5. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
6. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
7. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
8. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
9. Zaburzenia biochemiczne (np. hiperkaliemia) - po masywnych przetoczeniach.
10. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
11. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
12. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

11. KONCENTRAT KRwinek PŁYTKOWYCH (KKP) - otrzymany metodą manualną z osocza bogatopłytkowego

11.1. Definicja i własności

Jedną jednostkę KKP stanowią krwinki płytkowe uzyskane przez odpowiednie odwirowanie jednej jednostki świeżej krwi pełnej przechowywanej przed preparatyką w temperaturze od 20 °C do 24°C. Pojedyncze jednostki KKP mogą być połączone w jeden preparat bezpośrednio przed wydaniem (zlewany KKP).

Jedna jednostka KKP zawiera $0,45-0,95 \times 10^{11}$ (przeciętnie $0,70 \times 10^{11}$) krwinek płytkowych zawieszonych w ok. 50 ml osocza oraz $0,05 - 0,2 \times 10^9$ leukocytów i $0,2 - 1 \times 10^9$ erytrocytów. Liczba składników komórkowych zależy od sposobu preparatyki.

11.2. Sposób otrzymywania

1. Krew pełną wirować w temperaturze od 20 °C do 24°C tak, aby rozdzielić ją na 2 frakcje: KKCz i osocze bogatopłytkowe. Proponowane parametry wirowania:

9 min, 770 x g

lub: 5 min, 1400 x g.

UWAGI:

- A. Po umieszczeniu w prasie, każdą jednostkę odwirowanej krwi należy poddać kontroli wizualnej, oceniając prawidłowość rozdziału składników i szczelność pojemników.
 - B. W osoczu prawidłowo odwirowanej krwi nie powinno być widocznych makroskopowo erytrocytów.
 - C. Nad warstwą krwinek czerwonych nie powinien utworzyć się kożuszek leukocytarno-płytkowy.
 - D. Warstwa erytrocytów musi być stabilna, nie powinna ulec zmąceniu w czasie wyjmowania pojemników z wirówki i umieszczania ich w prasie.
 - E. W przypadku nieprawidłowego rozdziału, dokładnie wymieszać zawartość pojemnika i odwirować ponownie.
 - F. Składniki zawarte w uszkodzonych pojemnikach lub zawierające osocze, którego wygląd nie odpowiada obowiązującym wymogom (np. zhemolizowane) należy przekazać do działu zapewnienia jakości.
2. Używając prasy precyzyjnie otrzymać osocze bogatopłytkowe do jednego z pustych pojemników satelitarnych. Podczas oddzielania osocza bogatopłytkowego przepływ nie powinien być zbyt szybki i powinien zostać zatrzymany na poziomie ok. 8-10 mm nad powierzchnią KKCz.

UWAGA:

Osocze bogatopłytkowe należy umieścić w pojemnikach „oddychających”

3. Za pomocą zgrzewarki dielektrycznej oddzielić pojemnik zawierający KKCz.
4. Pojemnik z osoczem bogatopłytkowym oraz towarzyszący(e) mu pusty(e) pojemnik(i) satelitarny(e) wirować powtórnie w temperaturze od 20°C do 24°C. Przykładowe parametry wirowania:
6 min, 5000 x g
lub: 13 min, 2300 x g
lub: 20 min, 1500 x g.
5. Używając prasy precyzyjnie uzyskać osocze ubogopłytkowe do pustego pojemnika satelitarnego. W pojemniku pozostawić ok. 50-70 ml składnika. Jeżeli KKP przeznaczone są bezpośrednio do mrożenia można pozostawić 20 ml osocza nad osadem krwinek płytkowych.
6. Za pomocą zgrzewarki oddzielić pojemnik z osoczem ubogokomórkowym. Jeśli osocze to uzyskane jest w odpowiednim czasie, to może zostać zamrożone jako FFP.
7. Pojemnik z osadem krwinek płytkowych pozostawić w spoczynku w temperaturze od 20°C do 24°C na 20-30 min.
8. Pojemnik zawierający KKP umieścić w temperaturze od 20°C do 24°C w mieszadle obrotowym lub horyzontalnym w celu ponownego zawieszenia komórek. Jeśli używane jest mieszadło horyzontalne, powinno ono pracować przez 15-20 min z prędkością 80 cykli/min, później z prędkością 100-120 cykli/min. Całkowite zawieszenie osadu powinno nastąpić po od 2 do 6 godz. (w zależności od temperatury, rodzaju pojemnika i rodzaju mieszadła).

UWAGA:

Do celów klinicznych lub do dalszej preparatyki przeznaczyć wyłącznie te jednostki, które nie zawierają zlepow komórkowych. Jednostki, w których można zaobserwować trwałą agregację płytek krwi, powinny zostać skasowane.

11.3. Wykonanie próbek pilotujących

Próbki pilotujące należy sporządzać tylko w przypadku jednostek, które mają być poddane kontroli jakości.

11.4. Oznakowanie składnika

Etykieta ostateczna powinna zawierać następujące informacje:

1. Nazwa placówki, w której otrzymano składnik
2. Nazwa składnika: „Koncentrat krwinek płytkowych” lub „KKP”.
3. Grupa ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Nr składnika (odpowiadający numerowi donacji).
5. Ilość składnika: 1 jednostka (objętość w ml).
6. Data pobrania.
7. Data ważności.
8. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich testów).
9. Wskazówki:
 - Przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C, stale mieszając.
 - Przetaczać przez filtr 170-200 µm natychmiast po otrzymaniu.

Zaleca się dołączanie do składnika wydawanego do użytku klinicznego ulotki informacyjnej o produkcie. Powinna ona zawierać informacje wyszczególnione w punktach 1, 2 i 9 oraz podane w p. 11.6., 11.8., 11.9. i 11.10. niniejszego rozdziału. Wprowadzenie takiej ulotki zwalnia z umieszczania na etykiecie informacji przedstawionych w punkcie 9. Nie zaleca

się wydawania dla jednego pacjenta kilku pojedynczych jednostek bez uprzedniego wykonania składnika zlewanego.

11.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C, stale mieszając (mieszadło obrotowe lub horyzontalne). Temperatura przechowywania KKP powinna być systematycznie kontrolowana i dokumentowana.

Termin ważności KKP w pojemnikach „oddychających” - do 5 dni, przy czym dzień pobrania krwi pełnej liczy się jako dzień 0.

UWAGA:

Patrz również wskazówki w część I. p. 1.5.

11.6. Transport

Transportować w pojemniku z izolacją, w temperaturze od 20°C do 24°C. Na 30 min przed użyciem pojemnik transportowy należy otworzyć i pozostawić w temperaturze pokojowej.

11.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości obejmuje testy nr 1 - 10 zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy przeprowadzić badania, przedstawione w tabeli 13.

TABELA 13: Kontrola jakości koncentratu krwinek płytkowych otrzymanego metodą manualną

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	> 40 ml na $0,6 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych*	Wszystkie jednostki
2	Liczba krwinek płytkowych $\times 10^{11}$ / jedn.	> 0,6	1 % wszystkich jednostek (nie mniej niż 10 jednostek / miesiąc)
3	Liczba leukocytów $\times 10^6$ / jedn.	< 200 ^{o)} < 50 ^{oo)} < 0,2 ^{ooo)}	
4	pH w temperaturze 22°C **) w końcowym okresie przechowywania	6,4 - 7,4	1 % wszystkich jednostek (nie mniej niż 4 jednostki / miesiąc)

*) Nie dotyczy jednostek przeznaczonych bezpośrednio do mrożenia

**) Kontrolować tylko w jednostkach przechowywanych przez 5 dni (w pojemnikach „oddychających”)

^{o)} KKP otrzymane z osocza bogatopłytkowego (wymaganie musi spełniać 75% badanych jednostek)

^{oo)} KKP otrzymane z kożuszka leukocytarno-płytkowego (wymaganie musi spełniać 75% badanych jednostek)

^{ooo)} KKP po usunięciu leukocytów (wymaganie musi spełniać 90% badanych jednostek)

11.8. Wskazania do stosowania

Decyzja o konieczności przetaczania KKP nie powinna opierać się wyłącznie na niskiej

liczbie płytek we krwi chorego. Zasadniczym wskazaniem jest małopłytkowość ($< 10000 / \mu\text{l}$) i towarzyszące jej objawy małopłytkowej skazy krwotocznej. Inne wskazania do transfuzji KKP są mniej lub bardziej względne i zależą od stanu klinicznego chorego (patrz rozdział 14 "Immunologiczne zasady przetaczania koncentratów krwinek płytkowych").

Na ogół jednorazowo przetacza się 4-6 jednostek KKP (ok. 1 jedn./10 kg masy ciała biorcy).

11.9. Środki ostrożności podczas stosowania

Nie zaleca się przetoczenia RhD ujemnej dziewczynce lub kobiecie w wieku rozrodczym RhD dodatniego KKP. W razie konieczności zastosowania takiego KKP należy podać immunoglobulinę anti-D, aby zapobiec immunizacji antygenem RhD. Zazwyczaj podaje się jednorazowo 50-100 μg immunoglobuliny anti-D (20 μg immunoglobuliny anti-D na 1 ml przetoczonych Rh dodatnich krwinek czerwonych).

Przetoczenia RhD dodatnich KKP pacjentom RhD ujemnym mogą odbywać się jedynie sporadycznie, w wyjątkowych wypadkach, a pisemne polecenie dokonania takiej transfuzji musi wydać lekarz.

11.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Alloimmunizacja antygenami HLA i HPA.
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
7. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
8. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
9. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
10. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

12. ZLEWANY KONCENTRAT KRwinek Płytkowych (ZL. KKP)

12.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowią krwinki płytkowe, wyizolowane metodą manualną z krwi konserwowanej lub osocza otrzymanego metodą manualnej plazmaferezy od kilku dawców i połączone w jednym pojemniku. Zazwyczaj zlewany KKP składa się z 4-8 pojedynczych jednostek, zawiera $3-5 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych oraz zanieczyszczenia leukocytarne i erytrocytarne, których ilość zależna jest od sposobu preparatyki. Połączenie odpowiedniej ilości pojedynczych jednostek KKP w placówce służby krwi zmniejsza ryzyko zakażenia bakteryjnego biorcy i ułatwia zabieg przetaczania.

12.2. Sposób otrzymywania

Można łączyć ze sobą wyłącznie jednostki KKP identyczne w układzie ABO. Dla biorcy RhD ujemnego należy łączyć wyłącznie jednostki RhD ujemne. Dla biorcy RhD dodatniego można łączyć zarówno jednostki RhD dodatnie jak i RhD ujemne.

12.2.1. Zlewanie pojedynczych jednostek KKP z osocza bogatopłytkowego

W komorze z laminarnym przepływem sterylnego powietrza połączyć dreny kolejnych pojemników za pomocą łączników plastikowych lub zestawów do preparatyki typu B. Można

również posłużyć się zestawami do preparatyki typu A, umieszczając igłę plastikową w otworach wylotowych kolejnych pojemników z KKP, zaś końcówkę plastikową w drenie pojemnika zbiorczego. Zastosowanie zgrzewarki do sterylnej łączenia drenów umożliwia uzyskanie zlewanego KKP bez naruszenia integralności układu zamkniętego.

12.2.2. Otrzymywanie zlewanego KKP z kożuszków leukocyтарno-platekowych

1. Krew pełną wirować w temperaturze od 20°C do 24°C np. przez 11 min z siłą 2700 x g (lub przez 6 min, z siłą 5000 x g).
2. Przy pomocy prasy automatycznej lub manualnej dokonać rozdziału na KKCz, osocze ubogokomórkowe i kożuszek leukocyтарno-platekowy. Używając prasy automatycznej, postępować ściśle według instrukcji producenta. Oddzielić od siebie poszczególne pojemniki, używając zgrzewarki dielektrycznej.
3. Pojemniki zawierające po 55-65 ml kożuszek leukocyтарno-platekowy pozostawić w spoczynku w temperaturze pokojowej przez od 2 do 18 godz. (nie dłużej niż 24 godz. od zabiegu pobrania krwi). Do dalszej preparatyki pozostawić również 1 jednostkę osocza ubogokomórkowego (przechowywać je w temperaturze +4°C).
4. W pustym pojemniku o pojemności 1000 ml sterylnie połączyć od 4 do 6 kożuszków leukocyтарno-platekowych oraz pozostawione osocze.

UWAGI:

- A. *Przed dodaniem FFP do zlanych kożuszków leukocyтарno-platekowych wskazane jest ogrzanie osocza. W tym celu zaleca się umieszczenie w temperaturze pokojowej pojemników zawierających osocze na godzinę przed przystąpieniem do zlewania kożuszków.*
 - B. *Do użytku pediatrycznego należy przygotować składnik zawierający od 2 do 4 kożuszków leukocyтарno-platekowych.*
 - C. *Zamiast samego osocza można również stosować roztwór wzbogacający do krwinek platekowych, zgodnie z zaleceniami producenta.*
5. Wirować w temperaturze od 20°C do 24°C przez 6 min, z siłą 650 x g.
 6. Pojemnik umieścić w prasie, połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym o pojemności 1000 ml. Supernatant, stanowiący gotowy składnik, przecisnąć do pustego pojemnika.

UWAGI:

- A. *Jeśli wszystkie połączenia zostaną wykonane przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączenia drenów, a gotowy składnik będzie umieszczony w pojemniku/pojemnikach „oddychających” o pojemności 1000 ml, składnik może być przechowywany w temperaturze od 20°C do 24°C przy stałym mieszaniu przez 5 dni od chwili pobrania krwi.*
- B. *Zalecane jest usuwanie leukocytów w ciągu 6 godzin od otrzymania KKP.*

12.3. Wykonanie próbek pilotujących

Próbki pilotujące potrzebne są tylko do kontroli jakości niektórych składników wykonanych w systemie zamkniętym.

12.4. Oznakowanie składnika

Etykieta ostateczna powinna zawierać następujące informacje:

1. Nazwa placówki, w której otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika: „Zlewany koncentrat krwinek platekowych” lub „Zl. KKP”.
3. Grupa ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Numery wszystkich pojedynczych jednostek (odpowiadające numerom donacji).
5. Ilość składnika: liczba połączonych jednostek (objętość w ml).
6. Data/daty pobrania.
7. Data preparatyki.
8. Termin ważności: dzień, godzina.

9. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich testów).

10. Wskazówki:

- Przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C, stale mieszając.
- Przetaczać przez filtr 170-200 µm natychmiast po otrzymaniu.

Zaleca się dołączanie do składnika wydawanego do użytku klinicznego ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej na zasadach podanych w p. 11.4.

12.5. Przechowywanie i termin ważności

1. Zlewany KKP zachowuje ważność w ciągu 6 godz. od chwili zakończenia preparatyki (na etykiecie należy podać godzinę, w której kończy się ważność składnika). W razie potrzeby przechowywać składnik w mieszadle, w temperaturze od 20°C do 24°C.
2. Zlewany KKP wyprodukowany w systemie zamkniętym (przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączności drenów) zachowuje ważność przez 5 dni (przy czym dzień pobrania najstarszej jednostki liczy się jako dzień 0), jeśli jest przechowywany w mieszadle obrotowym lub horyzontalnym, w temperaturze od 20°C do 24°C, w pojemniku/pojemnikach „oddychających” o pojemności co najmniej 1000 ml.
3. Jeżeli został zwalidowany system zapewniający nieobecność zanieczyszczeń bakteryjnych i każde opakowanie KKP jest badany mikrobiologicznie, to dopuszcza się przechowywanie KKP do 7 dni.

UWAGA:

Patrz również wskazówki w p. I. 1.5.

12.6. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

12.7. Kontrola jakości

Kontroli jakości podlegają pojedyncze jednostki KKP, wchodzące w skład preparatu zlewane (patrz p. 11.7.). W przypadku zlewanych KKP wyprodukowanych w systemie zamkniętym (przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączności drenów), oprócz badań nr 1 - 10 zebranych w tabeli 3, str. 21 należy przeprowadzić kontrolę zgodnie z wymogami przedstawionymi w tabeli 14.

TABELA 14: Kontrola jakości zlewane KKP wyprodukowanego w systemie zamkniętym

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	$> 40 \times N^{**}$	Wszystkie preparaty
2	Liczba krwinek płytkowych $\times 10^{11}$ / preparat *)	$> 0,6 \times N^{**}$	1 % wszystkich preparatów (nie mniej niż 10 prep. / miesiąc)
3	Liczba leukocytów $\times 10^6$ / preparat *)	$< 50 \times N^{**}$	
4	pH w temperaturze 22°C (w końcowym okresie przechowywania)	6,4 - 7,4	5% wszystkich preparatów przechowywanych przez 5 dni (nie mniej niż 4 prep./miesiąc)

*) Dotyczy tylko zlewanego KKP otrzymanego z kożuszków leukocytno-płytkowych

***) N - liczba połączonych kożuszków leukocytno-płytkowych

12.8. Wskazania do stosowania

Patrz p. 11.8.

12.9. Środki ostrożności podczas stosowania

Patrz p. 11.9.

