



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Διπλωματική Εργασία

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ATREUS

ΧΡΥΣΗ ΓΕΩΡΓΙΑΔΟΥ

A.M. 2009709

Επιβλέπουσα καθηγήτρια : Ωρ. Τραυλού, Καθηγήτρια Αιματολογίας

Τριμελής επιτροπή: Ωρ. Τραυλού, Καθηγήτρια Αιματολογίας

Α. Γιαλεράκη, Επίκουρος Καθηγήτρια Βιοχημείας

Ε. Γρουζή, Αιματολόγος, Συντ. Διευθύντρια Αιμοδοσίας ΑΟΝΑ «Ο Άγιος Σάββας»

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία αυτή διεκπεραιώθηκε στην Αιμοδοσία του Π.Γ.Ν. «Αττικόν», με επιβλέπουσα την καθηγήτρια Ανθή Σ. Τραυλού, την οποία ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όλα τα χρόνια της συνεργασίας μας στη Νεοϊδρυθείσα Αιμοδοσία του «Αττικού» Νοσοκομείου. Την τέως Διευθύντρια ΕΣΥ της Αιμοδοσίας του Αττικού και νυν Συντονίστρια Διευθύντρια της Αιμοδοσίας του ΑΟΝΑ «Ο Άγιος Σάββας» Ελισάβετ Γρουζή και την επίκουρη καθηγήτρια του ΕΚΠΑ Αργυρή Γιαλεράκη για την άριστη συνεργασία μας θερμά τις ευχαριστώ, γιατί χωρίς τις εύστοχες υποδείξεις τους δεν θα ήταν δυνατή η αποπεράτωση της εργασίας μου.

Θα ήταν παράληψη να μην ευχαριστήσω όλο το νοσηλευτικό και τεχνολογικό προσωπικό της Αιμοδοσίας, ιδιαίτερα δε την Μαρία Κοντάκη και την Ευσταθία Μακρή για τη συμβολή τους στο εργαστηριακό μέρος της διπλωματικής μου και την τέως Διευθύντρια της Αιμοδοσίας Αθανασία Τζιώκα και την επιστημονική συνεργάτιδα του ΕΚΠΑ Ευφροσύνη Μερκούρη τις οποίες επίσης ευχαριστώ, γιατί εφήρμοσαν τον ποιοτικό έλεγχο των παραγώγων που ελήφθησαν με το σύστημα Atreus.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα παράγωγα του αίματος, στα οποία περιλαμβάνονται τα συμπυκνωμένα ερυθρά, το πλάσμα και τα αιμοπετάλια, παρασκευάζονται από μονάδες ολικού αίματος σύμφωνα με σαφείς και λεπτομερείς κατευθυντήριες οδηγίες, οι οποίες πρέπει να τηρούνται αυστηρά σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας. Στη χώρα μας ισχύουν και οφείλουν να ακολουθούνται οι κατευθυντήριες οδηγίες που έχουν τεθεί από το Συμβούλιο της Ευρώπης, ώστε να λαμβάνονται παράγωγα καθορισμένης ποιότητας, με ειδικά ποιοτικά χαρακτηριστικά. Επιπλέον προκειμένου να διασφαλιστεί η ποιότητα στα παράγωγα, που συνεπάγεται ασφάλεια και αποτελεσματικότητα, απαραίτητη είναι και η διενέργεια ελέγχου ποιότητας ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

