

STANDARDY – SPECIFICKÁ ČÁST

P. Odběr, zpracování a transport

- P.1. Příprava dárce před odběrem
- P.2. Odběr krvetvorných buněk
- P.3. Zpracování krvetvorných buněk
- P.4. Kontrola kvality produktu
- P.5. Skladování
- P.6. Distribuce
- P.7. Transport
- P.8. Nežádoucí události a reakce
- P.9. Získávání informací z transplantačních center po aplikaci produktu

P ODBĚROVÉ CENTRUM

P.1. Příprava dárce před odběrem

P.1.1. Před zahájením přípravy k odběru krvetvorných buněk musí být posouzena a zdokumentována zdravotní způsobilost dárce podle aktuálně platné legislativy.

P.1.2. Odběrové centrum musí mít stanoveny minimální parametry krevního obrazu, které umožňují, aby byl dárce podroben odběru. Hodnoty jsou stanoveny v SOP CNRDD/N03 Posouzení zdravotní způsobilosti dárce krvetvorných buněk.

P.1.3. Mobilizace dárce PBSC

P.1.3.1. Dárce se mobilizuje růstovým faktorem granulopoezy (G-CSF, filgrastim) podávaným podkožně v jedné denní dávce odpovídající 10 µg/kg/den.

P.1.3.2. G-CSF musí vždy aplikovat zdravotník, dárce si jej nesmí aplikovat sám. Každá aplikace se musí dokumentovat na formuláři Evidence podání G-CSF (CNRDD P04).

P.1.3.3. Zaznamenávají se také výsledky laboratorních a fyzikálního vyšetření a případné nežádoucí účinky. Vyplněný formulář se předá pracovníkovi odběrového centra.

P.1.3.4. Pravidla pro dávkování filgrastimu a řešení vedlejších účinků jsou stanoveny v SOP CNRDD/P04 Mobilizace dárce periferních kmenových buněk.

P.1.3.5. Jakékoliv změny v dávkování G-CSF musí být konzultovány s koordinačním centrem.

P.1.4. Příprava dárce kostní dřeně

P.1.4.1. Před odběrem kostní dřeně musí být každému dárci odebrána autotransfuze a zpracována jako erytrocytární resuspenze.

P.1.4.2. Ideální doba k odběru krve je 14 dní před výkonem – maximální doba je dána expirací odebraného transfuzního přípravku, minimální interval je 7 dní před výkonem.

P.1.4.3. Dárci kostní dřeně musí být doporučena substituce preparáty železa od předodběrového vyšetření do vlastního odběru kostní dřeně.

P.1.4.4. Dárce musí být vyšetřen minimálně 1 den před termínem odběru k provedení vyšetření před celkovou anestézií.

P.2. Odběr krvetvorných buněk

P.2.1. K odběru kostní dřeně musí být dárce hospitalizován. Odběr periferních kmenových buněk lze provést za hospitalizace i ambulantně. Dárci, u kterých je nutno zavést centrální žilní katétr, musí být vždy hospitalizováni.

P.2.2. Před zahájením odběru krvetvorných buněk musí být provedena aktivní identifikace dárce a kontroluje se, zda souhlasí s dokumentací.

P.2.3. Ráno v den odběru musí být dále posouzena aktuální zdravotní způsobilost dárce k odběru před zahájením leukaferozy nebo odběru kostní dřeně.

P.2.4. Maximální objem vzorů periferní krve dárce ze dne odběru (collection samples) požadovaných TC nesmí přesáhnout 50 ml. Při vyšším požadavku musí TC svůj požadavek písemně zdůvodnit.

P.2.5. Odběr PBSC

P.2.5.1. První aferéza musí být zahájena nejpozději den +5 podávání G-CSF, pokud tomu nebrání jiné okolnosti. Při vyplavení dostatečného množství CD34+ buněk v den +4 může být první odběr proveden již v tento den.

P.2.5.2. Provedeny smí být pouze 2 aferézy. Při nedostatečném výtěžku CD34+ buněk u špatně mobilizovatelných dárců je možno zvážit po dohodě s dárcem a transplantačním centrem odběr kostní dřeně.