12.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Alloimmunizacja antygenami HLA i HPA.
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
7. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
8. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
9. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
10. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

13. KONCENTRAT KRWINEK PŁYTKOWYCH - otrzymany metodą automatycznej aferezy (KKP-Af.)

13.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowią krwinki płytkowe uzyskane przy użyciu separatora komórkowego (metodą automatycznej trombaferozy) z odpowiedniej objętości krwi jednego dawcy. W zależności od metody preparatyki i rodzaju użytego aparatu, zawartość płytek krwi w składniku waha się od 2 do 8×10^{11} . Standardowy preparat KKP otrzymany metodą aferezy odpowiada 5 pojedynczym jednostkom KKP. Przy użyciu niektórych separatorów i odpowiedniej selekcji dawców można w jednym zabiegu trombaferozy otrzymać KKP równoważny 13 pojedynczym jednostkom KKP wyizolowanym z krwi pełnej; składnik taki może być dzielony i wykorzystany do transfuzji dla 2 biorców.

Rodzaj separatora i stosowanego zestawu ma zasadniczy wpływ również na ilość zanieczyszczeń leukocytnych i erytrocytnych.

Automatyczna trombaferoza pozwala na uzyskanie KKP od jednego dawcy, co wiąże się z ograniczeniem ekspozycji biorcy na kontakty z obcymi antygenami i zmniejsza ryzyko przeniesienia zakażeń wirusowych drogą krwi. Daje możliwość przetaczania KKP od dawców dobranych w układzie HLA i HPA, co ma szczególne znaczenie w przypadku biorców, u których stwierdzono obecność przeciwciał.

13.2. Sposób otrzymywania

KKP może być otrzymywany przy użyciu różnego rodzaju separatorów komórkowych. W zależności od rodzaju separatora, zabieg trombaferozy może przebiegać w sposób ciągły lub cykliczny. W separatorach z ciągłym przepływem krew pełna pobierana jest przez cały czas trwania zabiegu. Po zmieszaniu z antykoagulantem podlega ona rozfrakcjonowaniu na KKCz i

osocze bogatopłytkowe, które następnie rozdzielane jest na KKP i osocze ubogokomórkowe. Po wymieszaniu, KKCz i osocze pozbawione elementów komórkowych, są sukcesywnie zwracane do krwioobiegu dawcy. W przypadku separatorów z przepływem przerywanym pobieranie krwi pełnej, jej frakcjonowanie i reinfuzja krwi pozbawionej krwinek płytkowych następują po sobie cyklicznie. Bez względu na rodzaj aparatu, w czasie zabiegu trwającego 30-120 min, separacji podlega zazwyczaj ok. 5000 ml krwi. Krwinki płytkowe z aferezy mogą być pobierane i przechowywane w osoczu lub w mieszaninie osocza i odpowiedniego roztworu wzbogacającego.

W każdym zabiegu trombaferezy używa się sterylnych, jednorazowych zestawów z tworzyw sztucznych, składających się z drenów do pobierania krwi pełnej i reinfuzji krwi ubogopłytkowej oraz naczyń wirowniczych i pojemników na produkty uboczne i/lub pośrednie oraz pojemników na produkt końcowy (KKP). Mogą to być zestawy:

1. typu „zamkniętego”; w skład których integralnie włączone są pojemniki plastikowe z antykoagulantem oraz dodatkowe pojemniki „oddychające”, służące do przedłużonego przechowywania KKP,
2. typu „otwartego”; wymagające podłączenia pojemników z antykoagulantem, wyposażone jedynie w zwykły pojemnik, służący do odbioru KKP.

Szczegółowe instrukcje wykonywania zabiegu trombaferezy są przedstawione przez producentów separatorów. Zaleca się ściśle przestrzeganie tych wytycznych, szczególnie dotyczących rodzaju i ilości stosowanego antykoagulantu i/lub innych płynów infuzyjnych oraz czasu trwania zabiegu (ilości cykli zabiegu). Odstępstwa od ustalonej procedury mogą przyczynić się do wystąpienia powikłań u dawcy lub wpłynąć niekorzystnie na jakość otrzymanego KKP.

13.3. Wykonanie próbek pilotujących

Wyodrębnić z drenu próbkę przeznaczoną do wykonania kontroli serologicznej. W razie potrzeby sporządzić również próbkę do kontroli jakości.

13.4. Oznakowanie składnika

Etykieta ostateczna powinna zawierać następujące informacje:

1. Nazwa placówki, w której otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika: „Koncentrat krwinek płytkowych z separatora komórkowego” lub „KKP-Af.”.
3. Grupa ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Nr składnika (odpowiadający numerowi donacji).
5. Ilość składnika: objętość w ml (podać średnią lub aktualną liczbę krwinek płytkowych w składniku).
6. Data pobrania.
7. Data ważności.
8. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich badań).
9. Wskazówki:
 - Przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C, stale mieszając.
 - Przetaczać przez filtr 170-200 µm natychmiast po otrzymaniu.

UWAGA:

Jeśli dla biorcy z przeciwciałami z układu HLA lub HPA przygotowano składnik od dawcy dobranego/zgodnego w zakresie antygenów HLA lub HLA, na etykiecie powinna znaleźć się informacja: „Składnik dobrany dla / zgodny z(dane personalne biorcy, nazwa odbiorcy)”.

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej wg zasad przedstawionych w p. 11.4.

13.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKP (patrz p. 11.5.).

1. Składnik otrzymany w układzie „otwartym” zachowuje ważność przez 24 godz. od chwili zakończenia zabiegu trombaferezy.
2. Składnik otrzymany w układzie „zamkniętym”, przechowywany w pojemnikach „oddychających” ma termin przydatności do 5 dni (dzień pobrania liczy się jako dzień 0).
3. W przypadku wykonania badań bakteriologicznych danego koncentratu krwinek płytkowych i uzyskania piątego dnia wyników ujemnych dopuszcza się przechowywanie KKP do 7 dni.

UWAGA:

Patrz również wskazówki w p. 11.5.

13.6. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

13.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości obejmuje testy nr 1 - 10 zebrane w tabeli 3, str. 21 oraz badania przedstawione w tabeli 15.

UWAGI:

- A. Jeśli składnik ma być przechowywany dłużej niż 24 godz., na każde $0,6 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych powinno przypadać co najmniej 40 ml osocza.
- B. Jeżeli preparat, w widoczny sposób jest zanieczyszczony krwinkami czerwonymi, należy ustalić w nim całkowitą zawartość erytrocytów. Jeśli przekracza ona 2×10^{10} na preparat, transfuzję można wykonać tylko po uzyskaniu prawidłowego wyniku próby zgodności dla krwinek czerwonych.

TABELA 15: Kontrola jakości koncentratu krwinek płytkowych otrzymanego metodą automatyczną

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	$> 40 \text{ ml} / 0,6 \times 10^{11}$ płytek	Wszystkie jednostki
2	Liczba krwinek płytkowych $\times 10^{11}$ / preparat	$> 2,0$	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 10 jednostek / miesiąc)
3	Liczba leukocytów $\times 10^6$ / preparat	< 1000	
4	pH ^{*)} w temperaturze 22°C w końcu okresu ważności	6,4 - 7,4	

^{*)} Kontrolować tylko w KKP otrzymanych w układzie zamkniętym i przechowywanych przez 5 dni.

13.8. Wskazania do stosowania

Decyzja o konieczności przetaczania KKP nie powinna opierać się wyłącznie na niskiej

liczbie płytek we krwi chorego. Zasadniczym wskazaniem jest małopłytkowość ($< 10\ 000 / \mu\text{l}$) i towarzyszące jej objawy skazy krwotocznej. Inne wskazania do transfuzji KKPAf są mniej lub bardziej względne i zależą od stanu klinicznego chorego (patrz rozdział „Immunologiczne zasady przetaczania koncentratów krwinek płytkowych”).

W przypadku krwinek płytkowych otrzymanych metodą aferezy obowiązują te same zasady dawkowania co dla zlewanych KKP: na 10 kg wagi ciała należy podać ok. $0,6 \times 10^{11}$ płytek krwi.

Stosowanie KKP z aferezy jest szczególnie wskazane w leczeniu chorych zimmunizowanych antygenami HLA i/lub HPA, gdyż daje możliwość przetaczania KKP od dobranych dawców.

13.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Przetaczanie KKPAf chorym, u których stwierdzono przeciwciała z układu HLA/HPA powinno być poprzedzone doбором dawców i próbą zgodności w zakresie antygenów HLA/HPA.
2. Nie zaleca się przetaczania KKP pobranego metodą aferezy od dawców, którzy są krewnymi biorcy.
3. Nie zaleca się przetaczania KKP pobranego metodą aferezy od dawców, którzy zostali wytypowani jako potencjalni dawcy komórek macierzystych lub szpiku dla danego biorecy.
4. Nie zaleca się przetoczenia RhD ujemnej dziewczynce lub kobiecie w wieku rozrodczym RhD dodatniego KKP. W razie konieczności zastosowania takiego KKP należy podać immunoglobulinę anti-D, aby zapobiec immunizacji antygenem RhD. Zazwyczaj podaje się jednorazowo 50-100 μg immunoglobuliny anti-D (20 μg immunoglobuliny anti-D na 1 ml przetoczonych krwinek czerwonych Rh dodatnich).

Przetoczenia RhD dodatnich KKP pacjentom RhD ujemnym mogą odbywać się jedynie sporadycznie, w wyjątkowych wypadkach a pisemne polecenie dokonania takiej transfuzji musi wydać lekarz.

13.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Alloimmunizacja antygenami HLA i HPA.
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
7. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
8. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
9. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
10. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

14. UBOGOLEUKOCYTARNY KONCENTRAT KRWINEK PŁYTKOWYCH (UKKP)

14.1. Definicja i właściwości

UKKP jest to składnik uzyskany przez usunięcie większości leukocytów ze zlewane go KKP lub z KKP otrzymanego metodą automatyczną. Nie powinien zawierać więcej niż 1×10^6

krwinek białych.

Stosowanie UKKP zmniejsza ryzyko alloimmunizacji HLA i związanych z tym powikłań: niehemolitycznych odczynów gorączkowych i oporności na transfuzje płytek krwi. Ogranicza możliwość przeniesienia niektórych zakażeń wirusowych, np. CMV.

14.2. Sposób otrzymywania

14.2.1. Zmodyfikowane techniki izolowania KKP przy użyciu separatorów komórkowych

Separatory komórkowe najnowszej generacji zostały udoskonalone w taki sposób, że umożliwiają uzyskanie KKP zawierającego mniej niż 1×10^6 krwinek białych, czyli UKKP. Na stopień zanieczyszczenia składnika leukocytami decydujący wpływ wywiera stan techniczny separatora oraz przestrzeganie instrukcji jego obsługi.

14.2.2. Usuwanie zanieczyszczeń leukocytarnych ze standardowych KKP

Do wybiórczego usuwania leukocytów z KKP służą filtry antyleukocytarne. Na ogół stanowią one integralny składnik zestawu do filtracji. Zestaw do użytku laboratoryjnego albo wyposażony jest w pojemnik do odbioru UKKP, albo wymaga podłączenia pustego pojemnika transferowego. Filtrację należy prowadzić ściśle wg instrukcji producenta. Oczyszczaniu poddaje się KKP zlewane lub KKP z separatora komórkowego. Nie powinny one zawierać zlepow komórkowych, agregatów ani włókna.

Filtracja powoduje utratę 5-15% krwinek płytkowych, w zależności od zastosowanego filtra.

Wprowadzenie do użycia każdej nowej serii filtrów musi być poprzedzone procedurą walidacyjną, mającą na celu stwierdzenie skuteczności filtracji (kontrola jakości co najmniej pierwszych 6 jednostek UKKP uzyskanych przy użyciu filtrów nowej serii) i ewentualnie ustalenie optymalnych warunków filtracji.

Zaleca się usuwanie leukocytów w początkowym okresie przechowywania (w ciągu 6 godz. od chwili wykonania składnika macierzystego), przy zastosowaniu postępowania w systemie zamkniętym tj. po połączeniu zestawu filtracyjnego z pojemnikiem/pojemnikami przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączności drenów.

14.3. Wykonanie próbek pilotujących

Próbki pilotujące potrzebne są tylko do kontroli jakości niektórych składników.

14.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek płytkowych” lub „UKKP”.

1. Jeśli składnik został wykonany ze zlewanych KKP, na etykiecie należy umieścić wszystkie informacje, przewidziane w p. 12.4.
2. Jeśli leukocyty usuwano z KKP otrzymanego metodą automatyczną, etykieta powinna zawierać dane, przedstawione w p. 13.4.

Zaleca się dołączanie do składnika wydawanego do użytku klinicznego ulotki informacyjnej, sporządzonej wg zasad przedstawionych w p. 11.4.

14.5. Przechowywanie i termin ważności

1. UKKP przygotowany w systemie otwartym nadaje się do użycia w ciągu 6 godz. od chwili zakończenia preparatyki (na etykiecie należy podać godzinę, w której składnik traci ważność). W razie potrzeby przechowywać składnik w mieszadle, w temperaturze od 20°C do 24°C.
2. UKKP wyprodukowany w systemie zamkniętym (przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączności drenów) zachowuje ważność przez 5 dni (licząc od dnia otrzymania macierzystego składnika lub najstarszej jednostki KKP), jeśli jest przechowywany w mieszadle obrotowym

lub horyzontalnym, w temperaturze od 20°C do 24°C, w pojemniku/pojemnikach „oddychających” o pojemności co najmniej 1000 ml. Po wykonaniu badań bakteriologicznych i uzyskaniu piątego dnia wyników ujemnych, dopuszcza się przechowywanie UKKP do 7 dni (patrz część I p. 1.5).

14.6. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

14.7. Kontrola jakości

Oprócz testów nr 1 - 10, zebranych w tabeli 3, str. 21, kontrola jakości obejmuje badania przedstawione w tabeli 16.

TABELA 16: Kontrola jakości ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek płytkowych

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Liczba leukocytów x 10 ⁶ /preparat *)	<ul style="list-style-type: none"> • KKP zlewany: < 0,2 / jedn. x liczba jedn. • KKP separatora: < 1,0 / prep. 	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 10 jednostek/miesiąc)

*) Wymaganie powinno spełniać co najmniej 90% badanych jednostek

14.8. Wskazania do stosowania

1. Wielokrotni biorcy KKP, potencjalni biorcy przeszczepów krwiotwórczych komórek macierzystych, potencjalni biorcy przeszczepów innych narządów powinni otrzymywać wyłącznie transfuzje UKKP (i w razie potrzeby również UKKCz), gdyż zapobiega to immunizacji antygenami HLA.
2. Wielokrotni biorcy KKP, u których wystąpiły co najmniej dwie poprzetoczeniowe niehemolityczne reakcje gorączkowe - jako zabezpieczenie przed powtórными odczynami.
3. Do transfuzji dopłodowych, dla noworodków, pacjentów po przeszczepach i dla innych chorych z upośledzeniem układu immunologicznego - w celu zabezpieczenia przed potransfuzyjnym zakażeniem CMV, jeśli niedostępny jest KKP pobrany od dawcy CMV-ujemnego.

14.9. Środki ostrożności podczas stosowania

Takie same, jak w przypadku składników wyjściowych - patrz p. 11.9. i 13.9.

14.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka) - o mniejszym nasileniu lub rzadziej, niż po innych rodzajach KKP.
2. Alloimmunizacja antygenami HPA i HLA (prawdopodobieństwo alloimmunizacji HLA niewielkie, jeśli równocześnie stosuje się UKKCz).
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV, itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.

5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
7. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
8. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
9. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
10. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

15. MROŻONY KONCENTRAT KRwineK PŁYTKOWYCH (MKKP)

15.1. Definicja i właściwości

Składnik stanowią krwinki płytkowe zamrożone wraz z odpowiednim środkiem kriochronnym i przechowywane w temperaturze poniżej -80°C . Przed użyciem krwinki są rozmrażane, przemywane i zawieszane w rozmrożonym osoczu zgodnogrupowym.

Zastosowana metoda preparatyki pociąga za sobą ilościowe straty płytek krwi oraz przemijające upośledzenie ich właściwości.

Zalecane jest mrożenie ubogoleukocytarnych koncentratów krwinek płytkowych.

15.2. Sposób otrzymywania

15.2.1. Zamrażanie KKP

Powszechnie stosowanym środkiem, chroniącym krwinki płytkowe przed uszkodzeniami w procesie kriokonserwacji jest dwumetylosulfotlenek (DMSO). Końcowe stężenie DMSO w składniku powinno wynosić 5%.

Zamrażaniu można poddać zlewany KKP, KKP z separatora komórkowego lub odpowiadające im składniki ubogoleukocytarne. Usuwanie leukocytów z rozmrożonych KKP jest nieskuteczne.

15.2.1.1. Zamrażanie zlewanego KKP

1. Pojedyncze jednostki KKP, przeznaczone do mrożenia, przygotować wg wskazówek zawartych w p. 11.2.
2. Podczas przygotowywania KKP (po odwirowaniu osocza bogatopłytkowego), do pustego pojemnika transferowego odlać ok. 20 ml osocza ubogokomórkowego (najlepiej pochodzącego z tej samej donacji, co jeden z zamrażanych KKP) i przechowywać je do czasu rozpoczęcia dalszej preparatyki w temperaturze 4°C .
3. Po całkowitym ponownym zawieszeniu w osoczu osadu krwinek płytkowych (nie później niż w ciągu 24 godz. od chwili zakończenia donacji) połączyć w jednym pojemniku 5-6 pojedynczych jednostek KKP.

UWAGA:

Aby otrzymać mrożony UKKP, ze składnika przygotowanego wg powyższych wskazówek, usunąć leukocyty metodą filtracji (patrz p. 14.2.2.).