Το σύστημα Atreus αποτελεί μια νέα τεχνική επεξεργασίας μονάδων ολικού αίματος για την παρασκευή παραγώγων που επιτρέπει την αυτοματοποίηση της διαδικασίας παραγωγής, διευκολύνοντας το χειριστή και εξοικονομώντας χρόνο. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της νέας αυτής τεχνικής. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε μελέτη ελέγχου ποιότητας των παραγώγων αίματος που παρασκευάσθηκαν με τη νέα μέθοδο επεξεργασίας από 1251 αιμοληψίες ολικού αίματος σε διάστημα 10 μηνών στην Αιμοδοσία του Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ», όπου και εφαρμόζεται η συγκεκριμένη μέθοδος. Από το σύνολο των 1251 μονάδων ολικού αίματος ποιοτικός έλεγχος έγινε σε 90 (7.2%) μονάδες συμπυκνωμένων ερυθρών, 90 (7.2%) μονάδες έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος, 36 (2.9%) ενδιάμεσες μονάδες αιμοπεταλίων και 13 (3.6%) pool αιμοπεταλίων. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγώγων που εξετάσθηκαν πληρούσαν τα κριτήρια που έχουν τεθεί από το Συμβούλιο της Ευρώπης. Συνεπώς η επεξεργασία μονάδων ολικού αίματος με το σύστημα Atreus φαίνεται ότι παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα.

ABSTRACT

Blood components, including the concentrated red cells, plasma and platelets prepared from units of whole blood in accordance with clear and detailed guidelines that must be strictly observed at all stages of processing. In our country, being a Country State of the Council of Europe, we have to comply with the guidelines set by the Council of Europe in order to supply patients with blood components of specified quality, with special characteristics. Furthermore, in order to ensure quality in blood components involving safety and effectiveness, and it is necessary to conduct quality control at regular intervals.

The Atreus system is a new processing technique of whole blood units to prepare blood components that allows the automation of the production process, facilitating the operator and saving time. The purpose of this study is to evaluate the effectiveness of this new technique. For this purpose a quality control study of blood components prepared with the new method was held. We processed 1251 donations of whole blood within 10 months in the blood donation Department of the University General Hospital Attikon, where the particular method is applied. Of the total 1251 units of whole blood quality control was performed in 90 (7.2%) units of red blood cells, 90 (7.2%) fresh frozen plasma units, 36 (2.9%) intermediate units of platelets and 13 (3.6%) pool platelets. The qualitative characteristics of the blood components tested met the criteria set by the Council of Europe. Therefore, the processing units of whole blood with the Atreus system appear to provide reliable results.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....	6
---------------	---

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. Αίμα και παράγωγα αίματος.....	10
2. Ενδείξεις χορήγησης.....	16
3. Λευκαφαίρεση.....	21
4. Ακτινοβολήση.....	23

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

1. Μορφές συμπυκνωμένων ερυθρών.....	25
2. Μορφές συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων.....	28
3. Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα.....	32

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

1. Έλεγχος ποιότητας παραγώγων-Γενικές αρχές.....	34
2. Ερυθρά αιμοσφαίρια.....	36
3. Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα.....	39
4. Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια.....	44

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σύστημα Atreus 3C

1. Εισαγωγή - Σκοπός.....	52
2. Υλικό - Μέθοδος.....	55
3. Αποτελέσματα.....	63
4. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	67

Βιβλιογραφία.....	72
-------------------	----

Εισαγωγή

Η πρώτη επιτυχής μετάγγιση αίματος έγινε το 1818 από τον Άγγλο μαιευτήρα James Blundell, ο οποίος επισήμανε ότι η μετάγγιση αίματος πρέπει να γίνεται μόνο σε πολύ επείγοντα περιστατικά καθώς οι μισοί από τους δέκα πρώτους ασθενείς που μεταγγίσθηκαν πέθαναν.

Τις πρώτες αυτές προσπάθειες μετάγγισης αίματος ακολούθησε η ανακάλυψη του συστήματος ABO από τον Landsteiner το 1901 που αποτελεί και το σημαντικότερο σταθμό στην ιστορία της μετάγγισης, γεγονός που συνέβαλε σημαντικά στην ασφάλεια των μεταγγίσεων. Για την ανακάλυψη αυτή ο Landsteiner τιμήθηκε το 1930 με το βραβείο Nobel.