P.2.5.3. Minimální hodnota trombocytů pro uskutečnění aferezy musí být $100 \times 10^9/l$.

P.2.5.4. Preferovaným žilním přístupem by mělo být periferní žilní řečiště horních končetin. Při insuficienci periferních žil se zavádí centrální žilní katétr cestou v.femoralis. Dialyzační katétr musí zavádět erudovaný lékař.

P.2.5.5. Centrální žilní katétr smí být ponechán ve femorální žíle nejdéle po dobu 36 hodin. Musí být provedena preventivní opatření proti hluboké žilní tromboze.

P.2.5.6. Odběr se provádí pomocí kontinuálního separátoru krevních elementů metodou velkoobjemové leukaferozy s objemem zpracované krve odpovídajícím 3 - 4 násobku krevního objemu dárce.

P.2.5.7. Jako antikoagulant k prevenci srážení krve v mimotělním oběhu a v odběru se používá roztok ACD-A v poměru k plné krvi 1:12-1:14.

P.2.5.8. Jiný roztok se nesmí k produktu přidat, pokud si to transplantační centrum písemně nevyžádá.

P.2.5.9. Všechny roztoky použité při odběru (fyziologický roztok, antikoagulant) musí být registrované léčivé přípravky schválené pro humánní použití.

P.2.6. Odběr kostní dřeně

P.2.6.1. Odběr kostní dřeně se provádí v celkové anestézii opakovanými aspiracemi ze spina iliaca posterior superior.

P.2.6.2. Dřeň se odebrává do antikoagulačního roztoku na bázi ACD-A nebo heparinu. Typ a množství roztoku určuje transplantační centrum v žádosti o odběr: Prescription for stem cell collection (CNRDD N13). Zvolené množství roztoku musí dostatečně zabraňovat koagulaci. Roztoky či aditiva, které by mohli nepříznivě ovlivňovat kvalitu transplantátu, se nesmí použít.

P.2.6.3. Minimální množství dřeně, které by měl odběrový tým získat (pokud je to technicky možné) je $2,0 \times 10^8$ NC/kg hmotnosti příjemce v 75 % odebrané dřeně. Odebraný objem kostní dřeně nesmí překročit 20 ml/kg tělesné hmotnosti dárce, maximálně však 1500 ml včetně odběrového média.

P.2.6.4. Po odběru se kostní dřeň filtruje pomocí 500 μ m a 200 μ m filtru přímo na operačním sále za aseptických podmínek.

P.2.6.5. Odběrové centrum musí mít stanovena pravidla pro podávání autotransfúzí a alogenní krve po odběru.

P.2.6.6. Odběr má být vždy veden tak, aby nebylo třeba alogenní krev podávat. Substituce alogenní krví je vyhrazena pouze pro neočekávané komplikace při odběru, které jsou spojené s významnou krevní ztrátou. Pro případ, že nelze převodu alogenní krve zabránit, musí být k dispozici deleukotizované, CMV negativní a ozářené transfúzní přípravky.

P.2.7. Cílová hodnota nukleárních nebo CD34+ buněk, která se má odebrat, je stanovena požadavkem transplantačního centra. Odběrové centrum se musí snažit odebrat požadované množství. Hlavním kritériem určujícím vedení odběru zůstává však zdravotní stav a tolerance odběru ze strany dárce.

P.2.8. Za minimální hodnoty, které by měly být naplněny, se považuje $\geq 2.0 \times 10^8$ nukleárních buněk u odběrů kostní dřeně a $\geq 3.0 \times 10^6$ CD34+ buněk u odběrů periferních kmenových buněk na kilogram hmotnosti příjemce.

P.2.9. Po odběru kostní dřeně a po leukaferenze cestou centrálního žilního katétru je dárce observován do následujícího dne po celkové anestézii nebo vyjmutí centrálního žilního katétru. Dárce periferních kmenových buněk odebraný cestou periferních žil může být propuštěn v den odběru.