4. Ustalić objętość otrzymanego zlewanego KKP. Obliczyć, jaką ilość DMSO należy użyć do kriokonserwacji składnika (w obliczeniach uwzględnić osocze, które zostanie zużyte do rozcieńczenia DMSO). Posłużyć się wzorem:

$$V_{\text{DMSO}} = \frac{(V_{\text{KKP}} + V_{\text{osocza}}) \times 0,05}{0,95}$$

gdzie:

V_{DMSO} - objętość środka kriochronnego w ml

V_{KKP} - objętość KKP w ml

V_{osocza} - objętość osocza, użytego do rozcieńczenia DMSO.

5. Sterylną strzykawką, zawierającą odmierzoną ilość DMSO, włączyć się w zdezynfekowany 70% alkoholem etylowym dren pojemnika z osoczem. Bardzo wolno dodawać środek kriochronny, mieszając cały czas zawartość pojemnika. Zgrzać dren pomiędzy miejscem wklucia a pojemnikiem.

UWAGI:

- A. Odmierzać DMSO z dokładnością do 0,5 ml.
 - B. Nie dodawać DMSO bezpośrednio do KKP.
 - C. Ze względów bezpieczeństwa wskazane jest dodawanie DMSO przez filtr mikrobiologiczny, nakładany na strzykawkę. Zalecane jest stosowanie DMSO zgodnego z Farmakopeą Europejską, konfekcjonowanego w małych opakowaniach.
 - D. Chronić oczy i skórę przed kontaktem z DMSO!
6. Połączyć dreny pojemników zawierających KKP i roztwór DMSO w osoczu. Pojemnik z KKP umieścić na mieszadle horyzontalnym, pracującym z prędkością 100 cykli/min. Mieszaninę kriochronną dodawać powoli, kroplami, w ciągu 20-30 min (prędkość przepływu regulować zaciskiem obrotowym).
 7. Używając zgrzewarki dielektrycznej oddzielić od siebie pojemniki.
 - 8a. Jeśli KKP ma być przechowywany w temperaturze -80°C, pojemnik opatrzyć etykietą, zawierającą następujące informacje:
 1. Nazwa składnika („Zl. MKKP”).
 2. Grupa ABO i Rh (słownie, tj. „dodatni” lub „ujemny”).
 3. Numery wszystkich jednostek, wchodzących w skład Zl. KKP.
 4. Objętość składnika (w ml).
 5. Data zamrożenia.
 6. Nazwa i objętość środka kriochronnego.
 7. Data ważności.
 8. Temperatura przechowywania.
 9. Informacje, dotyczące wyników badań dawców w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych.
 - 8b. Jeśli KKP ma być przechowywany w parach azotu lub zamrażarce o temperaturze -140°C, sterylnie przelać składnik do pojemnika kriogenicznego (wielkość pojemnika powinna być dostosowana do objętości składnika). Otwór wlotowy pojemnika do mrożenia zamknąć za pomocą zgrzewarki. Na pojemniku kriogenicznym umieścić etykietę z informacjami, przedstawionymi w p. 8a.
 9. Pojemnik zawierający KKP włożyć do ochronnej okładki. Okładkę opatrzyć etykietą o treści przedstawionej w p. 8a.
 10. Składnik umieścić w odpowiedniej zamrażarce lub w parach azotu.

UWAGA:

W razie potrzeby można przeznaczyć do mrożenia również pojedyncze jednostki KKP o objętości większej niż 20 ml (przygotowane pierwotnie do przechowywania w temperaturze pokojowej lub do użytku klinicznego). Odpowiednią ilość jednostek, przechowywanych nie dłużej niż 24 godz. od chwili pobrania, połączyć w jednym pojemniku wg wskazówek zawartych w p. 12.2.1. Dalsze postępowanie - patrz p. 15.2.1.2. 1-5, 7-8.

15.2.1.2. Zamrażanie KKP z separatora komórkowego

Procedurę zamrażania rozpocząć natychmiast po zakończeniu zabiegu trombaferezy (nie później niż w ciągu 24 godz.). Składnik przeznaczony do mrożenia może zawierać zlepy krwinek płytkowych.

Zamrażać można również UKKP, otrzymany wg wskazówek zawartych w p. 14.2.2.

1. Składnik wirować w temperaturze od 20°C do 24°C, proponowane warunki wirowania: 6 min z siłą 5000 x g (lub 13 min, z siłą 2300 x g).

UWAGA:

Jeśli pojemnik macierzysty, zawierający KKP ma pojemność większą niż 600 ml, przed wirowaniem sterylnie przelać KKP do pustego pojemnika o pojemności 300-600 ml

2. Pojemnik z odwirowanym KKP umieścić w prasie. Przyłączać do niego kolejno 2 puste pojemniki do odbioru osocza ubogokomórkowego. Do pierwszego z nich odlać 50 ml osocza i oddzielić za pomocą zgrzewarki dielektrycznej. Do drugiego precyzyjnie przecisnąć pozostały supernatant, zostawiając jednak nad osadem krwinek płytkowych 20-30 ml osocza. Dren łączący oba pojemniki zamknąć zaciskiem plastikowym lub kleszczykami hemostatycznymi.
3. Odwirowany KKP pozostawić w spoczynku w temperaturze od 20°C do 24°C na 15-20 min.
4. Zawiesić w osoczu osad płytek krwi, używając mieszadła horyzontalnego pracującego przez ok. 15 min z prędkością 80 cykli/min, później z prędkością 100-120 cykli/min.
5. Jednolitą zawiesinę komórek rozcieńczyć osoczem z pojemnika satelitarnego do objętości 50 ml.
6. Pojemnik zawierający resztę osocza oddzielić za pomocą zgrzewarki dielektrycznej i opatrzyć etykietą zawierającą informacje przewidziane w p. 20.4. Osocze zamrozić i przechowywać w temperaturze -18°C lub niższej. Użyć do rekonstrukcji rozmrażanego KKP.
7. Do oddzielnego uprzednio pojemnika, zawierającego 50 ml osocza dodać 5 ml DMSO (patrz p. 15.2.1.1. punkt 5).
8. Dalsze postępowanie analogiczne jak przy zamrażaniu zlewanego KKP - patrz p. 15.2.1.1. punkty 6-10.

15.2.2. Rozmrażanie i rekonstrukcja KKP

1. Pojemnik zawierający KKP, przechowywany uprzednio w temperaturze - 80° umieścić w łaźni wodnej w temperaturze 37°C. Jeśli KKP przechowywany był w niższej temperaturze, przed włożeniem do łaźni należy pozostawić pojemnik w temperaturze pokojowej na 2-3 min, w celu zabezpieczenia przed pękaniem pojemników wskutek gwałtownego ogrzania. Rozmrażać stale mieszając.
2. W tej samej łaźni wodnej rozmrozić zgodnie grupowo osocze, przeznaczone do rekonstrukcji KKP. Doprowadzić je do temperaturze 37°C.

UWAGI:

- A. Do rekonstrukcji KKP z separatora komórkowego wskazane jest stosowanie osocza autologicznego.
 - B. Do rekonstrukcji zlewanego KKP można użyć FFP, osocza mrożonego lub osocza bez czynnika VIII, podzielonego na porcje o objętości 100 ml.
3. Przygotować roztwór do przemywania KKP: w komorze z laminarnym przepływem powietrza, do drenu pojemnika zawierającego 100 ml 0,9% roztworu NaCl dodać strzykawką 2,5 ml roztworu witaminy C (o stężeniu 100 mg/1 ml, np. Vitaminum C - 0,5g/5ml). W razie potrzeby zwiększyć ilość przygotowanego roztworu, zachowując powyższe proporcje.
 4. Połączyć pojemniki z KKP i roztworem do przemywania. Wolno, w ciągu 20-30 min, kroplami dodawać roztwór do przemywania do rozmrożonego koncentratu w proporcji 1:1 (prędkość przepływu regulować zaciskiem obrotowym). Przez cały czas mieszać zawartość pojemnika z KKP (mieszadło horyzontalne).
 5. Używając zgrzewarki dielektrycznej oddzielić pojemnik z KKP i wirować go w temperaturze od 20°C do 24°C np. przez 6 min z siłą 5000 x g (lub przez 13 min, z siłą 2300 x g).
 6. Umieścić pojemnik w prasie do odciągania osocza. Połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym i precyzyjnie przecisnąć do niego cały nadsącz.
 7. W miejsce pojemnika z popłuczynami podłączyć pojemnik z rozmrożonym osoczem. Dodać 20-30 ml osocza i zamknąć jego dalszy dopływ zaciskiem plastikowym lub kleszczykami hemostatycznymi. Pojemniki pozostawić w spoczynku w temperaturze od 20°C do 24°C na 15-20 min.
 8. Używając mieszadła horyzontalnego dokładnie ponownie zawiesić w osoczu osad krwinek

płytkowych. Początkowo mieszało powinno pracować z prędkością 80 cykli/min, po ok. 15 min należy zwiększyć prędkość do 100-120 cykli/min.

9. Dodać pozostałe osocze. Oddzielić pojemnik z rozmrożonym KKP za pomocą zgrzewarki dielektrycznej i opatrzyć go stosowną etykietą.

15.3. Wykonanie próbek pilotujących

Próbki pilotujące potrzebne są jedynie do badań kontroli jakości, wykonywanych przed zamrożeniem składnika i po jego rozmrożeniu. Próbkę do badań wstępnych należy pobrać po otrzymaniu składnika zlewanego (p. 15.2.1.1., punkt 3.) lub z macierzystego składnika uzyskanego metodą aferezy, przy czym trzeba zwrócić uwagę na poprawność zawieszenia komórek w osoczu. Po rozmrożeniu i rekonstytucji składnika (p. 15.2.2., punkt 9.) pobrać analogiczną próbkę.

15.4. Oznakowanie składnika

Składnik oznaczyć jako: „Mrożony koncentrat krwinek płytkowych” lub „MKKP”. Na etykiecie należy umieścić wszystkie informacje, przewidziane w p. 12.4. lub p. 13.4. (w zależności od techniki otrzymania macierzystego KKP). Jeśli do rekonstytucji KKP nie użyto osocza autologicznego, na etykiecie podać numer donacji zastosowanego osocza.

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o składniku, sporządzonej wg zasad przedstawionych w p. 11.4.

15.5. Przechowywanie i termin ważności

1. Składniki przechowywane w temperaturze -80°C mają termin ważności do 12 miesięcy. Przechowywanie w temperaturze -140°C lub w parach azotu przedłuża ten termin do 2 lat.
2. Po rozmrożeniu i rekonstytucji KKP nadaje się do użycia w ciągu 2 godz. od chwili zakończenia preparatyki. Na etykiecie należy podać godzinę, w której składnik traci ważność. W razie potrzeby przechowywać preparat w temperaturze od 20°C do 24°C , przy stałym mieszaniu.

15.6. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

15.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości obejmuje testy nr 1 - 10 zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy przeprowadzić badania, przedstawione w tabeli 17.

TABELA 17: Kontrola jakości rozmrożonego koncentratu krwinek płytkowych

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	50 - 200	Wszystkie jednostki
2	Liczba krwinek płytkowych $\times 10^{11}$ / preparat	$> 40\%$ wartości przed zamrożeniem	
3	Leukocyty przed zamrożeniem $\times 10^6$ /preparat*	$< 1,0$	

* dotyczy jednostek ubogoleukocytarnych, badanie wykonać przed zamrożeniem

15.8. Wskazania do stosowania

Rozmrożony KKP może być stosowany tylko wtedy, gdy niedostępne są świeże KKP (przechowywane w temperaturze pokojowej). Wskazania do jego stosowania są takie same, jak dla składników macierzystych, patrz p. 11.8. i 13.8.

Przechowywanie KKP w stanie zamrożenia często jest jedyną metodą zgromadzenia składników pobranych od dobranych dawców, przeznaczonych dla szczególnych biorców:

1. Noworodków i płodów z małopłytkowością alloimmunologiczną.
2. Chorych uodpornionych antygenami HLA lub HPA.
3. Chorych po przeszczepieniu komórek macierzystych.

15.9. Środki ostrożności podczas stosowania

Takie same, jak w przypadku składników macierzystych - *patrz p. 11.9. i 13.9.*

15.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Alloimmunizacja antygenami HLA i HPA (prawdopodobieństwo minimalne).
3. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
4. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
5. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
6. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
7. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
8. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

16. REKONSTYTUOWANY KONCENTRAT KRwinek Płytkowych (RKKP)

16.1. Definicja i właściwości

Rekonstruowany koncentrat krwinek płytkowych (RKKP) to składnik zawierający krwinki płytkowe zawieszone w osoczu zgodnym grupowo z biorcą z zachowaniem odpowiednich zasad. Uniwersalne zastosowanie mają krwinki płytkowe grupy 0 Rh- w osoczu grupy AB. Składnik ten otrzymuje się przez usunięcie osocza ze zlewanego KKP lub z KKP z uzyskanego metodą automatyczną i zawieszenie płytek krwi w osoczu grupy AB. Składnik ten może być stosowany dla każdego biorcy, bez względu na posiadaną przez niego grupę krwi.

W wyjątkowych sytuacjach, w przypadku braku KKP jednoimiennej z grupą krwi biorcy, można zastosować inny KKP zgodnie z następującymi zasadami:

1. biorca grupy AB Rh+ może otrzymać krwinki płytkowe grupy 0 Rh+, 0 Rh-, A Rh+, A Rh-, B Rh+ lub B Rh- zawieszane w osoczu grupy AB,
2. biorca grupy AB Rh- może otrzymać krwinki płytkowe grupy 0 Rh-, A Rh- lub B Rh- zawieszane w osoczu grupy AB,
3. biorca grupy A Rh+ może otrzymać krwinki płytkowe grupy 0 Rh+ lub 0 Rh- zawieszane w osoczu grupy A,
4. biorca grupy A Rh- może otrzymać krwinki płytkowe grupy 0 Rh- zawieszane w osoczu grupy A,
5. biorca grupy B Rh+ może otrzymać krwinki płytkowe grupy 0 Rh+ lub 0 Rh- zawieszane w osoczu grupy B,
6. biorca grupy B Rh- może otrzymać krwinki płytkowe grupy 0 Rh- zawieszane w osoczu grupy B,

Biorca grupy 0 Rh+ może otrzymywać wyłącznie krwinki płytkowe grupy 0 Rh+ lub 0 Rh-, przygotowywanie uniwersalnego KKP jest więc niecelowe. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku biorcy grupy 0 Rh-, który może otrzymywać wyłącznie KKP grupy 0 Rh-.

UWAGI:

A. Przygotowany wcześniej (dla innego chorego) składnik zawierający krwinki płytkowe grupy 0 Rh- i osocze grupy A,B lub AB może być przetoczony biorcy grupy 0 Rh -. Nie istnieją również serologiczne przeszkody uniemożliwiające przetoczenie biorcy grupy 0 Rh+ krwinek płytkowych grupy 0 Rh+ lub 0 Rh- zawieszonych w osoczu grupy A, B lub AB.

16.2. Sposób otrzymywania

16.2.1. Wytwarzanie rekonstruowanego KKP z separatora komórkowego lub z KKP zlewane

1. KKP z separatora komórkowego lub KKP zlewany, przygotowany wg wskazówek zawartych w p. 12.2., umieścić w pojemniku transferowym o pojemności 600 ml.
2. Połączyć dreny pojemnika z KKP i pojemnika z 0,9% roztworem NaCl. Bez ograniczania przepływu dodać roztwór NaCl w proporcji 1:1.
3. Za pomocą zgrzewarki dielektrycznej oddzielić pojemnik z KKP i wirować go w temperaturze od 20°C do 24°C np. przez 6 min z siłą 5000 x g (lub przez 13 min, z siłą 2330 x g).
4. Umieścić pojemnik w prasie do odciągania osocza. Połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym i precyzyjnie do niego cały nadsącz.
5. Do pojemnika z osadem KKP podłączyć pojemnik zawierający 100 ml rozmrożonego osocza wybranej grupy. Dodać 20-30 ml osocza i zamknąć jego dalszy dopływ zaciskiem plastikowym lub kleszczykami hemostatycznymi. Pojemniki pozostawić w spoczynku w temperaturze od 20°C do 24°C na 15-20 min.
6. Używając mieszałki horyzontalnej dokładnie ponownie zawiesić w osoczu osad krwinek płytkowych. Początkowo mieszałka powinna pracować z prędkością 80 cykli/min, po ok. 15 min należy zwiększyć prędkość do 100-120 cykli/min.
7. Dodać pozostałe osocze. Oddzielić pojemnik z rozmrożonym KKP za pomocą zgrzewarki dielektrycznej i opatrzyć go stosowną etykietą.

16.2.2. Wytwarzanie KKP rekonstruowanego z kożuszków leukocyarno-płytkowych

1. Pojemniki zawierające po 55-65 ml kożuszków leukocyarno-płytkowych, przygotowanego wg wskazówek zawartych w p. 12.2.2.1. i 12.2.2.2. pozostawić w spoczynku w temperaturze pokojowej przez od 2 do 18 godz. Do dalszej preparatyki pozostawić również 1 jednostkę osocza ubogokomórkowego (przechowywać je w temperaturze +4°C).
2. Sterylnie połączyć od 4 do 6 kożuszków leukocyarno-płytkowych w jednym pojemniku.
3. Wirować w temperaturze od 20°C do 24°C przez 6 min, z siłą 650 x g.
4. Pojemnik umieścić w prasie, połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym. Do pustego pojemnika precyzyjnie supernatant, po czym sterylnie dodać do tego pojemnika 1 jednostkę osocza wybranej grupy.