Κατά τη διάρκεια του Α' Παγκοσμίου πολέμου προκειμένου να αντιμετωπισθούν οι αυξημένες ανάγκες σε αίμα έγιναν προσπάθειες συλλογής και αποθήκευσης του. Έτσι για πρώτη φορά το 1917 συλλέχθηκε αίμα ομάδος Ο σε ειδικό συντηρητικό διάλυμα. Η «ποιότητα» αυτών των ερυθρών δεν γνωρίζουμε ποια ήταν, σίγουρα όμως οι μεταγγίσεις αυτές κατά τη διάρκεια του πολέμου έσωσαν ζωές [1].

Στο παρελθόν, οι μεταγγίσεις βασιζόνταν σε μεγάλο βαθμό στη χρήση ολικού αίματος. Σήμερα δεν υπάρχει ένδειξη ότι το ολικό αίμα προσφέρει κλινικά πλεονεκτήματα κατά τη χορήγησή του. Μετά από συντήρηση 24-48 ωρών ορισμένοι παράγοντες πήξης καταστρέφονται, επίσης τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια υφίστανται μορφολογική και λειτουργική καταστροφή. Βιώσιμα καθ' όλη τη διάρκεια συντήρησης του ολικού αίματος διατηρούνται μόνον τα λεμφοκύτταρα. Έτσι ακόμη και στην περίπτωση ασθενούς με οξεία αιμορραγία η χορήγηση ολικού αίματος δεν συμβάλλει αποτελεσματικά στην αιμόσταση, αφού αντικαθιστά μόνο τα ερυθρά που χάνει ο ασθενής. Το ολικό αίμα εξακολουθεί να χρησιμοποιείται σήμερα σε συγκεκριμένες, περιορισμένες, καταστάσεις, αλλά η σύγχρονη τάση στις

μεταγγίσεις συνίσταται στη χρήση του συγκεκριμένου συστατικού του αίματος για το οποίο έχει τεθεί η κλινική ένδειξη της μετάγγισης.

Παράγωγα αίματος ονομάζονται εκείνα τα συστατικά του που παρασκευάζονται με φυγοκέντρηση, διήθηση και κατάψυξη, χρησιμοποιώντας τη συμβατική μεθοδολογία των Υπηρεσιών Αιμοδοσίας. Η μετάβαση από τη συλλογή αίματος σε γυάλινες φιάλες στα συστήματα πολλαπλών πλαστικών ασκών στα μέσα της δεκαετίας του 1960 συνέβαλε σημαντικά στην παρασκευή παραγώγων αίματος υψηλής ποιότητας με αποτέλεσμα να επικεντρωθεί πλέον η προσοχή στη θεραπεία των ασθενών με τα παράγωγα του αίματος. Έτσι κάθε άρρωστος που έχει ανάγκη μετάγγισης λαμβάνει όχι όλο το αίμα αλλά μεμονωμένα το συστατικό που χρειάζεται.

Ένας από τους κυριότερους λόγους για την προώθηση της χρήσης των επιμέρους συστατικών του αίματος είναι το γεγονός ότι οι βέλτιστες συνθήκες αποθήκευσης και, συνεπώς, η διάρκεια ζωής είναι διαφορετικές για κάθε συστατικό του αίματος (ερυθρά, πλάσμα, αιμοπετάλια). Η λειτουργικότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων διατηρείται καλύτερα σε συνθήκες απλής ψύξης. Για τη διατήρηση της ποιότητας των συστατικών του πλάσματος απαιτείται κατάψυξη, ενώ η αποθήκευση των αιμοπεταλίων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου και υπό συνεχή ανακίνηση. Επομένως η διατήρηση του ολικού αίματος σε συνθήκες ψύξης ικανοποιεί μόνο τις απαιτήσεις των ερυθροκυττάρων, ενώ η θεραπευτική αποτελεσματικότητα των περισσότερων από τα άλλα συστατικά του μειώνεται.