P.2.10. Odpovědný lékař odběrového centra nebo jím pověřený lékař musí zkontrolovat, že je dárce schopen propuštění z hospitalizace nebo ambulantního odběru.

P.2.11. Dárci musí být poskytnuto poučení a instrukce, jak se po odběru chovat, písemná zpráva o odběru a kontaktní informace pro případ poodběrových komplikací.

P.3. Zpracování krvetvorných buněk

P.3.1. Odběrové centrum zajišťuje zpracování odběru, kontrolu kvality, výrobu produktů, jejich propuštění a distribuci.

P.3.2. Odběrové centrum musí k činnostem v bodu 3.1. vlastnit povolení k činnosti tkáňového zařízení vydané Státním ústavem pro kontrolu léčiv. Odběrové centrum by mělo být zároveň JACIE akreditovaným pracovištěm pro odběry a zpracování krvetvorných buněk. Kopii povolení/licence předává odpovědná osoba odběrového centra registru dárců. Odběrové centrum má povinnost informovat registr dárců o změnách v povolení/licenci, pokud se dotýkají problematiky nepříbuzných dárců a odběrů.

P.3.3. Odběrové centrum musí být registrováno u ICCBBA a mít přiděleno vlastní identifikační číslo (FIN), které je nezbytné pro unikátní značení vyrobených produktů.

P.3.4. Zpracování krvetvorných buněk zahrnuje pouze odběr vzorku, stanovení kvalitativních parametrů, dělení odběru do vaků pro transport, značení a propouštění finálních produktů.

P.3.5. Jedinou manipulací, kterou smí odběrové centrum standardně provést, je úprava objemu aferetického produktu, aby byla optimalizována koncentrace leukocytů v produktu pro skladování a transport.

P.3.6. Jiná manipulace (deplece erytrocytů, imunoselektce atd.) nesmí být prováděna, pokud si ji transplantační centrum předem písemně nevyžádá.

P.3.7. O každé manipulaci krvetvorných buněk na odběrovém centru musí být transplantační centrum informováno.

P.3.8. Veškeré zpracování musí probíhat v podmínkách čistého prostoru (třída čistoty A na pozadí třídy čistoty B nebo C) v laminárním boxu za dodržení aseptického přístupu.

P.3.9. Na vacích s produkty by měly být ponechány dostatečně dlouhé zbytky hadiček, aby bylo možno je použít pro spojování vaků sterilní svářečkou.

P.4. Kontrola kvality produktu

P.4.1. Odběrové centrum provádí kompletní hodnocení kvality produktu, které zahrnuje minimálně tyto parametry:

P.4.1.1. Hematologické parametry

- koncentrace leukocytů
- počet nukleárních buněk na hmotnost příjemce
- procento CD34+ buněk
- počet CD34+ buněk na hmotnost příjemce
- absolutní počet T- lymfocytů
- počet T- lymfocytů na hmotnost příjemce
- životnost

P.4.1.2. Testování sterility

- Výsledek zkoušky na sterilitu není k dispozici v době odběru a transplantace, ale až po 14-ti denní kultivaci.
- Při pozitivním výsledku zkoušky musí odpovědný lékař odběrového centra informovat koordinační centrum registru, které zajistí předání anonymizované informace transplantáčnímu centru.

P.4.1.3. Infekční markery

- U všech dárců/pacientů se vyšetřují infekční markery (anti-HIV 1/2, p24 Ag, anti-HCV, HBsAg, anti-HBc, syfilis) screeningovými zkouškami.
- Sérologické testy nesmí být starší více než 30 dní.