UWAGI:

- A. Po oddzieleniu supernatantu można dodać również 1 jedn. rozmrożonego FFP wybranej grupy.*
- B. Rekonstruowany KKP może być wykonany również z KKP rozmrożonego, jeśli do rekonstrukcji użyte zostanie osocze wybranej grupy.*
- C. Jeśli zachodzi konieczność przygotowania ubogoleukocyarnego rekonstruowanego KKP, najpierw należy usunąć leukocyty metodą filtracji, a po tym przystąpić do wymiany osocza.*

16.3. Wykonanie próbek pilotujących

Próbki pilotujące potrzebne są tylko do kontroli jakości niektórych składników.

16.4. Oznakowanie składnika

Składnik opisać jako: „Koncentrat krwinek płytkowych grupy w osoczu grupy ...”, podając grupy układu ABO obu składników i Rh krwinek płytkowych. Etykieta powinna zawierać wszystkie informacje, przewidziane dla odpowiedniego składnika macierzystego (patrz p. 12.4., p. 13.4. lub p. 15.4.). Należy podać również numer osocza, użytego do rekonstytucji KKP.

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o składniku, sporządzonej wg zasad przedstawionych w p. 11.4.

16.5. Przechowywanie i termin ważności

1. Rekonstruowany KKP otrzymany w systemie otwartym powinien zostać przetoczony w ciągu 6 godz. od chwili zakończenia preparatyki. W razie potrzeby przechowywać składnik w temperaturze od 20°C do 24°C, przy stałym mieszanii.
2. Rekonstruowany KKP wyprodukowany w systemie zamkniętym zachowuje ważność przez 5 dni (licząc od dnia otrzymania składnika macierzystego lub najstarszej jednostki KKP), jeśli do zawieszenia krwinek płytkowych użyto co najmniej 200 ml osocza i jeśli jest przechowywany w temperaturze od 20°C do 24°C, przy stałym mieszanii, w pojemniku / pojemnikach „oddychających” o pojemności co najmniej 1000 ml. Po wykonaniu badań bakteriologicznych i uzyskaniu piątego dnia wyników ujemnych, dopuszcza się przechowywanie UKKP do 7 dni.

16.6. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

16.7. Kontrola jakości

Szczegółowej kontroli jakości, wg zasad podanych w p. 11.7. lub 13.7. podlegają macierzyste jednostki. Rekonstruowany KKP wyprodukowany w systemie zamkniętym powinien być kontrolowany zgodnie z wymogami przedstawionymi w tabeli 18.

TABELA 18: Kontrola jakości rekonstruowanego KKP wyprodukowanego w systemie zamkniętym

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	> 40 ml / $0,6 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych	Wszystkie preparaty
2	pH w temperaturze 22°C	6,4 - 7,4	5% wszystkich preparatów przechowywanych przez 5 dni (nie mniej niż 4 jedn./miesiąc)

16.8. Wskazania do stosowania

Rekonstruowany KKP może być stosowany tylko wtedy, gdy niedostępne są świeże (przechowywane w temperaturze pokojowej) KKP odpowiedniej grupy. Wskazania do jego stosowania są więc takie same, jak dla składników macierzystych, patrz p. 11.8. i 13.8.

16.9. Środki ostrożności podczas stosowania

Takie same, jak w przypadku składników macierzystych - patrz p. 11.9. i 13.9.

16.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Alloimmunizacja antygenami HLA i HPA, (minimalne ryzyko jeżeli składnik jest ubogoleukocytarny).
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
7. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
8. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
9. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
10. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

17. PRZEMYWANY KONCENTRAT KRwineK PŁYTKOWYCH (PKKP)

17.1. Definicja i właściwości

Składnik stanowią krwinki płytkowe, pozbawione osocza i zawieszzone w 0,9% roztworze NaCl. Ponieważ składnik otrzymuje się ze zlewanego KKP lub z KKP uzyskanego metodą automatyczną, zawiera on taką samą ilość składników komórkowych jak jednostki macierzyste.

17.2. Sposób otrzymywania

Postępować analogicznie, jak przy wykonywaniu rekonstruowanego KKP - patrz p. 16.2.1. Do zawieszenia osadu krwinek płytkowych (patrz p. 16.2.1 - 5) używać 0,9% roztworu NaCl.

17.3. Oznakowanie składnika

Składnik oznaczyć jako: „Przemiany koncentrat krwinek płytkowych” lub „PKKP”. Na etykiecie należy umieścić wszystkie informacje, przewidziane w p. 12.4. lub p. 13.4. (w zależności od techniki otrzymania macierzystego KKP). Podać również godzinę, w której składnik traci ważność.

Zaleca się dołączanie do składnika wydawanego do użytku klinicznego ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej wg zasad przedstawionych w p. 11.4.

17.4. Przechowywanie i termin ważności

Składnik powinien zostać przetoczony jak najszybciej, nie później jednak niż w ciągu 2 godz. od chwili zakończenia preparatyki (roztwór NaCl nie zapewnia warunków odpowiednich do przechowywania krwinek płytkowych). Jeśli zachodzi taka konieczność, przechowywać jak KKP (patrz p. 11.5.).

17.5. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

17.6. Kontrola jakości

Dodatkowe badania są zbędne, szczegółowej kontroli jakości, na zasadach podanych w p. 11.7. lub 13.7. podlegają jedynie macierzyste jednostki.

17.7. Wskazania do stosowania

1. W celu uzupełnienia niedoborów płytek krwi u chorych z przeciwciałami skierowanymi przeciwko białkom osocza, szczególnie anty IgA, i u chorych z ciężkimi odczynami alergicznymi, występującymi po przetoczeniach KKP zawierających osocze.
2. W przypadkach alloimmunologicznej małopłytkowości noworodków do transfuzji krwinek płytkowych pobranych od matki.

17.8. Środki ostrożności podczas stosowania

Takie same, jak w przypadku składników macierzystych - patrz p. 11.9. i 13.9.

17.9. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka). Pokrzywka - rzadko.
2. Alloimmunizacja antygenami HLA i HPA (ryzyko jest mniejsze, jeżeli stosujemy ubogoleukocytarny PKKP).
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
7. Małopłytkowa plamica poprzetoczeniowa.
8. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
9. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
10. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

18. NAPROMIENIOWANY KONCENTRAT KRwinek PŁYTKOWYCH (NKKP)

18.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowi KKP poddany działaniu dawki promieniowania jonizującego (25-50 Gy). Napromienianie hamuje zdolność proliferacyjną limfocytów, zapobiegając potransfuzyjnej chorobie przeszczep przeciw biorcy, nie obniża natomiast zdolności immunogennych krwinek białych i nie zapobiega immunizacji antygenami HLA.

18.2. Sposób otrzymywania

Napromienianiu można poddać wszystkie rodzaje koncentratów krwinek płytkowych. KKP można napromieniać w każdym dniu przechowywania. W przypadku konieczności napromieniania KKP przechowywanego w stanie zamrożenia, wskazane jest poddanie składnika działaniu promieni γ lub X po rozmrożeniu i rekonstytucji.

Składnik otrzymuje się przez poddanie KKP działaniu promieni γ lub X w dawce 25 Gy. Czas napromieniania zależy od rodzaju aparatu lub aktywności źródła promieniotwórczego, należy więc dostosować go ściśle do wskazówek zamieszczonych w instrukcji producenta aparatu. Obsługując aparat należy postępować dokładnie wg instrukcji producenta.

18.3. Oznakowanie składnika

Przed napromienianiem nakleić na pojemnik z KKP specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o składniku, sporządzonej wg zasad przedstawionych w p. 11.4.

18.4. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKP (patrz p. 11.5.). Termin przydatności napromieniowanego KKP pozostaje taki sam jak dla składnika wyjściowego.

18.5. Transport

Transportować jak KKP (patrz p. 11.6.).

18.6. Kontrola jakości

Napromieniowany KKP nie wymaga dodatkowych badań kontrolnych. Szczegółowej kontroli jakości, na zasadach podanych w p. 11.7. lub 13.7. podlegają jedynie macierzyste jednostki.

18.7. Wskazania do stosowania

Stosowanie NKKP ma na celu zapobieganie potransfuzyjnej GvHD. Składnik stosuje się w leczeniu chorych z małopłytkowością i wrodzoną/nabytą niewydolnością układu immunologicznego, szczególnie do transfuzji wewnątrzmacicznych i u noworodków oraz chorych otrzymujących leki immunosupresyjne. Napromienianie konieczne jest również w przypadku przetoczeń KKP otrzymanego od dawców spokrewnionych z biorcą (pokrewieństwo I i II stopnia), nawet wówczas, gdy układ immunologiczny biorcy jest w pełni sprawny.

Napromienianie dawką 25-50 Gy nie powoduje znaczącego uszkodzenia płytek krwi.

18.8. Środki ostrożności podczas stosowania

Takie same, jak w przypadku składników macierzystych - patrz p. 11.9. i 13.9.

18.9. Powikłania

Takie same, jak w przypadku składników macierzystych - patrz p. 11.10. i 13.10.

19. KONCENTRAT GRANULOCYTARNY (KG)

19.1. Definicja i właściwości

Koncentrat granulocytarny stanowią zawieszone w osoczu granulocyty, otrzymane od jednego dawcy metodą aferezy. Składnik powinien zawierać nie mniej niż 1×10^{10} granulocytów. Zawiera również znaczną ilość zanieczyszczeń komórkowych: pozostałe krwinki białe, krwinki czerwone oraz $3-7 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych. Otrzymanie takiego składnika możliwe jest zazwyczaj po podaniu sterydowych czynników stymulujących i granulocytarnego czynnika wzrostu. Podawanie tych leków nie jest w chwili obecnej rutynowo stosowane do otrzymywania KG. Możliwe jest tylko w wyjątkowych sytuacjach po uzyskaniu zgody dawcy i komisji etycznych.

19.2. Sposób otrzymywania

Składnik otrzymuje się w zabiegu leukaferozy, przy użyciu separatorów komórkowych. W zależności od rodzaju separatora zabieg może mieć charakter ciągły lub cykliczny. Proces leukaferozy trwa ok. 2,5 godz., w tym czasie rozfrakcjonowaniu ulega ok. 7000 ml krwi dawcy. Jako antykoagulant stosowany jest zazwyczaj 4% roztwór cytrynianu sodowego. W celu przyspieszenia sedymentacji krwinek czerwonych podczas wirowania, do pobieranej krwi dodaje się roztwór hydroksyetylowanej skrobi (HES). Przykładowy skład płynu do pobierania krwi w zabiegu leukaferozy (zależy od rodzaju stosowanego separatora):

37,5 ml 46,7% roztworu wodnego cytrynianu sodowego +
500 ml 6% HES 200/09 w płynie wieloelektrolitowym.

Zabieg leukaferazy należy wykonywać ściśle wg procedury opisanej przez producenta danego separatora.

UWAGA:

Ze względu na dużą zawartość erytrocytów, składnik może być przetaczany wyłącznie po wykonaniu próby zgodności krwinek czerwonych. Badanie to powinno być wykonane z próbki krwi dawcy przed przystąpieniem do zabiegu leukaferazy.

19.3. Wykonanie próbek pilotujących

Używając zgrzewarki z odcinka drenu pozostałego przy pojemniku wyodrębnić fragment przeznaczony do wykonania kontroli serologicznej i kontroli jakości składnika.

19.4. Oznakowanie składnika

Etykieta powinna zawierać następujące informacje:

1. Nazwa centrum, na terenie którego otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika: „Konscentrat granulocytarny” lub „KG”.
3. Grupa układu ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Nr składnika (odpowiadający numerowi donacji).
5. Objętość jednostki.
6. Nazwa antykoagulantu i roztworu wzbogacającego.
7. Data pobrania.
8. Data ważności.
9. Ilość granulocytów.
10. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych.
11. Wskazówki:

- „Przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C”.
- „Przetaczać przez filtr 170-200 µm”.

Składnik należy poddać napromieniowaniu. Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik z KG specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o produkcie. Powinna ona zawierać nazwę składnika, nazwę jego wytwórcy, przedstawione powyżej wskazówki oraz informacje podane w p. 19.6., 19.8., 19.9. i 19.10. niniejszego rozdziału. Wprowadzenie takiej ulotki zwalnia z umieszczania na etykiecie wskazówek dotyczących przetaczania składnika.

19.5. Przechowywanie i termin ważności

Składnik powinien być przetoczony natychmiast po otrzymaniu. Jeśli jest to niezbędne, dopuszcza się przechowywanie KG w temperaturze od 20°C do 24°C do 24 godz. od chwili zakończenia zabiegu leukaferazy.

19.6. Transport

Transportować w pojemniku z izolacją, w temperaturze od 20°C do 24°C. Na 30 min przed użyciem pojemnik transportowy należy otworzyć i pozostawić w temperaturze pokojowej.

19.7. Kontrola jakości

Poza testami nr 1 - 10 (tabela 3) należy wykonać badania przedstawione w tabeli 19.

TABELA 19: Kontrola jakości koncentratu granulocytarnego

Nr.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	< 500	Wszystkie jednostki
2	Granulocyty x 10 ¹⁰ /jedn.	> 1	

Napromieniowany KG nie wymaga dodatkowych badań kontrolnych.

19.8. Wskazania do stosowania

Ponieważ zasadniczym zadaniem granulocytów jest fagocytoza bakterii, składnik ten może być stosowany u chorych z ciężką neutropenią i stwierdzoną posocznicą, u których nieskuteczne jest leczenie odpowiednimi antybiotykami.

19.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Ze względu na dużą zawartość erytrocytów, składnik może być przetaczany wyłącznie po wykonaniu próby zgodności krwinek czerwonych.
2. Koncentrat granulocytarny należy napromieniować przed przetoczeniem.

19.10. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Alloimmunizacja antygenami HLA, HPA i antygenami krwinek czerwonych.
3. Przeniesienie zakażenia kiłą.
4. Znaczące ryzyko przeniesienia zakażenia latentnymi wirusami (CMV, EBV itp.) pacjentów leczonych immunosupresyjnie.
5. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
6. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
7. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
8. Akumulacja hydroksyetylowanej skrobii u pacjentów poddawanych licznym przetoczeniom składnika.
9. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
10. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
11. Potransfuzyjna choroba przeszczep przeciwko biorcy (TA-GvHD) u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej.

20. OSOCZE ŚWIEŻO MROŻONE (FFP)

20.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowi osocze otrzymane albo metodą manualnej lub automatycznej plazmaferezy, albo przez odpowiednie odwirowanie krwi pełnej i zamrożone w czasie, który umożliwia utrzymanie funkcjonalnego stanu labilnych czynników krzepnięcia. Jedna jednostka FFP ma zazwyczaj objętość ok. 200 ml w zależności od stosowanej metody preparatyki krwi pełnej.

FFP zawiera wszystkie stabilne czynniki układu krzepnięcia, albuminę i globuliny oraz nie mniej niż 70% pierwotnej zawartości czynnika VIII i podobną ilość pozostałych, labilnych

czynników krzepnięcia.

FFP nie powinno zawierać istotnych klinicznie przeciwciał odpornościowych.

Jeśli FFP ma być użyte jako surowiec do fabrycznego frakcjonowania, musi spełniać wymagania przedstawione w monografii Farmakopei Europejskiej „Osocze do frakcjonowania” („Plasma for fractionation”).

20.2 Sposób otrzymywania

20.2.1. Otrzymywanie osocza podczas preparatyki krwi pełnej konserwowanej

Jedną jednostkę osocza można uzyskać w wyniku rozdziału jednej jednostki krwi pełnej metodami przedstawionymi w p. 2.2.1.1., p. 3.2., p. 4.2., p. 5.2., lub p. 11.2. Osocze może być wytwarzane z pełnej krwi, która natychmiast po pobraniu była szybko ochłodzona do temperatury od 2°C do 6°C lub od 20°C do 24°C i przechowywana w tej temperaturze do czasu preparatyki. Uzyskane osocze musi zostać całkowicie zamrożone (do temperatury poniżej -30°C. w ciągu 8 godzin od zakończenia donacji. Proces schładzania do temperatury poniżej -30°C nie powinien trwać dłużej niż 1 godzinę.

20.2.2. Otrzymywanie osocza metodą plazmaferezy manualnej

1. Krew pełną, pobraną w zabiegu manualnej plazmaferezy wirować w takich warunkach, które umożliwią otrzymanie pożądaných składników, tj. wg zasad omówionych w p. 2.2.1.1. lub 11.2.1.
2. Używając prasy, przecisnąć osocze do pustego pojemnika satelitarnego. Nie pozostawiać osocza nad warstwą komórek.

UWAGA:

Zabieg podwójnej plazmaferezy pozwala na uzyskanie 2 jednostek osocza od tego samego dawcy. Zabieg ten obecnie jest stosowany sporadycznie. Pozwala na uzyskanie osocza lub KKP do produkcji specjalistycznych składników.

3. Zamrozić do temperatury -30°C w ciągu 6 godzin od zakończenia donacji. Proces schładzania do temperatury -30°C nie powinien trwać dłużej niż jedną godzinę.
4. Uzyskany KKCz przetaczać dawcy.