Οι μεταγγίσεις των ερυθρών χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διατήρηση της δυνατότητας μεταφοράς οξυγόνου, ενώ του πλάσματος για την αποκατάσταση αιμορραγικών διαταραχών και των διαταραχών της πήξης του αίματος. Είναι λοιπόν προφανές ότι ένα και μόνο προϊόν, δεν είναι κατ' ανάγκη κατάλληλο για καθένα από τους παραπάνω σκοπούς μεμονωμένα, εκτός εάν ο ασθενής που χρειάζεται μετάγγιση εμφανίζει περισσότερες από μία διαταραχές. Ακόμη όμως και σ' αυτήν την περίπτωση, η δυσμενής επίδραση της αποθήκευσης στο ολικό αίμα το καθιστά ακατάλληλο για τέτοιου είδους χρήση. Οι ασθενείς πρέπει να λαμβάνουν το παράγωγο που

απαιτείται για τη διόρθωση της συγκεκριμένης ανεπάρκειας. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η περιττή και δυνητικά επιβλαβής έγχυση πλεοναζόντων συστατικών.

Η θεραπευτική χορήγηση παραγώγων αίματος συνδυάζει επίσης πλεονεκτήματα σε θέματα διαχείρισης, ηθικής και κόστους. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων ασθενείς με ένδειξη μετάγγισης δεν χρειάζονται το πλάσμα μιας μονάδας ολικού αίματος, και σίγουρα όχι σε αναλογία 1 προς 1. Συνεπώς, η χρήση ερυθροκυττάρων αντί ολικού αίματος σε αυτούς τους ασθενείς διευκολύνει την παρασκευή παραγώγων πλάσματος [2].

Για όλους αυτούς τους λόγους είναι σημαντική η παρασκευή παραγώγων αίματος από το ολικό αίμα που λαμβάνεται από τον Αιμοδότη.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. Αίμα και παράγωγα αίματος

Το αίμα είναι ένας ρευστός ιστός που κυκλοφορεί με τη βοήθεια της καρδιάς και των αγγείων σε όλα τα κύτταρα του σώματος, όπου προσφέρει οξυγόνο και θρεπτικές ουσίες και παραλαμβάνει από αυτά τα άχρηστα προϊόντα της ανταλλαγής της ύλης για να τα μεταφέρει στα όργανα απέκκρισης. Αποτελείται από τα έμμορφα στοιχεία (που αποτελούν το 45% περίπου του όγκου του) και το πλάσμα. Τα έμμορφα στοιχεία είναι τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια.

Η συλλογή του αίματος γίνεται από υγιείς αιμοδότες και το αρχικά λαμβανόμενο προϊόν το ολικό αίμα μπορεί σήμερα να διαχωριστεί με την κατάλληλη επεξεργασία στα επιμέρους συστατικά του (ερυθρά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια και πλάσμα), κάθε ένα από τα οποία τοποθετείται σε ξεχωριστό ασκό. Έτσι από μία μονάδα ολικού αίματος μπορούν να ικανοποιηθούν οι ανάγκες περισσότερων του ενός ασθενών.

Τα προϊόντα αίματος που λαμβάνονται μετά από επεξεργασία του ολικού αίματος διακρίνονται σε αυτά που προορίζονται για τις κοινές μεταγγίσεις και στα φαρμακευτικά ιδιοσκευάσματα που προκύπτουν από κλασματοποίηση του ανθρώπινου πλάσματος (πίνακας 1). Στην πρώτη περίπτωση πρόκειται για τα παράγωγα αίματος και η επεξεργασία του ολικού αίματος για την παρασκευή τους γίνεται από τις Υπηρεσίες Αιμοδοσίας, οι οποίες και τα χορηγούν, έχουν δε περιορισμένη διάρκεια χρήσης. Στη δεύτερη περίπτωση των φαρμακευτικών ιδιοσκευασμάτων που έχουν μεγάλη χρονική διάρκεια χρήσης, πρόκειται για πρωτεΐνες του πλάσματος που παράγονται από δεξαμενές πολλών χιλιάδων μονάδων πλάσματος με τη διαδικασία της βιομηχανικής κλασματοποίησης, η οποία υπόκειται σε πολύ αυστηρούς κανόνες που έχουν τεθεί από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία [1].