P.4.2. Požadavky na kvalitu transplantátu v jednotlivých sledovaných parametrech shrnuje tabulka:

kontrolovaný parametr	požadavky na kvalitu
množství jaderných buněk/kg hmotnosti příjemce	$> 2.0 \times 10^8$ /kg hmotnosti příjemce
množství CD34+ buněk/kg hmotnosti příjemce	$> 3.0 \times 10^6$ /kg hmotnosti příjemce
množství CD3+ buněk/kg hmotnosti příjemce	dle transplantáčního centra
životnost leukocytů	> 90 %
sterilita	sterilní
protilátky anti- HIV, p24 antigen	negativní screeningovou zkouškou
HBsAg	negativní screeningovou zkouškou
protilátky anti- HBc	negativní screeningovou zkouškou
protilátky anti- HCV	negativní screeningovou zkouškou
syfilis: SYPH	negativní screeningovou zkouškou

P.4.3. Bližší postupy pro hodnocení kvality produktu jsou uvedeny v SOP CNRDD/P05 Posuzování kvality štěpu a CNRDD/P06 Testování sterility produktu.

P.5. Skladování

P.5.1. Vaky s odebranými krvetvornými buňkami musí být po celou dobu odběru, zpracování a skladování označeny takovým způsobem, který umožňuje jednoznačnou identifikaci dárce a odběru.

P.5.2. Do doby transportu se produkty musí skladovat v lednici při teplotě +2 až +8 °C. Teplota lednice musí být kontinuálně monitorována a vybavena alarmem. Musí se zabránit zkřížené kontaminaci s jinými produkty.

P.5.3. Během skladování dochází k sedimentaci krevních elementů ve vaku. Po vyjmutí vaku provedeme opatrné roztřepání buněk do homogenního stavu.

P.5.4. V lednici nesmí být současně skladovány jakékoliv toxické nebo agresivní reagenty nebo biologický materiál, který není v uzavřeném systému.

P.5.5. Maximální expirační doba produktů je 48 hod od ukončení odběru. Do této doby musí být krvetvorné buňky zpracované (aplikované, kryokonzervované atd.).

P.6. Distribuce

P.6.1. Při vydání produktu k distribuci musí být všechny údaje v doprovodné dokumentaci a na štítcích zkontrolovány dvěma pracovníky odběrového centra. Další kontrolu provádí kurýr přebírající krvetvorné buňky.

P.6.2. Postup při distribuci buněk včetně potřebné dokumentace doprovázející produkt popisuje SOP CNRDD/P7 Vydání produktu k aplikaci.

P.6.3. Každý vak musí být označen štítkem pro distribuci a umístěn do sekundárního obalu nepropustného pro tekutiny. Sekundární obal musí být označen štítkem pro značení sekundárního obalu.

P.6.4. Štítek pro distribuci musí být schválen odpovědnou osobou odběrového centra a musí být kompatibilní se standardem ISBT128

P.6.4.1. Štítek musí obsahovat následující údaje:

unikátní identifikační číslo produktu	kód dárce
název produktu (+ případný modifikátor)	identifikace odběrového centra
jméno příjemce/datum narození	doporučená skladovací teplota
datum (čas) odběru	identifikace tkáňového zařízení
přibližný objem ($\pm 10\%$)	krevní skupina dárce (ze dne odběru)
antikoagulant + objem	datum (čas) expirace
název a adresa transplantčního centra	prohlášení: „Do Not X-Ray.“ atd.
prohlášení: „Pouze pro použití u konkrétního příjemce.“	
prohlášení: „Neozářovat“ „Nepoužívat leukoredukční filtr“	
prohlášení: „Správně identifikuj příjemce a produkt“	

P.6.4.2. Produkty od dárců, kteří mají reaktivní výsledek některého testu na infekční onemocnění, musí být označeny varováním biologické nebezpečnosti a uvedením testu, který nevyhověl kritériím propuštění.

P.6.4.3. Varováním musí být označeny také produkty od dárců, u nichž nejsou k dispozici aktuální výsledky infekčního screeningu.

P.6.5. Způsob značení produktů popisuje detailně SOP CNRDD/P08 Značení produktů.

P.7. Transport

P.7.1. Transplantáty z kostní dřeně se pro transport rozdělují do několika vaků o přibližně stejném objemu pro případ poškození jednoho z vaků.