20.2.3. Otrzymywanie osocza metodą automatycznej plazmaferezy

Do otrzymywania osocza ubogokomórkowego metodą automatyczną służą aparaty zwane separatorami osocza. Po pobraniu krwi pełnej i automatycznym wymieszaniu jej z odpowiednim antykoagulantem, w procesie wirowania i/lub filtracji następuje oddzielenie elementów komórkowych od osocza i reinfuzja składników komórkowych. Poszczególne fazy zabiegu: pobieranie, separacja i reinfuzja mogą następować po sobie w stałej kolejności (separatory z przepływem cyklicznym) lub zachodzić równocześnie (separatory z przepływem ciągłym). Plazmafereza automatyczna pozwala na uzyskanie zaprogramowanej objętości osocza, nie przekraczającej 600 ml (plazmafereza potrójna).

Niektóre separatory umożliwiają jednoczesne otrzymanie KKP, osocza ubogokomórkowego oraz KKCz.

Zabieg plazmaferezy automatycznej powinien być wykonywany ściśle wg instrukcji załączonej przez producenta aparatu. Szczególną uwagę należy zwrócić na zachowanie zalecanej proporcji pomiędzy pobieraną krwią a antykoagulantem. Jako antykoagulant może być używany roztwór ACD-A lub 4% roztwór cytrynianu sodowego. Zaleca się stosowanie antykoagulantów wskazanych przez producenta aparatu (najlepiej konfekcjonowanych przez wytwórcę). Nawet niewielkie odchylenia od prawidłowego składu antykoagulantu mogą prowadzić do groźnych powikłań u dawcy.

Uzyskane osocze musi zostać całkowicie zamrożone (do temperatury -30°C) w ciągu 6 godzin od zakończenia donacji. Proces schładzania do temperatury -30°C nie powinien trwać dłużej niż jedną godzinę.

Aby osocze otrzymane wg wskazówek zawartych w p. 20.2. mogło być uznane za FFP, powinno również bezwzględnie spełniać wymagania rutynowej kontroli jakości dotyczącej zawartości czynnika VIII.

UWAGA:

W wyjątkowych przypadkach dopuszczalne jest zamrożenie osocza uzyskanego metodą plazmaferezy w ciągu 24 godzin od donacji pod warunkiem, że bezpośrednio po pobraniu zostało gwałtownie schłodzone do temperatury od 20°C do 24°C w odpowiedniej aparaturze. Osocze takie powinno być użyte do fabrycznego frakcjonowania.

20.3. Wykonanie próbek pilotujących

Używając zgrzewarki, z drenu pozostałego przy pojemniku wyodrębnić fragment / fragmenty stanowiące próbki pilotujące:

- z jednostek otrzymanych metodą plazmaferezy manualnej i automatycznej - odcinek o długości ok. 3 cm; do kontroli serologicznej,
- w razie potrzeby (kontrola jakości, jednostki przeznaczone do fabrycznego frakcjonowania) - wykonać dodatkowe próbki pilotujące.

20.4. Oznakowanie składnika

20.4.1. Składnik przeznaczony do użytku klinicznego

Etykieta składnika przeznaczonego do użytku klinicznego powinna zawierać następujące dane:

1. Nazwa centrum, w którym otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika ("Osocze świeżo mrożone" lub "FFP").
3. Grupa krwi układu ABO.
4. Numer składnika (odpowiadający numerowi donacji).
5. Ilość składnika: 1 jednostka, objętość w ml lub waga w g (w przypadku porcji do użytku pediatrycznego lub do preparatyki tylko faktyczna objętość w ml).
6. Data pobrania.
7. Data ważności.
8. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich testów).
9. Zgodną ze stanem faktycznym informację:
 - „Składnik po karencji”.lub
 - „Składnik bez karencji. Możliwość przeniesienia zakażenia wirusowego taka sama jak po przetoczeniu KKCz”.
10. Wskazówki:
 - „Przechowywać w stanie zamrożenia (temperaturze poniżej -25°C)”.
 - „Rozmrażać w suchym podgrzewaczu lub łaźni wodnej o temperaturze 37°C”.
 - „Przetaczać przez filtr 170-200 µm, natychmiast po rozmrożeniu”.
 - „Składnik traci ważność po upływie 6 godzin od chwili rozmrożenia”.
 - „Nie zamrażać powtórnie.”

UWAGI:

- A. W przypadku otrzymania z jednej donacji kilku jednostek osocza, numer donacji powinien być łamany przez numer porządkowy plazmaferezy, oznaczany cyframi rzymskimi: np. 24-00-7668/I i 24-00-7668/II - gdy była to manualna plazmafereza podwójna.
- B. W przypadku podziału jednej jednostki na porcje do użytku pediatrycznego lub do preparatyki, numer donacji powinien być łamany przez symbol danej porcji. Jako symbolu

porcji należy używać cyfr arabskich; np. 24-00-7669/1 i 24-00-7669/2 - po podziale na dwie porcje.

Zaleca się dołączanie do składnika wydawanego do użytku klinicznego ulotki informacyjnej o składniku. Powinna ona zawierać informacje wyszczególnione w punktach 1, 2, 9 i 10 oraz podane w p. 20.6., 20.8., 20.9. i 20.10. niniejszego rozdziału.

20.4.2. Składnik przeznaczony do dalszego frakcjonowania

Składnik przeznaczony do otrzymywania krioprecypitatu może być opisany na fabrycznej etykiecie pojemnika. Muszą znaleźć się tu informacje, wymienione w p. 20.4.1. punkty od 2 do 6 i 8. Jeśli osocze ma być frakcjonowane fabrycznie, należy na pojemniku umieścić etykietę ostateczną, zawierającą wszystkie dane wymagane przez odbiorcę.

20.5. Przechowywanie i termin ważności

Składnik powinien być przechowywany w stanie zamrożenia. W tabeli 20 podano temperatury przechowywania, które determinują okres przydatności składnika. FFP przeznaczone do fabrycznego frakcjonowania należy przechowywać w temperaturze wskazanej przez odbiorcę.

Jeśli daną jednostkę FFP przechowuje się w zamrażarkach/mroźniach o różnych temperaturach, termin ważności składnika należy ustalić w oparciu o najwyższą z zastosowanych temperatur. W tym celu, należy dokumentować lokalizację preparatu w czasie przechowywania (z podaniem zakresu temperatur używanych urządzeń chłodniczych).

Jednostki przeznaczone do użytku klinicznego powinny być uprzednio poddane co najmniej 16-tygodniowej karencji (patrz p. 6).

Jeśli składnik nie zostanie wykorzystany natychmiast po rozmrożeniu, można go zamrozić i przekwalifikować na „Osocze odpadowe”.

TABELA 20: Termin ważności FFP a temperatura przechowywania

Nr.	Termin ważności	Temperatura przechowywania
1	3 miesiące	od -18 do -25°C
2	24 miesiące	poniżej -25°C

20.6. Transport

Transportować w stanie zamrożenia w temperaturze co najmniej -18°C, najlepiej w specjalnych samochodach-mroźniach lub w zwykłych samochodach, wyposażonych w transportową zamrażarkę zasilaną elektrycznie albo w pojemniku wypełnionym suchym lodem z izolacją.

20.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości obejmuje badania nr 1 - 10 zebrane w tabeli 3, str. 21. Ponadto należy przeprowadzić badania, przedstawione w tabeli 21.

20.8. Wskazania do stosowania

Najczęściej osocze świeżo mrożone jest używane jako surowiec do frakcjonowania (wytwarzania produktów krwiopochodnych).

FFP może być stosowane w leczeniu:

1. Zaburzeń układu krzepnięcia, szczególnie u chorych z niedoborem kilku czynników krzepnięcia i jedynie wówczas, gdy niedostępne są odpowiednie produkty osoczkowych

- czynników krzepnięcia, których technologia produkcji obejmuje inaktywację wirusów.
- Zakrzepowej plamicy małopłytkowej.

20.9. Przeciwwskazania

Nie należy stosować FFP:

- w celu uzupełnienia objętości krwi krążącej, jeśli równocześnie nie występuje niedobór czynników krzepnięcia,
- jako źródła immunoglobulin,
- gdy dostępne są odpowiednie produkty krwiopochodne, które w procesie produkcji poddawane są zabiegom inaktywacji wirusów,
- w leczeniu chorych, u których występuje nadwrażliwość na białka osocza.

20.10. Środki ostrożności podczas stosowania

- Należy przetaczać składniki zgodne w zakresie grup układu ABO z biorcą.
- Składnik musi być rozmrażany w temperaturze 37°C, przy użyciu sprzętu umożliwiającego kontrolę temperatury rozmrażania (najlepiej suchego podgrzewacza lub łaźni wodnej).
- Po rozmrożeniu należy sprawdzić szczelność pojemnika. Wyklucza się przetwarzanie składników z przeciekających lub uszkodzonych pojemników.
- Nie należy przetaczać osocza, jeśli po całkowitym rozmrożeniu w pojemniku widoczne są nierozpuszczalne zlepy.

TABELA 21: Kontrola jakości osocza świeżo mrożonego

Nr.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Przecieki	Brak przecieków pojemnika ^{o)}	Wszystkie jednostki
2	Ocena wizualna	Brak przebarwień i skrzepów	
3	Objętość (ml)	230 ± 10% ^{*)} 200 ± 10% ^{**)} 170 ± 10% ^{***)}	
4	Białko całkowite	> 50 g/l	4 jednostki / miesiąc
5	F VIIIc	Średnio (po zamrożeniu i rozmrożeniu) ≥ 70% wartości dla jednostki świeżo pobranego osocza	Co 3 miesiące 10 jednostek w pierwszym miesiącu przechowywania ^{ooo)}
6	Erytrocyty x 10 ⁹ /l ^{oo)}	< 6,0	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 4 jednostki / miesiąc)
7	Leukocyty x 10 ⁹ /l ^{oo)}	< 0,1	
8	Krwinki płytkowe x 10 ⁹ /l ^{oo)}	< 50	

*) - Osocze otrzymane przy produkcji KKCz, w którym pozostawiono kożuszek

- leukocytno-platek
- ***) - Osocze otrzymane przy produkcji KKCz pozbawionego kożuszka leukocytno-platekowego
 - ****) - Osocze otrzymane przy produkcji KKCz i KKP
 - o) - Kontrola wizualna: podczas oddzielania w prasie, przed mrożeniem, po rozmrożeniu
 - oo) - Oznaczenie wykonać przed zamrożeniem
 - ooo) - Badać te same jednostki

20.11. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
3. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
4. Może wystąpić zatrucie cytrynianem, jeśli szybko przetoczy się dużą objętość osocza.
5. Poprzetoczeniowa ostra niewydolność oddechowa (TRALI).
6. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.

21. KRIOPRECYPITAT

21.1. Definicja i właściwości

Jest to frakcja krioglobulin uzyskanych z jednej jednostki świeżo mrożonego osocza, zagęszczona do objętości ok. 25 ml – 40 ml.

Zawiera większość cz. VIII, cz. von Willebranda, fibrynogenu, cz. XIII i fibronektyny obecnych w świeżo pobranej krwi lub osoczu.

21.2. Sposób otrzymywania

21.2.1. Otrzymywanie krioprecypitatu metodą syfonową

1. Pojemnik zawierający jedną jednostkę osocza i połączony z nim pusty pojemnik odbiorczy umieścić w kasecie metalowej. Zamrażać jak FFP, przy czym otwory wylotowe pojemników powinny znajdować się na dole. Usunąć kasetę, do czasu rozpoczęcia produkcji krioprecypitatu przechowywać FFP w temperaturze -30°C lub niższej.
2. Pojemniki z FFP umieścić w uchwytach do produkcji krioprecypitatu i zanurzyć w łaźni wodnej o temperaturze 4°C .
3. Gdy ok. 10 ml osocza ulegnie rozmrożeniu, zdjąć zacisk plastikowy i umożliwić swobodny przepływ osocza do pojemnika odbiorczego, umieszczonego poniżej łaźni wodnej.

UWAGI:

- A. Przez cały czas należy utrzymywać w łaźni temperaturę 4°C . Odpowiednie warunki do produkcji krioprecypitatu metodą syfonową zapewniają specjalne łaźnie z automatyczną regulacją temperatury i mieszaniem.
- B. Sprawdzając ilość osocza w pojemniku macierzystym, wyjmować go z łaźni po uprzednim zamknięciu przepływu osocza za pomocą zacisku plastikowego.
4. Zakończyć rozmrażanie, gdy w pojemniku macierzystym pozostanie niemal bezbarwny kryształ lodu o objętości 20-30 ml. W zależności od liczby jednostek poddawanych preparatyce, czynność ta trwa 2-3 godz.
5. Pojemniki z krioprecypitatem i osoczem bez cz. VIII oddzielić od siebie za pomocą zgrzewarki dielektrycznej. Krioprecypitat (bez rozmrażania!) umieścić natychmiast w zamrażarce.

21.2.2. Produkcja krioprecypitatu metodą wirowania

1. FFP otrzymane wg wskazówek zawartych w p. 20.2.1. i 20.2.2. i umieszczone w pojemniku z tworzywa sztucznego z towarzyszącym mu pustym pojemnikiem odbiorczym rozmrażać w

- lodowce, w temperaturze od 2 do 6°C przez 18-20 godz. (tak, aby osocze uległo jedynie częściowemu rozmrożeniu).
2. Wirować w temperaturze od 2 do 6°C, przez 10 min z siłą 2000 x g.
 3. Używając prasy precyzyjnie supernatant do pustego pojemnika (prędkość przepływu regulować zaciskiem plastikowym lub kleszczykami hemostatycznymi, tak aby strumień wypływającego osocza nie porywał osadu krioglobulin). W pojemniku macierzystym powinien zostać niewielki kryształ lodu i osad krioglobulin.
 4. Za pomocą zgrzewarki dielektrycznej oddzielić od siebie pojemniki z krioprecypitatem i osoczem bez cz. VIII. Krioprecypitat natychmiast umieścić w zamrażarce.

21.3. Oznakowanie składnika

Etykieta powinna zawierać następujące dane:

1. Nazwa placówki, w której otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika: „Krioprecypitat”.
3. Grupa krwi układu ABO.
4. Numer składnika (odpowiadający numerowi donacji).
5. Ilość składnika: 1 jednostka (objętość w ml).
6. Data pobrania.
7. Data produkcji.
8. Data ważności.
9. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych.
10. Informację: „Składnik po karencji”.
11. Wskazówki:
 - „Przechowywać w stanie zamrożenia (temperaturze poniżej -18°C)”
 - „Rozmrażać w suchym podgrzewaczu lub łaźni wodnej o temperaturze 37°C”
 - „Przetaczać przez filtr 170-200 µm, natychmiast po rozmrożeniu”
 - „Składnik traci ważność po upływie 6 godzin od chwili rozmrożenia”
 - „Nie zamrażać powtórnie”

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o produkcji. Powinna ona zawierać informacje wyszczególnione w punktach 1, 2, 10 i 11 oraz podane w p. 21.5., 21.7., 21.8. i 21.9. niniejszego rozdziału.

21.4. Przechowywanie i termin ważności

Składnik przechowywać w stanie zamrożenia, w temperaturze -18°C lub niższej. Termin ważności składnika (liczony od daty pobrania krwi) zależy od temperatury przechowywania i jest taki sam, jak dla FFP; obowiązują również te same zasady przechowywania (patrz p. 20.5.).

Do użytku klinicznego mogą być przeznaczone wyłącznie jednostki uprzednio poddane co najmniej 16 tygodniowej karencji lub wyprodukowane z FFP karencjonowanego co najmniej przez 16 tygodni (patrz Część I, p. 6,). Rozmrożony składnik nie może być powtórnie zamrażany - jeśli nie zostanie przetoczony natychmiast po rozmrożeniu, należy go zniszczyć.

21.5. Transport

Transportować w stanie zamrożenia, jak FFP (patrz p. 20.6.).

21.6. Kontrola jakości

Kontrolować należy parametry nr 1-7, zebrane w tabeli 3, str. 21 oraz parametry przedstawione w tabeli 22.

TABELA 22: Kontrola jakości krioprecypitatu

Nr.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	20-30	Wszystkie jednostki
2	F VIIIc (IU/jedn.)	≥ 110 ¹⁾ ≥ 70 ²⁾	Co 2 miesiące pula z 6 jednostek ³⁾
3	Fibrynogen (mg/jedn.)	≥ 140	1% wszystkich jednostek, minimum 4 jedn./mies.
4	Czynnik von Willebranda (IU/jedn.) ⁴	>100	Co 2 miesiące pula z 6 jednostek ³⁾

¹⁾ Składniki wykonane metodą syfonową

²⁾ Składniki wykonane metodą wirowania

³⁾ Badać tę samą pulę:

a) w pierwszym miesiącu przechowywania

b) w ostatnim miesiącu przechowywania

⁴⁾ Badanie zalecane

21.7. Wskazania do stosowania

1. Niedobory czynnika VIII (hemofilia A i choroba von Willebranda), jeśli nie są dostępne odpowiednie produkty osoczowych czynników krzepnięcia, które w procesie wytwarzania poddawane są zabiegom inaktywacji wirusów.
2. Rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (DIC).
3. Niedobór i zmiany jakościowe fibrynogenu.

21.8. Środki ostrożności podczas stosowania

Patrz 20.10.

21.9. Powikłania

1. Niehemolityczne reakcje poprzetoczeniowe (głównie dreszcze, gorączka, pokrzywka).
2. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
3. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.
4. Przeniesienie zakażenia innymi czynnikami zakaźnymi, które nie są badane lub rozpoznane.
5. Możliwość wytworzenia inhibitora czynnika VIII przez chorych na hemofilię.
6. W rzadkich przypadkach obserwowano hemolizę krwinek czerwonych biorcy, spowodowaną wysokim mianem alloaglutynin u dawcy.