Πίνακας 1. Προϊόντα ανθρώπινου αίματος [1]	
Παράγωγα αίματος	Βιομηχανοποιημένα προϊόντα (medicinal products)
Ολικό αίμα	Λευκωματίνη
Συμπυκνωμένα ερυθρά	Παράγοντας VIII
Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια	Παράγοντας IX
Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα	Ανοσοσφαιρίνες
Κρυοίζημα	Προθρομβινικό σύμπλεγμα
Πλάσμα μετά την αφαίρεση του κρυοιζήματος	Συμπυκνωμένη αντιθρομβίνη
Κοκκιοκύτταρα (πολυμορφοπύρηνα λευκά αιμοσφαίρια)	Συμπυκνωμένη πρωτεΐνη C
Προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα	Συμπυκνωμένο ινωδογόνο
	Άλλα (όπως Παράγοντας von Willebrand. Παράγοντας VII. Πρωτεΐνη C. Πρωτεΐνη S, Αντιθρομβίνη, Πλασμινογόνο κ.α.

- ❖ Οι παράγοντες VIII και IX, ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII, η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C και η αντιθρομβίνη παράγονται σήμερα και τεχνητά με τη μέθοδο του ανασυνδυασμένου DNA

Ολικό αίμα

Είναι το προϊόν που λαμβάνεται από τον αιμοδότη στον αρχικό πλαστικό ασκό, που περιέχει προκαθορισμένη ποσότητα αντιπηκτικού – συντηρητικού και δεν έχει υποστεί καμία επεξεργασία. Ο όγκος του ανά μονάδα είναι περίπου 450-500ml και συντηρείται στους 2-6°C για διάστημα 35 έως 42 ημέρες ανάλογα με το αντιπηκτικό και το θρεπτικό διάλυμα που περιέχεται στον ασκό συλλογής [2,3].

Το πρόσφατο ολικό αίμα διατηρεί για περιορισμένο χρονικό διάστημα όλες του τις ιδιότητες. Κατά τη διάρκεια της συντήρησης οι πρωτεΐνες του πλάσματος όπως οι παράγοντες πήξης καθώς και τα λοιπά κυτταρικά στοιχεία που περιέχονται στο ολικό αίμα χάνουν τη λειτουργικότητά τους σε διαφορετικό χρόνο π.χ. τα αιμοπετάλια σε 12 ώρες και τα ουδετερόφιλα σε 48 ώρες [2].

Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της φύλαξης του ολικού αίματος παρατηρείται μείωση της βιωσιμότητας των ερυθρών, αυξάνεται η συγγένεια της αιμοσφαιρίνης για το O₂, σχηματίζονται μικροσυσσωρεύσεις ερυθρών, απελευθερώνονται ενδοκυττάρια συστατικά όπως το K⁺ και οι πρωτεάσες των λευκοκυττάρων, αυξάνεται η οξύτητα του πλάσματος και ενεργοποιούνται παράγοντες πλάσματος όπως η καλλικρεΐνη [1,2].

Για τους παραπάνω λόγους η χρήση του ολικού αίματος έχει περιοριστεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία. Σήμερα οι ενδείξεις του περιορίζονται μόνο σε αφαιμαξομεταγγίσεις νεογνών και στην παιδιατρική καρδιοχειρουργική. Ενδεχομένως να έχει ένδειξη και σε ασθενείς με οξεία αιμορραγία (απώλεια >25% του όγκου αίματος), αλλά δεν είναι συνήθως διαθέσιμο σε επαρκείς ποσότητες γιατί έχει καθιερωθεί ο διαχωρισμός σε παράγωγα [1,2,3].