P.7.2. Přepravní box používaný pro transport krvetvorných buněk musí splňovat následující kritéria:

P.7.2.1. Musí být vyroben z pevného materiálu odolného vůči mechanickému poškození.

P.7.2.2. Musí být schopen udržet požadovanou transportní teplotu minimálně po dobu 24 hodin ve všech ročních obdobích. Tato vlastnost musí být ověřena validací.

P.7.2.3. Doporučen je isothermální box s vakuovými stěnami a insertem, který lze nachladit v lednici na transportní teplotu.

P.7.2.4. Údaje, které musí být uvedeny na přepravním boxu pro transport produktu, definuje SOP CNRDD/P01 Transport produktu.

P.7.3. Podmínky transportu

P.7.4.3.1. Krvetvorné buňky se transportují při teplotě skladování, tedy 2- 8 °C. Teplota nikdy nesmí klesnout pod 0 °C (buňky nesmí zmrznout).

P.7.3.2. Transport musí probíhat v souladu s platnými národními a mezinárodními předpisy – IATA a WHO.

P.7.3.3. Pro udržení transportní teploty nativního produktu se nesmí nikdy použít suchý led.

P.7.4. Postup při transportu

P.7.4.1. Pravidla pro transport produktů jsou definována v SOP ČNRDD/P01 Transport produktu.

P.7.4.2. Musí být vyvinuto maximální úsilí, aby krvetvorné buňky byly dopraveny do transplantačního centra v nejkratším možném čase. Expirační doba nekryokonzervovaných krvetvorných buněk je 48 hodin od ukončení odběru.

P.7.4.3. Krvetvorné buňky musí být vždy převáženy zkušeným a vyškoleným kurýrem. Postupy, kterými se musí kurýr řídit během transportu, a požadavky na edukaci kurýra jsou stanoveny v SOP ČNRDD/P03 Kurýři - postupy a činnosti.

P.7.4.4. Maximální snahou kurýra musí být doručit krvetvorné buňky (KB) do transplantačního centra (TC) bezpečně, včas a za požadovaných transportních podmínek (zejména teploty). Musí být zachována anonymita dárce a příjemce.

P.7.5. Sledování teploty během transportu

P.7.5.1. Teplota produktu musí být během transportu kontinuálně monitorována dle SOP ČNRDD/P02 Monitorování teploty produktu během transportu.

P.7.5.2. Transplantační centrum obdrží teplotní křivku jako doklad dodržení požadovaných teplotních podmínek transportu.

P.7.6. Nežádoucí události v průběhu transportu

P.7.6.1 Nežádoucí události vzniklé v průběhu transportu produktu se oznamují do transplantačního centra, do kterého jsou buňky přepravovány.

P.7.6.2. Na základě rozhodnutí vedoucího koordinačního centra se mohou některé události hlásit také do odběrového centra, které buňky odeslalo.

P.8. Nežádoucí události a reakce

P.8.1. Všechny nežádoucí události a reakce vzniklé u dárce nebo příjemce se musí zaznamenávat.

P.8.2. Odběrové centrum musí závažné nežádoucí události a reakce vzniklé v průběhu odběru hlásit manažerovi kontroly kvality a koordinačnímu centru registru. Závažné nežádoucí reakce musí být nahlášeny také Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv, pokud to charakter reakce naplňuje legislativně daná kritéria. Zodpovídá vedoucí lékař odběrového centra.

P.8.3. Hlášení reakcí dárce do databáze SEAR a SPEAR zajišťuje koordinační centrum na základě údajů poskytnutých manažerem kontroly kvality.

P.9. Získávání informací z transplantačních center po aplikaci produktu

P.9.1. Transplantační centrum musí poskytnout registru informace o kvalitě přijatého produktu, jeho případné manipulaci a aplikaci.

P.9.2. Transplantační centrum musí informovat koordinační centrum registru o všech závažných nežádoucích reakcích vzniklých u příjemce v souvislosti s podáním transplantátu. Koordinátor registru následně informuje vedoucího lékaře odběrového centra a společně stanoví nápravná opatření.