22. OSOCZE POZBAWIONE CZYNNIKA VIII (osocze bez cz. VIII)

22.1. Definicja i właściwości

Osocze bez czynnika VIII pozostaje po usunięciu krioprecypitatu. Zawiera albuminę, immunoglobuliny i czynniki krzepnięcia występujące w FFP - z wyjątkiem cz. V, VIII i fibrynogenu, których stężenie jest znacznie niższe niż w FFP. Składnik może być przeznaczony do użytku klinicznego lub dalszego frakcjonowania (np. do produkcji cz. IX).

22.2. Sposób otrzymywania

Składnik otrzymuje się jako produkt uboczny przy produkcji krioprecypitatu - patrz p. 21.2.

22.3. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Osocze bez cz. VIII”. Etykieta powinna zawierać dane, przedstawione w p. 21.3.

Do składnika wydawanego do użytku klinicznego zaleca się dołączanie ulotki informacyjnej o produkcie, sporządzonej na zasadach przedstawionych w p. 21.3.

22.4. Przechowywanie i termin ważności

Składnik powinien być przechowywany w stanie zamrożenia, w temperaturze -18°C lub niższej. Termin ważności składnika (liczony od daty pobrania krwi) zależy od temperatury przechowywania i jest taki sam jak dla FFP; obowiązują również te same zasady przechowywania (patrz p. 20.5.).

Do użytku klinicznego powinny być przeznaczone jednostki poddane uprzednio co najmniej 16-tygodniowej karencji lub otrzymane z FFP karencjonowanego uprzednio co najmniej przez 16 tygodni (patrz Część I, p. 6).

Jeśli składnik nie zostanie wykorzystany natychmiast po rozmrożeniu, można go zamrozić i przekwalifikować na „Osocze odpadowe”.

22.5. Transport

Transportować w stanie zamrożenia, w takich samych warunkach jak FFP - patrz p. 20.6.

22.6. Kontrola jakości

Oprócz kontroli parametrów nr 1 - 10, przedstawionych w tabeli 3, str. 21 obowiązuje sprawdzanie objętości i wyglądu jednostek, wg danych zamieszczonych w tabeli 23.

TABELA 23: Kontrola jakości osocza pozbawionego czynnika VIII

Nr.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Ocena wizualna	Brak przebarwień i skrzepów	Wszystkie jednostki
2	Objętość (ml)	Zgodna z ustaloną dla metody otrzymywania osocza $\pm 10\%$	
3	Erytrocyty ($\times 10^9/\text{l}$)*	$< 6,0$	1% jednostek (nie mniej niż 4 jedn./mies.)
4	Leukocyty ($\times 10^9/\text{l}$)*	$< 0,1$	
5	krwinki płytkowe ($\times 10^9/\text{l}$)*	< 50	

* badanie wykonywać przed zamrożeniem

22.7. Wskazania do stosowania

1. Jedynie w leczeniu zakrzepowej plamicy małopłytkowej (TTP).

22.8. Przeciwwskazania

1. Składnik nie powinien być przetaczany chorym uczulonym na białka osocza.

2. Osocze pozbawione czynnika VIII nie jest zalecane do rutynowego stosowania klinicznego, ze względu na możliwość przeniesienia zakażenia bakteryjnego i na dostępność bezpieczniejszych składników i produktów.

22.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Składnik należy przetaczać z zachowaniem zgodności grup układu ABO.
2. Osocze pozbawione czynnika VIII musi być rozmrażane w temperaturze 37°C, przy użyciu sprzętu umożliwiającego kontrolę temperatury rozmrażania (najlepiej suchego podgrzewacza lub łaźni wodnej).
3. Po całkowitym rozmrożeniu składnik nie powinien zawierać widocznych zlepow.
4. Po rozmrożeniu należy sprawdzić szczelność pojemnika. Wyklucza się przetaczanie składnika z przeciekających lub uszkodzonych pojemników.
5. Osocze należy przetoczyć natychmiast po rozmrożeniu. Nie można go zamrażać powtórnie.

22.10. Powikłania

Patrz 20.11.

23. OSOCZE MROŻONE

23.1. Definicja i właściwości

Składnik ten stanowi osocze, które osiągnęło stan całkowitego zamrożenia w terminie późniejszym niż 8 godz. od chwili pobrania krwi pełnej, nie przekraczającym jednak 14 dni od daty donacji oraz osocze uzyskane metodą plazmaferezy, zamrożone później niż w ciągu 6 godz. od zakończenia donacji.

Charakteryzuje się niską zawartością labilnych czynników krzepnięcia (w szczególności poziomem czynnika VIIIc < 0,8 UI / ml).

23.2. Sposób otrzymywania

Osocze mrożone jest to osocze uzyskanego w wyniku frakcjonowania krwi pełnej metodą sedymentacji (p. 2.2.2.) oraz osocze otrzymane technikami przedstawionymi w p. 2.2.1.1., p. 3.2., p. 4.2., p. 5.2. oraz p. 11.2., jeśli nie uległo ono całkowitemu zamrożeniu w ciągu 8 godz. od chwili zakończenia donacji, a także osocze pobrane metodą plazmaferezy (p. 20.2.2. i 20.2.3.), które schłodzono do temperatury -30°C w ciągu 6 godzin po zakończeniu donacji.

Jeśli wyniki rutynowej kontroli jakości wskazują, iż zawartość czynnika VIIIc w FFP jest niższa niż 0,7 UI/ml, cała seria otrzymanego FFP powinna zostać przekwalifikowana na „Osocze mrożone”, a otrzymywany składnik nie może być traktowany jako FFP, dopóki nie będzie spełniać wymagań normy odnośnie zawartości czynnika VIII.

23.3. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako „Osocze mrożone”. Etykieta powinna zawierać dane, przedstawione w p. 20. 4. Należy podać również datę produkcji, jeśli jest ona różna od daty pobrania.

23.4. Przechowywanie i termin ważności

Składnik powinien być przechowywany w stanie zamrożenia, w temperaturze -18°C lub niższej. Termin ważności składnika (liczony od daty pobrania krwi) zależy od temperatury przechowywania i jest taki sam jak dla FFP, obowiązują również takie same zasady przechowywania (patrz p. 20.5.).

23.5. Transport

Transportować w stanie zamrożenia, w takich samych warunkach jak FFP - patrz p. 20.6.

23.6. Kontrola jakości

Oprócz parametrów nr 1 - 10 z tabeli 3, str. 21 kontrolować należy objętość i wygląd składnika (wg zasad przedstawionych w tabeli 24).

23.7. Wskazania do stosowania

1. Jedynie w leczeniu zakrzepowej plamicy małopłytkowej (TTP).

23.8. Przeciwwskazania

1. Składnik nie powinien być przetaczany chorym uczulonym na białka osocza.
2. Osocze mrożone nie jest zalecane do rutynowego stosowania klinicznego, ze względu na możliwość przeniesienia zakażenia bakteryjnego i na dostępność bezpieczniejszych produktów.

TABELA 24: Kontrola jakości osocza mrożonego

Nr.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Ocena wizualna	Brak przebarwień i skrzepów	Wszystkie jednostki
2	Objętość (ml)	150-250	

23.9. Środki ostrożności podczas stosowania

Patrz 20.10.

23.10. Powikłania

Patrz 20.11.

24. OSOCZE ODPADOWE

24.1. Definicja i własności

Składnik ten stanowi sterylne osocze, oddzielone od krwinek czerwonych po upływie 14 dni od pobrania krwi pełnej lub z innych powodów nienadające się do wykorzystania jako osocze mrożone.

24.2. Sposób otrzymywania

Składnik uzyskuje się po zamrożeniu osocza otrzymanego przez frakcjonowanie krwi pełnej, z której nie uzyskano FFP lub osocza mrożonego. Rozdziału krwi można dokonać metodą wirowania lub sedymentacji (p. 2.2.1. i 2.2.2.).

Jako osocze odpadowe należy traktować również wszystkie jednostki FFP odrzucone z powodu zmiany zabarwienia lub obecności włóknika. Do frakcjonowania nie nadaje się osocze hiperlipemiczne.

24.3. Oznakowanie składnika

Składnik oznaczyć jako: „Osocze odpadowe”. Etykieta powinna zawierać numer składnika, informacje o ujemnych wynikach badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych oraz wszystkie dane wymagane przez odbiorcę.

24.4. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać w temperaturze -18°C lub niższej. Termin ważności - wg ustaleń odbiorcy.

24.5. Transport

Transportować w stanie zamrożenia, jak FFP (patrz p. 20.6.)

24.6. Kontrola jakości

Poza testami nr 1 - 7, zebranych w tabeli 3, str. 21 składnik nie podlega kontroli jakości.

24.7. Wskazania do stosowania

Składnik nie może być stosowany do celów klinicznych. Może być przeznaczony jedynie do frakcjonowania, w celu uzyskania albuminy lub immunoglobulin.

III. SKŁADNIKI KRWI DO TRANSFUZJI DOPŁODOWYCH, U NOWORODKÓW I MAŁYCH DZIECI

Do transfuzji dopłodowych (wewnątrzmacicznych) i dla noworodków krew i jej składniki przygotowuje się w specjalny sposób, biorąc pod uwagę następujące cechy biorców: małą objętość krwi, niską wydolność metaboliczną, wyższy niż u dorosłych hematokryt oraz niedojrzały układ immunologiczny. Bardzo ważne jest również wyeliminowanie niebezpieczeństwa potransfuzyjnej GvHD i zakażenia wirusem cytomegalii. Czynniki te są szczególnie istotne w przypadku transfuzji dopłodowych i przeznaczonych dla wcześniaków o małej wadze urodzeniowej. Wraz z wiekiem i rozwojem dziecka niebezpieczeństwa te znacznie maleją.

A. SKŁADNIKI KRWI DO TRANSFUZJI DOPŁODOWYCH

1. KONCENTRAT KRWINEK CZERWONYCH DO TRANSFUZJI DOPŁODOWEJ

1.1. Definicja i właściwości

Składnik stanowią krwinki czerwone, oddzielone z krwi dawcy grupy O RhD-ujemnej, chyba że we krwi matki stwierdzono obecność przeciwciał, wskazujących na konieczność użycia krwi innej grupy. Krwinki czerwone nie mogą mieć antygenów, do których stwierdzono przeciwciała.

KKCz do transfuzji wewnątrzmacicznej powinien mieć hematokryt od 0,70 do 0,85. Powinien być pozbawiony leukocytów metodą filtracji (zapobieganie potransfuzyjnemu zakażeniu CMV) oraz poddany działaniu promieni γ lub X, aby zapobiec potransfuzyjnej GvHD.

1.2. Sposób otrzymywania

Do przygotowania składnika należy użyć KKCz o fenotypie erytrocytów wskazanym przez dział immunologii transfuzjologicznej, przechowywanego uprzednio nie dłużej niż przez 5 dni.

1. Z wybranego KKCz usunąć leukocyty metodą filtracji, dokonując przy tym połączeń za pomocą zgrzewarki do sterylnej łącznicy drenów (patrz p. 8.2.). W miarę możliwości stosować KKCz, z którego usunięto leukocyty przed przechowywaniem.
2. Przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łącznicy drenów połączyć pojemnik zawierający

UKKCz z pustym pojemnikiem transferowym, oznakowanym numerem donacji, jaki będzie obowiązywał dla składnika przygotowywanego do transfuzji dopłodowej. Do pustego pojemnika przelać taką ilość UKKCz, która odpowiada 110 - 115% zamawianej objętości składnika.

3. Pojemnik ze składnikiem przeznaczonym do transfuzji dopłodowej wirować w temperaturze od 2 do 6°C przez 6 min z siłą 5000 x g lub w warunkach podanych w p. 2.2.1.1.
4. Pojemnik z odwirowanym UKKCz umieścić w prasie do odciągania osocza. Połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym. Do pustego pojemnika przecisnąć nadsącz.
5. Osad erytrocytów uzupełnić 0,9% roztworem NaCl lub 5% roztworem albuminy do żądanej objętości.
6. Składnik napromieniować (patrz p. 10.2.).

UWAGA:

Pozostały UKKCz może być wykorzystany do transfuzji dla innego biorcy. Jego termin ważności pozostaje taki sam jak dla macierzystej jednostki KKCz.

1.3. Wykonanie próbek pilotujących

Po zakończeniu preparatyki wydzielić z drenu próbkę do kontroli jakości składnika oraz próbkę pilotującą do wykonania próby zgodności z surowicą matki..

1.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych do transfuzji dopłodowej”. Etykieta powinna zawierać następujące informacje:

1. Nazwa centrum, na terenie którego otrzymano składnik.
2. Nazwa składnika: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych do transfuzji dopłodowej”.
3. Grupa układu ABO i Rh (słownie, tj.: „Rh dodatni” lub „Rh ujemny”).
4. Inne oznaczone antygeny krwinek czerwonych.
5. Nr składnika (odpowiadający numerowi donacji).
6. Objętość lub waga jednostki.
7. Wartość hematokrytu.
8. Rodzaj płynu konserwującego.
9. Data pobrania.
10. Data ważności (data i godzina).
11. Informacje, dotyczące wyników badań w kierunku nosicielstwa kiły i chorób wirusowych (powinny znaleźć się na etykiecie dopiero po wykonaniu odpowiednich testów).
12. Wskazówki:
 - „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”
 - „Przechowywać w temperaturze 4°C”
 - „Nie przetaczać w przypadku stwierdzenia hemolizy, innych zmian składnika lub uszkodzenia pojemnika”
 - „Przetaczać przez filtr 170-200 µm”

Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

1.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKCz (patrz p. 2.5.).

Termin ważności: 8 godz. od chwili zakończenia preparatyki i napromieniowania, nie

dłużej niż 120 godzin od pobrania.

UWAGA:

Jeśli wszystkie połączenia zostaną wykonane przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączenia drenów, składnik nadaje się do użycia w ciągu 24 godz. od zakończenia preparatyki i napromieniowania.

1.6. Transport

Transportować jak krew pełną (p. 1.6.).

1.7. Kontrola jakości

Oprócz badań od nr 1 do nr 10, zebranych w tabeli 3, str. 21, kontrola jakości obejmuje badania przedstawione w tabeli 25.

TABELA 25: Kontrola jakości koncentratu krwinek czerwonych do transfuzji dopłodowej

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Hematokryt	0,70 - 0,85	4 jednostki / miesiąc (jeśli wykonano mniej - wszystkie)

1.8. Wskazania do stosowania

1. Znacznego stopnia niedokrwistość płodu.

1.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Kontrolować szybkość transfuzji, aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi.

1.10. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Przeniesienie zakażenia kiłą - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
4. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
5. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
6. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.

2. KONCENTRAT KRWINEK PŁYTKOWYCH DO TRANSFUZJI DOPŁODOWEJ

2.1. Definicja i właściwości

Składnik stanowi $0,45 - 0,85 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych, wyizolowanych albo z krwi pełnej, albo metodą automatycznej trombaferozy, które zagęszczono do objętości 20-30 ml. Może być przygotowany z krwi dawcy zgodnego w układzie HPA z płodem lub z krwi matki (w tym przypadku jest całkowicie pozbawiony jej osocza zawierającego przeciwciała skierowane przeciwko krwinkom płytkowym płodu).

KKP do transfuzji wewnątrzmacicznej jest pozbawiony leukocytów metodą filtracji (zapobieganie potransfuzyjnego zakażeniu CMV) oraz poddany działaniu promieni γ lub X, aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia potransfuzyjnej GvHD.

2.2. Sposób otrzymywania

2.2.1. Przygotowanie KKP do transfuzji dopłodowej z osocza bogatopłytkowego dawcy

W celu uzyskania osocza bogatopłytkowego należy od wytypowanego dawcy zgodnego w układzie HPA pobrać 1 jednostkę krwi pełnej lub wykonać zabieg pojedynczej albo podwójnej plazmaferezy manualnej.

1. Wyizolować osocze bogatopłytkowe, postępując tak, jak opisano w punktach 1-3, p. 11.2.1.
2. Z osocza bogatopłytkowego usunąć leukocyty metodą filtracji, postępując ściśle wg zaleceń producenta filtra (patrz p.14.2.2.). Jeśli składnik ma być przechowywany przez 1-5 dni, wszystkich połączeń dokonać przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów.
3. Za pomocą zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów podłączyć do pojemnika z osoczem bogatopłytkowym pusty pojemnik transferowy. Dren łączący oba pojemniki zamknąć zaciskiem plastikowym.
4. Połączone pojemniki wirować w warunkach podanych w punkcie 4, p. 11.2.1.
5. Pojemnik z odwirowanym KKP umieścić w prasie i precyzyjnie przecisnąć otrzymane osocze ubogokomórkowe do pustego pojemnika. Nad osadem krwinek płytkowych pozostawić ok. 50 ml osocza.