Συμπυκνωμένα ερυθρά

Παρασκευάζονται από το ολικό αίμα με την αφαίρεση του πλάσματος μετά τη φυγοκέντρηση του ασκού. Μπορεί επίσης να παραχθούν και με τη διαδικασία της αφαίρεσης ερυθροκυττάρων [1].

Μια μονάδα ΣΕ περιέχει όλα τα ερυθροκύτταρα της αρχικής μονάδας ολικού αίματος και έχει όγκο 250 έως 330ml, ανάλογα με το προσθετικό διάλυμα του ασκού συλλογής. Το μεγαλύτερο μέρος των λευκοκυττάρων και άλλοτε άλλο ποσό αιμοπεταλίων ανάλογα με τη μέθοδο φυγοκέντρησης διατηρείται. Ο αιματοκρίτης αυτού του παραγώγου κυμαίνεται μεταξύ 65%-75%. Κάθε μονάδα ΣΕ πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 45g αιμοσφαιρίνης στο τέλος της διαδικασίας παρασκευής. Διατηρούνται στους 2-6° C για διάστημα 35 έως 42 ημέρες. Σε αυτή τη θερμοκρασία η μεταβολική δραστηριότητα των ερυθρών μειώνεται και συνεπώς παρατείνεται η βιωσιμότητά τους. Υπό αυτές τις συνθήκες τα ΣΕ παραμένουν τόσο σταθερά ώστε να μην παρατηρείται σημαντική αιμόλυση [2,3].

Τα συμπυκνωμένα ερυθρά αποτελούν το βασικό παράγωγο που μεταγγίζεται στις περιπτώσεις που απαιτείται διόρθωση της αναιμίας. Η μεταγγιση μιας μονάδας ΣΕ σε ενήλικα προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης του κατά 1g/dl. Στην κλινική πράξη η αύξηση αυτή ποικίλει ανάλογα και με την επιφάνεια σώματος του ασθενούς, την αιμοσφαιρίνη που περιέχεται στη μονάδα και την ηλικία των ερυθρών. Μπορεί επίσης να επηρεασθεί και από το βασικό νόσημα του μεταγγιζόμενου [3].

Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια

Τα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια (platelet concentrate, PC) μπορούν να παρασκευαστούν με 2 διαφορετικές μεθόδους: με αφαίρεση αιμοπεταλίων από έναν μόνο δότη με τη χρήση ειδικών μηχανημάτων διαχωρισμού κυττάρων (single donor platelets, SDP), και από πρόσφατο ολικό αίμα τυχαίων δοτών (random donor platelets, RDP) με τη μέθοδο του πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος (Platelet Rich Plasma, PRP) ή από τη στιβάδα των λευκοκυττάρων (Buffy Coat, BC). Στις περισσότερες χώρες της Ευρώπης η παρασκευή των RDP γίνεται από τη στιβάδα των λευκοκυττάρων, ενώ στη χώρα μας έχει καθιερωθεί η παρασκευή RDP με τη μέθοδο του πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος. Συντηρούνται στους 20°-24°C υπό συνεχή ανακίνηση για 5 ημέρες. Ανεξάρτητα από τη μέθοδο παρασκευής τα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια έχουν παρόμοια αποτελεσματικότητα [1,2].

Ο αριθμός των περιεχόμενων αιμοπεταλίων ανά ασκό εξαρτάται από τη μέθοδο παρασκευής τους:

- Αιμοπετάλια από μία μονάδα ολικού αίματος τυχαίου δότη: $0.45 - 0.85 \times 10^{11}$ /ανά ασκό,
- Αιμοπετάλια από δεξαμενή BC: ελάχιστη περιεκτικότητα 2.5×10^{11} ,
- Αιμοπετάλια αφαίρεσης: ελάχιστη περιεκτικότητα 3×10^{11} /ανά ασκό.

Τα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια χρησιμοποιούνται για την πρόληψη και τη θεραπεία αιμορραγιών σε ασθενείς με χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων ή όταν αυτά δεν λειτουργούν φυσιολογικά [4].

Μετά μετάγγιση ενός ασκού αιμοπεταλίων από μία μονάδα ολικού αίματος τυχαίου δότη αναμένεται αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων κατά 7-10.000/ μL , ενώ μετά μετάγγιση ενός ασκού αιμοπεταλίων αφαίρεσης 30-40.000/ μL [3].

Το κύριο πλεονέκτημα των PC-SDP είναι η επαρκής συλλογή αιμοπεταλίων από έναν μόνο δότη και συνεπώς η μείωση του κινδύνου μετάδοσης λοιμώξεων και της επίπτωσης της αλλοευαισθητοποίησης. Επιπλέον παρέχεται η δυνατότητα συλλογής αιμοπεταλίων από επιλεγμένους δότες, όπου αυτό κρίνεται απαραίτητο [2].

Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα

Το έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα (FFP) παρασκευάζεται από το ολικό αίμα, μπορεί όμως να συλλεχθεί και με τη διαδικασία της αφαίρεσης από υγιείς δότες με τη χρήση ειδικών μηχανημάτων. Συντηρείται σε συνθήκες ψύξης σε θερμοκρασία στην οποία οι πρωτεΐνες του πλάσματος διατηρούν τη λειτουργικότητά τους, η δε κατάψυξη είναι απαραίτητο να γίνεται εντός καθορισμένου χρόνου από την παρασκευή του. Πιο συγκεκριμένα το έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα διαχωρίζεται από το ολικό αίμα κατά προτίμηση μέσα σε 6 ώρες από την αιμοληψία και καταψύχεται σε θερμοκρασία -30°C εντός μίας ώρας. Σε αυτήν τη θερμοκρασία συντηρείται για 12 μήνες [1,2,3].

Το FFP χρησιμοποιείται κυρίως στις περιπτώσεις που υπάρχει αιμορραγική διάθεση από έλλειψη παραγόντων πήξης, στη θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα και σε περιπτώσεις μαζικής μετάγγισης. Πριν χρησιμοποιηθεί αποψύχεται με ειδική συσκευή στους 37°C και χορηγείται αμέσως μετά την απόψυξη [3,5].

2. Ενδείξεις χορήγησης

Συμπυκνωμένα ερυθρά (ΣΕ)

Η βασική αποστολή των ερυθροκυττάρων είναι η μεταφορά του μοριακού οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς και του CO₂ από τους ιστούς προς τους πνεύμονες. Η αποστολή αυτή επιτυγχάνεται με το κύριο συστατικό των ερυθροκυττάρων, την αιμοσφαιρίνη (Hb), που αποτελεί το 95% του πρωτοπλάσματος του ερυθροκυττάρου. Η μέση φυσιολογική περιεκτικότητα του αίματος σε αιμοσφαιρίνη ανέρχεται στα 16g/dl για τους άνδρες και στα 14g/dl για τις γυναίκες.

Η μετάγγιση ερυθροκυττάρων έχει ως στόχο την επίτευξη επαρκούς οξυγόνωσης στα όργανα και τους ιστούς, σε περιπτώσεις κατά τις οποίες η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης είναι χαμηλή ή/και η ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου μειωμένη, ενώ συγχρόνως φυσιολογικοί μηχανισμοί προσαρμογής στην αναιμία, όπως η αύξηση της καρδιακής παροχής και της αιμάτωσης των στεφανιαίων, ανεπαρκούν.

Η μετάγγιση μίας μονάδας συμπυκνωμένων ερυθρών σε ενήλικα αναμένεται να αυξήσει τη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης κατά 1g/dl και τον αιματοκρίτη κατά 3%. Στα παιδιά η μετάγγιση 5ml/Kg αυξάνει τη συγκέντρωση της Hb επίσης κατά 1g/dl [3].