UWAGI:

- A. Rodzaj tworzywa pojemnika, w którym umieszczono KKP musi być dostosowany do planowanego czasu przechowywania.
- B. Jeśli KKP ma być wydany w dniu pobrania, nad osadem płytek krwi pozostawić 15-20 ml osocza.
6. W celu ponownego zawieszenia osadu płytek postępować tak, jak opisano w punktach 6-8, p.11.2.1.
7. KKP przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C stale mieszając.
8. Przed wydaniem składnika odwirować KKP w warunkach podanych w punkcie 4., p. 11.2.1. i usunąć nadmiar osocza do pustego pojemnika transferowego (nad osadem płytek krwi pozostawić 15-20 ml osocza).
9. Postępując wg wskazówek zamieszczonych w punktach 7-8, p. 11.2.1. zawiesić osad krwinek płytkowych.
10. Po uzyskaniu jednolitej zawiesiny płytek napromieniować składnik (patrz p. 18.2.).

UWAGA:

Jeśli KKP ma być wydany w dniu pobrania, czynności opisane powyżej w punktach 7-9 są zbędne.

2.2.2. Przygotowanie KKP do transfuzji dopłodowej ze składnika otrzymanego od dawcy metodą automatyczną

1. Z otrzymanego składnika usunąć leukocyty metodą filtracji (patrz p. 14.2.2.). Wszystkie połączenia wykonać przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów. Jeśli w wyniku trombaferezy uzyskano UKKP, filtracja jest zbędna.
2. Pobrać próbkę do badań kontroli jakości i oznaczyć zawartość płytek krwi.
3. Dokonać podziału składnika na porcje, zawierające ok. $0,6 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych, stosując zgrzewarkę do sterylnego łączenia drenów. Jeśli niektóre z tych porcji będą przechowywane w stanie zamrożenia, powinny zawierać tyle płytek krwi, aby po rozmrożeniu uzyskać $0,5-0,7 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych / porcję.
4. Wydzielone porcje przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C, stale mieszając (jeśli mają być przechowywane przez 4-5 dni, powinny zostać umieszczone w pojemnikach „oddychających” oddzielonych z zestawu do pobierania krwi) lub zamrozić, postępując w oparciu o wskazówki zamieszczone w p. 15.2.1.2.
5. Przed wydaniem składnika odwirować KKP w warunkach podanych w punkcie 4., p.11.2.1.

6. Dalsze postępowanie - jak opisano powyżej (punkty 4-7, p. 2.2.1.).

2.2.3. Przygotowanie KKP do transfuzji dopłodowej z osocza bogatopłytkowego matki

W celu uzyskania osocza bogatopłytkowego należy u matki wykonać zabieg pojedynczej lub podwójnej plazmaferezy manualnej.

UWAGA:

Matka powinna być traktowana tak jak dawca krwi do transfuzji autologicznej.

1. Wyizolować osocze bogatopłytkowe, postępując tak, jak opisano w punktach 1-3, p. 11.2.1.
2. Z osocza bogatopłytkowego usunąć leukocyty metodą filtracji, postępując ściśle wg zaleceń producenta filtra (patrz p. 14.2.2.). Jeśli składnik ma być przechowywany przez 1-5 dni, wszystkich połączeń dokonać przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów.
3. Za pomocą zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów podłączyć do pojemnika z osoczem bogatopłytkowym pusty pojemnik transferowy. Dren łączący oba pojemniki zamknąć zaciskiem plastikowym.
4. Połączone pojemniki wirować w warunkach podanych w punkcie 4., p. 11.2.1.
5. Pojemnik z odwirowanym KKP umieścić w prasie i precyzyjnie otrzymane osocze ubogokomórkowe do pustego pojemnika. Nad osadem krwinek płytkowych pozostawić ok. 50 ml osocza.

UWAGA:

Rodzaj tworzywa pojemnika, w którym umieszczono KKP musi być dostosowany do planowanego czasu przechowywania.

6. Ponownie zawiesić osad krwinek płytkowych w osoczu.
7. KKP przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C stale mieszając.
8. W celu całkowitego usunięcia osocza matki, przed wydaniem składnika postępować zgodnie z p. 16.2.1 punkty 2-4, (dodawać ok. 50 ml 0,9% roztworu NaCl do przemywania). Odwirować i całkowicie usunąć osocze do pustego pojemnika transferowego. Do osadu płytek krwi dodać 15-20 ml 5% roztworu albuminy lub rozmrożonego i karencjonowanego FFP grupy AB.
9. Postępując wg wskazówek zamieszczonych w punktach 7-8, p. 11.2.1. ponownie zawiesić osad krwinek płytkowych.
10. Po uzyskaniu jednolitej zawiesiny krwinek płytkowych napromieniować składnik (patrz p. 18.2.).

2.3. Wykonanie próbek pilotujących

W przypadku jednostek pobranych metodą automatycznej lub manualnej plazmaferezy obowiązuje wykonanie próbek pilotujących do kontroli serologicznej z macierzystej jednostki.

Po zakończeniu preparatyki należy ponadto wyodrębnić próbkę do badań kontroli jakości każdej jednostki.

2.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek płytkowych do transfuzji dopłodowej” lub „UKKP do transfuzji dopłodowej”. Etykieta powinna zawierać również dane przedstawione w p. 11.4. lub odpowiednio 13.4., uzupełnione informacją o ilości krwinek płytkowych i roztworze użytym do sporządzenia zawiesiny krwinek płytkowych (jeśli było to FFP, należy podać jego numer). Podając termin ważności należy określić datę i godzinę. Zamieścić wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

2.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKP (patrz p. 11.5.).

Termin ważności:

1. Składniki powinny być przygotowane po pobraniu tak szybko jak to możliwe i użyte w ciągu 6 godzin.

2.6. Transport

Transportować jak KKP (p. 11.6.).

2.7. Kontrola jakości

Oprócz testów od nr 1 do 10, zebranych w tabeli 3, str. 21, kontrola jakości obejmuje badania przedstawione w tabeli 26.

TABELA 26: Kontrola jakości koncentratu krwinek płytkowych do transfuzji dopłodowej

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	< 30	Każda jednostka
2	Liczba krwinek płytkowych	2-3 x 10 ¹² / l	

2.8. Wskazania do stosowania

1. Znacznego stopnia małopłytkowość, która może być spowodowana alloimmunizacją płodu.

2.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi, kontrolować szybkość transfuzji.
2. Kontrolować możliwość krwawienia z miejsca wkłucia.

2.10. Powikłania

1. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
2. Możliwość przeniesienia zakażenia kiłą.
3. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.

B. SKŁADNIKI KRWI DO TRANSFUZJI U NOWORODKÓW

Transfuzja wymienna jest specjalnym rodzajem masywnej transfuzji. Aby uniknąć zaburzeń metabolicznych i hemostatycznych należy stosować świeże składniki krwi.

Składniki do transfuzji wymiennej u noworodków należy tak przygotować, aby zabezpieczyć biorcę przed zakażeniem CMV i wystąpieniem TA-GvHD.

3. KREW PEŁNA KONSERWOWANA DO TRANSFUZJI WYMIENNEJ

3.1. Definicja i właściwości

Do transfuzji wymiennej u noworodków należy stosować krew pełną konserwowaną płynem CPD (scharakteryzowaną w p. 1.1.), przechowywaną uprzednio nie dłużej niż przez 5 dni. Wybór krwi do transfuzji wymiennej determinują przeciwciała wytworzone przez matkę. W każdym przypadku należy więc przygotować preparat z krwi o fenotypie wskazanym przez

dział immunologii transfuzjologicznej (patrz rozdział „Dział immunologii transfuzjologicznej”, p. 15.3.). Hematokryt preparatu powinien wynosić 0,40-0,50. Jeżeli biorca ma bardzo niską liczbę płytek, należy podać również koncentrat krwinek płytkowych.

3.2. Sposób otrzymywania

Wybraną jednostkę KPK należy pozbawić leukocytów metodą filtracji (patrz p. 8.2.) oraz poddać ją napromieniowaniu (patrz p. 10.2.). Kolejność wykonania tych czynności jest dowolna.

3.3. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarna krew pełna konserwowana” lub „UKPK”. Etykieta powinna zawierać również informacje przedstawione w p. 2.4. Podając termin ważności należy określić datę i godzinę. Zamieścić wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

3.4. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKCz (patrz p. 2.5.).

Termin ważności: 24 godz. od chwili napromieniowania, nie dłużej niż 120 godzin od pobrania.

3.5. Transport

Transportować jak krew pełną (patrz p. 1.6.).

3.6. Kontrola jakości

Składnik nie wymaga dodatkowych badań kontroli jakości.

3.7. Wskazania do stosowania

1. Transfuzja wymienna u noworodków.
2. Masywne transfuzje u noworodków i niemowląt.

3.8. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi, kontrolować szybkość transfuzji.

3.9. Powikłania

1. Patrz rozdz. II p. 2.10: 1, 2, 5, 7, 8.
2. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.

4. KREW PEŁNA REKONSTYTUOWANA (KPR) do transfuzji wymiennej

4.1. Definicja i właściwości

KPR uzyskuje się przez zawieszenie krwinek czerwonych zazwyczaj grupy 0 w osoczu grupy AB lub identycznym z grupą krwi biorcy i stosowany jest przede wszystkim do transfuzji wymiennych u noworodków. W chorobie hemolitycznej noworodków występującej w następstwie konfliktu w układzie ABO, przygotowuje się KPR z krwinek czerwonych grupy 0 zgodnych w układzie Rh z krwią dziecka. Jeśli przyczyną immunizacji były inne antygeny krwinek czerwonych - wybór krwinek determinują przeciwciała wytworzone przez matkę. W każdym przypadku należy więc przygotować KPR z krwinek czerwonych o fenotypie

wskazanym przez dział immunologii transfuzjologicznej (patrz rozdział „Dział immunologii transfuzjologicznej”, p. 15.3.).

4.2. Sposób otrzymywania

Do transfuzji wymiennej należy sporządzić preparat z KKCz lub z KKCz z roztworem wzbogacającym, przechowywanego nie dłużej niż 5 dni oraz z rozmrożonego FFP poddanego uprzednio karencji.

1. Z wybranego KKCz usunąć leukocyty metodą filtracji (patrz p. 8.2.). Pojemnik odbiorczy zestawu do filtracji oznakować tym samym numerem donacji, jaki obowiązywał dla KKCz.
2. Rozmrozić FFP grupy AB lub jednoimiennej z grupą krwi biorcy.
3. Pojemnik zawierający UKKCz wirować w temperaturze od 2 do 6°C przez 6 min z siłą 5000 x g lub w warunkach podanych w p. 2.2.1.1.
4. Pojemnik z odwirowanym UKKCz umieścić w prasie do odciągania osocza. Używając zestawu do preparatyki typu A lub B połączyć go z pustym pojemnikiem transferowym. Do pustego pojemnika precyzyjnie nadsącz.
5. Połączyć pojemniki zawierające UKKCz oraz rozmrożone osocze:
 - a) za pomocą łącznika z tworzywa sztucznego lub zestawu do preparatyki typu B połączyć dreny obu pojemników,
lub
 - b) plastikową końcówkę zestawu do preparatyki typu A połączyć z drenem pojemnika z KKCz, zaś plastikową igłę umieścić w otworze wylotowym pojemnika z osoczem.
6. Przełąć osocze do pojemnika z UKKCz. Przy pomocy zgrzewarki zamknąć dren.
7. Składnik poddać napromienianiu (patrz p. 10.2.).

UWAGI:

- A. W tym wypadku napromienianie powinno być ostatnią czynnością wchodzącą w zakres wykonywanej preparatyki.
- B. Wszystkie połączenia można wykonywać w systemie zamkniętym, używając zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów; wydłuży to okres przydatności składnika.

4.3. Próbkę pilotującą

Po zakończeniu preparatyki należy z każdej jednostki KPR przygotowywać próbkę pilotującą do kontroli jakości oraz próbkę pilotującą do wykonania próby zgodności.

4.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Koncentrat krwinek czerwonych grupy zawieszony w osoczu grupy..” Na etykiecie podać numery i grupy obu składników preparatu: Krwinki grupy Rh (słownie, tj.: „dodatni” lub „ujemny”) nr...., w osoczu grupy AB (ew. A lub B nr....).

Etykieta powinna zawierać również informacje przedstawione w p. 2.4. Podając termin ważności należy określić datę i godzinę. Zamieścić wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Przed napromienianiem nakleić na pojemnik specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

4.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKCz (patrz p. 2.5.).

Termin ważności:

1. Składniki przygotowane w systemie otwartym: 8 godz.
2. Składniki przygotowane w systemie zamkniętym: 24 godz. od chwili preparatyki i napromieniania.

4.6. Transport

Transportować jak krew pełną (p. 1.6.).

4.7. Kontrola jakości

Kontrola jakości KPR obejmuje badania, przedstawione w tabeli 27.

4.8. Wskazania do stosowania

1. Transfuzja wymienna u noworodków.
2. Masywne transfuzje u noworodków i niemowląt.

4.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. W celu uniknięcia gwałtownych zmian objętości krwi, kontrolować szybkość transfuzji.

TABELA 27: Kontrola jakości krwi pełnej rekonstruowanej

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Grupa ABO krwinek czerwonych	O ^{*)}	Każda jednostka
2	Rh krwinek czerwonych	dodatni, ujemny ^{*)}	
3	Grupa ABO osocza	AB, A, B.	
4	Test kiłowy	ujemny	
5	HBsAg	ujemny	
6	DNA HBV	ujemny	
7	anty-HCV	ujemny	
8	RNA HCV	ujemny	
8	anty-HIV1/2	ujemny	
9	RNA HIV	ujemny	
10	AlAT	< 2 x górna wartość normy	
11	Hematokryt	0,40 - 0,50	4 jednostki / miesiąc (jeśli wykonano mniej - wszystkie)

^{*)} lub zgodne ze wskazaniami działu immunologii transfuzjologicznej.

UWAGA:

Badania od nr 4 do nr 11 powinny dotyczyć obu składników, użytych do preparatyki KPR.

4.10. Powikłania

1. Przeciążenie krążenia.
2. Hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe.
3. Alloimmunizacja antygenami HLA.
4. Przeniesienie zakażenia kiłką - może nastąpić, jeśli zakażony składnik przed przetoczeniem był przechowywany w temperaturze 4°C krócej, niż przez 96 godz.
5. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.
6. Przeniesienie zakażenia pierwotniakami (np. malarią) - może wystąpić w rzadkich przypadkach.
7. Posocznica spowodowana mimowolnym zakażeniem bakteryjnym składnika.

5. KONCENTRAT KRWINEK CZERWONYCH DO UŻYTKU NEONATOLOGICZNEGO (TRANSFUZJE UZUPEŁNIAJĄCE)

5.1. Definicja i właściwości

Składnik stanowią krwinki czerwone o jednoimiennej grupie układu ABO i Rh z krwią dziecka chyba, że we krwi matki stwierdzono obecność przeciwciał, wskazujących na konieczność użycia krwi innej grupy.

KKCz do przetoczeń dla noworodków jest pozbawiony leukocytów metodą filtracji (zapobieganie potransfuzyjnemu zakażeniu CMV) oraz poddany działaniu promieni γ lub X, aby zapobiec potransfuzyjnej GvHD. W celu zmniejszenia narażenia biorcy na ryzyko przeniesienia zakażenia, wskazane jest podzielenie, po usunięciu leukocytów, jednostki krwinek czerwonych od jednego dawcy, na 3 do 8 porcji w systemie zamkniętym. Tak przygotowane porcje mogą być następnie stosowane do transfuzji uzupełniających dla tego samego pacjenta.

5.2. Sposób otrzymywania

Do przygotowania składnika należy użyć KKCz o fenotypie erytrocytów wskazanym przez dział immunologii transfuzjologicznej, przechowywanego przed usunięciem leukocytów nie dłużej niż przez 5 dni (może to być KKCz z dowolnym płynem konserwującym: CPD, CPDA-1, ADSOL, SAGM).

1. Z wybranego KKCz usunąć leukocyty metodą filtracji, dokonując przy tym połączeń za pomocą zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów (patrz p. 8.2.).
2. Przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów połączyć pojemnik zawierający UKKCz z pustym pojemnikiem transferowym, oznakowanym takim numerem donacji, jaki będzie obowiązywał dla składnika przygotowywanego do użytku neonatologicznego. Do pustych pojemników przelać taką ilość UKKCz, która odpowiada objętościom zamawianych jednostek.
3. Bezpośrednio przed wydaniem zalecane jest napromieniowanie składnika (patrz p. 10.2.).

UWAGI:

A. Patrz również wskazówki w części I, p. 1.4., str. 4.

B. Pozostały UKKCz może być wykorzystany do transfuzji dla innego biorcy. Jego termin ważności pozostaje taki sam jak dla macierzystej jednostki KKCz.

5.3. Wykonanie próbek pilotujących

Wyodrębnić z drenu 2 odcinki, stanowiące próbki pilotujące do wykonania próby zgodności i innych badań serologicznych.

Jeśli porcja do użytku neonatologicznego została wydzielona po uprzednim wykonaniu próby zgodności - próbki pilotujące są zbędne.

5.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych” lub „UKKCz?”. Etykieta powinna zawierać również informacje przedstawione w p. 2.4., str., przy czym należy podać faktyczną objętość składnika w ml. Podając termin ważności należy określić datę i godzinę. Zamieścić wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

5.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKCz (patrz p. 2.5.).

Termin ważności: do 35 dni.

W przypadku stosowania CPD jako płynu konserwującego: do 21 dni.

W przypadku składnika napromieniowanego: 48 godz. po napromieniowaniu.

5.6. Transport

Transportować jak krew pełną (p. 1.6.).

5.7. Kontrola jakości

Składnik nie podlega odrębnej kontroli jakości.

5.8. Wskazania do stosowania

1. Niedokrwistość u wcześniaków.
2. Uzupelnienie niedoborów erytrocytów, powstałych wskutek pobierania próbek krwi do badań.
3. Uzupelnienie niedoborów erytrocytów, powstałych podczas zabiegów chirurgicznych.

5.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Kontrolować szybkość transfuzji, aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi. Zalecana szybkość podawania 5 ml/kg/godz.

5.10. Powikłania

1. Patrz rozdz. II p. 2.10: 1, 2, 5, 7, 8, 12.
2. Alloimmunizacja antygenami krwinek czerwonych.
3. Przeniesienie zakażenia wirusowego (np. HCV, HIV itp.) - jest możliwe, pomimo starannej selekcji dawców i wykonywania badań przesiewowych.

6. KONCENTRAT KRWINEK PŁYTKOWYCH DO TRANSFUZJI U NOWORODKÓW

6.1. Definicja i właściwości

Składnik zawiera $0,5 - 0,7 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych, otrzymanych albo z krwi pełnej, albo metodą automatycznej trombaferezy. Dla noworodków z małopłytkowością powstałą na skutek alloimmunizacji antygenami HPA, składnik przygotowywany jest z krwi dawcy zgodnego u układzie HPA z noworodkiem lub z krwi matki (wówczas musi być całkowicie pozbawiony osocza matki, w którym obecne są przeciwciała skierowane przeciwko krwinkom płytkowym noworodka).

KKP do użytku neonatologicznego jest pozbawiony leukocytów metodą filtracji (zapobieganie potransfuzyjnemu zakażeniu CMV) oraz poddany działaniu promieni γ lub X,

aby zapobiec potransfuzyjnej GvHD.

UWAGA:

W przypadku dzieci o niskiej wadze, może zaistnieć konieczność przygotowania KKP o zmniejszonej objętości. Należy wówczas postępować tak, jak podczas przygotowywania KKP do transfuzji dopłodowych (patrz p. 2.2.).

6.2. Sposób otrzymywania

6.2.1. Przygotowanie KKP z osocza bogatopłytkowego dawcy

W celu uzyskania osocza bogatopłytkowego należy pobrać 1 jednostkę krwi pełnej lub wykonać zabieg pojedynczej/podwójnej plazmaferazy manualnej.

1. Wyizolować osocze bogatopłytkowe, postępując tak, jak opisano w punktach 1-3, p. 11.2.1.
2. Z osocza bogatopłytkowego usunąć leukocyty metodą filtracji, postępując ściśle wg zaleceń producenta filtra (patrz p. 14.2.2.). Jeśli składnik ma być przechowywany przez 1-5 dni, wszystkie połączenia wykonywać przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączy drenów.
3. Za pomocą zgrzewarki do sterylnej łączy drenów podłączyć do pojemnika z osoczem bogatopłytkowym pusty pojemnik transferowy. Dren łączący oba pojemniki zamknąć zaciskiem plastikowym.
4. Połączone pojemniki wirować w warunkach podanych w punkcie 4., p. 11.2.1.
5. Pojemnik z odwirowanym KKP umieścić w prasie i precyzyjnie otrzymane osocze ubogokomórkowe do pustego pojemnika. Nad osadem krwinek płytkowych pozostawić ok. 50 ml osocza.

UWAGA:

Rodzaj tworzywa pojemnika, w którym umieszczono KKP musi być dostosowany do planowanego czasu przechowywania.

6. W celu ponownego zawieszenia osadu płytek postępując tak, jak opisano w punktach 6-8, p. 11.2.1.
7. KKP przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C stale mieszając.
8. Napromieniować składnik (patrz p. 18.2.).

UWAGA:

Napromieniowania można dokonać bezpośrednio po ponownym zawieszeniu osadu krwinek płytkowych, jeszcze przed przechowywaniem.

6.2.2. Przygotowanie KKP ze składnika otrzymanego od dawcy metodą tromboaferezy

1. Z otrzymanego składnika usunąć leukocyty metodą filtracji (patrz p. 14.2.2.). Wszystkich połączeń dokonać przy użyciu zgrzewarki do sterylnej łączy drenów. Jeśli w wyniku tromboaferezy uzyskano UKKP, filtracja jest zbędna.
2. Pobrać próbkę do badań kontroli jakości i oznaczyć zawartość płytek krwi w KKP.
3. Używając zgrzewarki do sterylnej łączy drenów dokonać podziału składnika na porcje, zawierające ok. $0,6 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych. Jeśli niektóre z tych porcji będą przechowywane w stanie zamrożenia, powinny zawierać tyle płytek krwi, aby po rozmrożeniu uzyskać $0,5-0,7 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych / porcję.
4. Wydzielone porcje przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C, stale mieszając (jeśli mają być przechowywane przez 4-5 dni, powinny zostać umieszczone w pojemnikach „oddychających” oddzielonych z zestawu do pobierania krwi) lub zamrozić, postępując w oparciu o wskazówki zamieszczone w p. 15.2.1.2.
5. Napromieniować składnik (patrz p. 18.2.).

UWAGA:

Napromieniowania można dokonać bezpośrednio po podziale na porcje, jeszcze przed przechowywaniem.

6.2.3. Przygotowanie KKP z osocza bogatopłytkowego matki

W celu uzyskania osocza bogatopłytkowego należy u matki wykonać zabieg pojedynczej/podwójnej plazmaferezy manualnej.

UWAGA:

Matka powinna być traktowana tak, jak dawca krwi do transfuzji autologicznej.

1. Wyizolować osocze bogatopłytkowe, postępując tak, jak opisano w punktach 1-3, p. 11.2.1.
2. Z osocza bogatopłytkowego usunąć leukocyty metodą filtracji, postępując ściśle wg zaleceń producenta filtra (patrz p. 14.2.2.). Jeśli składnik ma być przechowywany przez 1-5 dni, wszystkich połączeń dokonać przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów.
3. Za pomocą zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów podłączyć do pojemnika z osoczem bogatopłytkowym pusty pojemnik transferowy. Dren łączący oba pojemniki zamknąć zaciskiem plastikowym.
4. Połączone pojemniki wirować w warunkach podanych w punkcie 4., p. 11.2.1.
5. Pojemnik z odwirowanym KKP umieścić w prasie i precyzyjnie otrzymane osocze ubogokomórkowe do pustego pojemnika. Nad osadem krwinek płytkowych pozostawić ok. 50 ml osocza.

UWAGA:

Rodzaj tworzywa pojemnika, w którym umieszczono KKP musi być dostosowany do planowanego czasu przechowywania.

6. Postępować dalej jak opisano w 2.2.3.p 6-10. Do zawieszenia krwinek płytkowych zastosować 25-50 ml 5% roztworu albuminy lub karencjonowanego rozmrożonego FFP grupy AB.

6.2.4. Przygotowanie KKP ze składnika otrzymanego od matki metodą tromboaferezy

W celu uzyskania składnika należy u matki wykonać zabieg automatycznej tromboaferezy.

UWAGA:

Matka powinna być traktowana tak, jak dawca krwi do transfuzji autologicznej.

1. Z otrzymanego składnika usunąć leukocyty metodą filtracji (patrz p. 14.2.2.). Wszystkich połączeń dokonać przy użyciu zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów. Jeśli w wyniku tromboaferezy uzyskano UKKP, filtracja jest zbędna.
2. Pobrać próbkę do badań kontroli jakości i oznaczyć ilość krwinek płytkowych w składniku.
3. Używając zgrzewarki do sterylnego łączenia drenów dokonać podziału składnika na porcje, zawierające ok. $0,7 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych. Jeśli niektóre z tych porcji będą przechowywane w stanie zamrożenia, powinny zawierać tyle płytek krwi, aby po rozmrożeniu uzyskać $0,5-0,7 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych / porcję.
4. Wydzielone porcje przechowywać w temperaturze od 20°C do 24°C stale mieszając (jeśli mają być przechowywane przez 4-5 dni, powinny zostać umieszczone w pojemnikach „oddychających” oddzielonych z zestawu do pobierania krwi) lub zamrozić, postępując w oparciu o wskazówki zamieszczone w p. 15.2.1.2.
5. Postępować dalej jak opisano w p. 2.2.3.: 6-10. Do zawieszenia krwinek płytkowych zastosować 50 ml 5% roztworu albuminy lub karencjonowanego rozmrożonego FFP grupy AB.

6.3. Wykonanie próbek pilotujących

W przypadku jednostek pobranych metodą automatycznej lub manualnej plazmaferezy obowiązuje wykonanie z macierzystej jednostki próbek pilotujących do kontroli serologicznej. Po zakończeniu preparatyki należy ponadto z każdej jednostki pobrać próbkę

do kontroli jakości.

6.4. Oznakowanie składnika

Składnik należy oznaczyć jako: „Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek płytkowych” lub „UKKP”. Etykieta powinna zawierać również dane przedstawione w p. 11.4. lub odpowiednio 13.4., uzupełnione informacją o roztworze użytym do sporządzenia zawiesiny krwinek płytkowych (jeśli było to FFP, należy podać jego numer). Podając termin ważności należy określić datę i godzinę. Zamieścić wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

Przed napromieniowaniem nakleić na pojemnik specjalną promienioczułą etykietkę, zmieniającą zabarwienie lub wygląd pod wpływem promieni γ lub X.

6.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKP (patrz p. 11.5.).

Termin ważności:

1. Składniki przygotowane w systemie zamkniętym i przechowywane w pojemnikach „oddychających”: do 5 dni.
2. Składniki przygotowane w systemie zamkniętym i przechowywane w pojemnikach zwykłych: do 3 dni.
3. Składniki przygotowane w systemie otwartym: do 6 godzin.

UWAGA:

Dla małych dzieci wymagane jest niejednokrotnie zmniejszenie objętości jednostki do ok. 25 ml. W takim przypadku termin ważności wynosi 6 godzin, bez względu na to, w jakim systemie była prowadzona preparatyka.

6.6. Transport

Transportować jak KKP (p. 11.6.).

6.7. Kontrola jakości

Oprócz testów od nr 1 do 10, zebranych w tabeli 3, str. 21, kontrola jakości obejmuje badania przedstawione w tabeli 28.

TABELA 28: Kontrola jakości koncentratu krwinek płytkowych do użytku neonatologicznego

Nr	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli
1	Objętość (ml)	< 50	Każda jednostka
2	Liczba krwinek płytkowych	2-3 x 10 ¹² / l	

6.8. Wskazania do stosowania

Znacznego stopnia małopłytkowość noworodków.

KKP do użytku neonatologicznego, przygotowany z krwi matki wskazany jest jedynie do stosowania u noworodków z ciężką małopłytkowością powstałą na skutek alloimmunizacji antygenami HPA.

6.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Kontrolować szybkość transfuzji aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi.

6.10. Powikłania

Patrz 5.10: 1-3, 5-7.

C. SKŁADNIKI KRWI DO UŻYTKU PEDIATRYCZNEGO

U dzieci w oddziałach intensywnej terapii częściej wykonuje się przetoczenia składników krwi niż u wielu innych pacjentów, dlatego też naczelną zasadą przygotowywania składników do użytku pediatrycznego jest ograniczenie liczby kontaktów biocyty z obcymi antygenami. W praktyce pediatrycznej, podobnie jak przy leczeniu dorosłych, zazwyczaj nie ma potrzeby przetaczania krwi pełnej.

Składniki krwi do użytku pediatrycznego przygotowywane są przez podział jednej jednostki na mniejsze części. Na życzenie lekarza zamawiającego, komórkowe składniki krwi mogą być pozbawiane leukocytów metodą filtracji lub napromieniane.

1. KONCENTRAT KRWINEK CZERWONYCH DO UŻYTKU PEDIATRYCZNEGO

7.1. Definicja i właściwości

Do użytku pediatrycznego stosuje się KKCz pozbawiony kożuszka leukocytno-płytkowego, KKCz w roztworze wzbogacającym pozbawiony kożuszka leukocytno-płytkowego lub UKKCz, podzielone na porcje o objętości od 25 do 100 ml. Charakterystykę tych składników przedstawiono w p. 3.1., p. 5.1. oraz p. 8.1.

7.2. Sposób otrzymywania

Podziału na porcje pediatryczne należy dokonywać wg wskazówek przedstawionych w części I, p. 1.4. W celu przygotowania porcji pediatrycznej UKKCz, należy postępować tak, jak opisano w punktach 1 i 2, p. 5.2. Gdy odbiorca dysponuje filtrem antyleukocytarnym do użytku pediatrycznego, należy wydać porcję KKCz przygotowaną tak, jak opisano w części I, p. 1.4.

7.3. Wykonanie próbek pilotujących

Z każdej porcji pediatrycznej wydzielić 2 próbki pilotujące do wykonania próby zgodności i innych badań serologicznych.

7.4. Oznakowanie składnika

Porcję pediatryczną należy oznaczyć nazwą składnika macierzystego. Etykieta powinna zawierać również informacje przedstawione w p. 2.4., przy czym należy podać faktyczną objętość składnika w ml. Zamieścić wskazówkę: „Przetaczać natychmiast po otrzymaniu”.

7.5. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKCz (patrz p. 2.5.).

Termin ważności:

1. Porcje wydzielone w układzie zamkniętym do 35 dni.
2. Porcje wydzielone w układzie otwartym: 8 godz.

7.6. Transport

Transportować jak krew pełną (p. 1.6.).

7.7. Kontrola jakości

Składnik nie podlega odrębnej kontroli jakości.

7.8. Wskazania do stosowania

1. Niedokrwistość.
2. Uzupełnienie niedoborów erytrocytów, powstałych wskutek pobierania próbek krwi do badań.
3. Uzupełnienie niedoborów erytrocytów, powstałych podczas zabiegów chirurgicznych.

7.9. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Kontrolować szybkość transfuzji, aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi. Za bezpieczne uważa się przetaczanie 5 ml/kg/godz.

7.10. Powikłania

1. Patrz 5.10: 1-2, 4-7.
2. Alloimmunizacja antygenami HLA (rzadko po transfuzjach UKKCz) i antygenami krwinek czerwonych.

3. KONCENTRAT KRWINEK PŁYTKOWYCH DO UŻYTKU PEDIATRYCZNEGO

8.1. Definicja i właściwości

Do użytku pediatrycznego stosuje się wszystkie rodzaje KKP, których charakterystykę przedstawiono w p. 11.1., 13.1., 14.1., 15.1., 17.1. i 18.1.

Na ogół jednorazowo podaje się 1 jedn. KKP / 10 kg ciężaru ciała biorcy.

W przypadku, gdy składnik został otrzymany metodą automatycznej trombaferozy, może zaistnieć konieczność podzielenia go na mniejsze porcje.

8.2. Sposób otrzymywania

Składnik otrzymany metodą automatyczną podzielić na porcje do użytku pediatrycznego w systemie zamkniętym, korzystając ze zgrzewarki do sterylnej łączenia drenów.

W celu przygotowania metodą filtracji UKKP do użytku pediatrycznego, filtracji należy poddać co najmniej 2 jednostki KKP, gdyż trzeba wziąć pod uwagę stratę krwinek płytkowych zatrzymanych w układzie filtracyjnym.

8.3. Oznakowanie składnika

Etykieta powinna zawierać wszystkie informacje obowiązujące dla składnika macierzystego. Zamieścić wskazówkę: "Przetaczać natychmiast po otrzymaniu".

8.4. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać jak KKP (patrz p. 11.5.).

Termin ważności: jak dla składnika macierzystego.

8.5. Transport

Transportować jak KKP (p. 11.6.).

8.6. Kontrola jakości składnika

Porcje pediatryczne nie muszą być poddawane dodatkowym badaniom kontroli jakości.

8.7. Wskazania do stosowania

1. Znacznego stopnia małopłytkowość.

8.8. Środki ostrożności podczas stosowania

1. Aby uniknąć gwałtownych zmian objętości krwi, kontrolować szybkość transfuzji.

8.9. Powikłania

Powikłania - takie same jak po zastosowaniu składników macierzystych (patrz p. 11.10., p. 13.10., 14.10., 15.10. i 17.9).

9. OSOCZE ŚWIEŻO MROŻONE DO UŻYTKU PEDIATRYCZNEGO

9.1. Definicja i właściwości

Do użytku pediatrycznego stosuje się porcje, otrzymane w układzie zamkniętym z osocza pobranego albo metodą manualnej lub automatycznej plazmaferezy albo z jednej jednostki krwi pełnej (patrz p. 20.1.).

9.2. Sposób otrzymywania

Sposób otrzymywania osocza przedstawiono w p. 20.2.

Dokonując podziału na porcje pediatryczne, należy postępować wg wskazówek zawartych w części I, p. 1.4.

Zamrażanie porcji osocza do użytku pediatrycznego powinno odbywać się na ogólnie przyjętych zasadach, tak jak opisano w części I, p. 4.1.

9.3. Oznakowanie składnika

Etykieta powinna zawierać wszystkie informacje obowiązujące dla składnika macierzystego (patrz p. 20.4.).

9.4. Przechowywanie i termin ważności

Warunki przechowywania i termin ważności - jak dla FFP (patrz p. 20.5.).

9.5. Transport

Transportować jak FFP (patrz p. 20.6.).

9.6. Kontrola jakości

Porcje pediatryczne nie muszą być poddawane dodatkowym badaniom kontroli jakości.

9.7. Wskazania do stosowania

Patrz p.20.8.

9.8. Środki ostrożności podczas stosowania

Patrz p.20.10.

9.9. Powikłania

Patrz p.20.11.