Η μόνη ένδειξη για μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι η διόρθωση ή η πρόληψη της ιστικής υποξίας. Έτσι η παράμετρος εκλογής που με ακρίβεια μπορεί να καθορίσει την απόφαση για μετάγγιση είναι η ενδοκυττάρια pO₂. Επειδή όμως στην κλινική πράξη αυτό δεν είναι εφικτό η απόφαση για μετάγγιση εξαρτάται εμμέσως από την τιμή της Hb ή του αιματοκρίτη (Hct) και από την εκτίμηση της κλινικής κατάστασης κάθε ασθενούς εξατομικευμένα [3].

Σε ασθενείς με χρόνια αναιμία η χορήγηση ΣΕ ενδείκνυται μόνο επί παρουσίας βαριάς αναιμίας, συμπτωματικής, που δεν θεραπεύεται με άλλο τρόπο [6].

Σε καταστάσεις οξείας αιμορραγίας εξαιρετικά σημαντική είναι η εκτίμηση της κλινικής κατάστασης του ασθενούς, διότι ο υπολογισμός της απώλειας του αίματος είναι συχνά δύσκολος και οι ασθενείς με οξεία αιμορραγία μπορεί να έχουν πλασματικά υψηλές τιμές Hb λόγω αιμοσυμπύκνωσης [6,7,8]

Η ένδειξη για χορήγηση ΣΕ περιεγχειρητικά καθορίζεται από παράγοντες όπως, από τον τύπο και τη διάρκεια της επέμβασης, το ρυθμό της απώλειας του αίματος, την ηλικία του ασθενούς, καθώς και από τη συνύπαρξη καρδιακής ή αναπνευστικής νόσου. Σε ασθενείς με τιμή $Hb \geq 10g/dl$ συνήθως δεν απαιτείται χορήγηση ΣΕ περιεγχειρητικά, σε αντίθεση με τους ασθενείς με τιμή $Hb < 7g/dl$ [6,9,10].

Στα νεογνά η τιμή Hb που χρησιμοποιείται ως όριο για μετάγγιση είναι $10g/dl$, ενώ εάν υπάρχει καρδιοαναπνευστική ανεπάρκεια το πρώτο 24ωρο της ζωής το όριο αυτό ανέρχεται στα $12-13g/dl$ [3].

Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια

Τα ΑΜΠ είναι απύρρηνα κύτταρα που εξέρχονται από το μυελό των οστών με σκοπό την προσκόλληση στο ενδοθήλιο που έχει υποστεί βλάβη και τη συσσώρευσή τους σαν απάντηση στους φυσιολογικούς διεγέρτες όπως θρομβίνη, ADP και κολλαγόνο. Η λειτουργία αυτή είναι σημαντική για τη δημιουργία του αρχικού αιμοστατικού θρόμβου και την επίσχεση της αιμορραγίας. Μετάγγιση συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων ενδείκνυται σε ασθενής με θρομβοπενία ή με πρωτοπαθείς και δευτεροπαθείς λειτουργικές διαταραχές των αιμοπεταλίων. Η μετάγγιση γίνεται προφυλακτικά για τη μείωση του κινδύνου αιμορραγίας απουσία κλινικής αιμορραγίας (προφυλακτική μετάγγιση ΑΜΠ), είτε για τον έλεγχο ενεργού αιμορραγίας

επί παρουσίας αυτής, όταν αυτή αποδίδεται σε έλλειψη αιμοπεταλίων (θεραπευτική μετάγγιση ΑΜΠ) [2,3,11].

Η ανεύρεση χαμηλού αριθμού αιμοπεταλίων σε έναν ασθενή δεν αποτελεί αποκλειστικό κριτήριο ένδειξης μετάγγισης ΑΜΠ. Μεταγγίσεις ΑΜΠ δεν ενδείκνυνται σε κάθε θρομβοπενία, ενώ σε κάποιες αντενδείκνυνται. Πριν από την απόφαση για μετάγγιση ΑΜΠ θα πρέπει να καθοριστεί η αιτία της θρομβοπενίας και να εκτιμηθεί η σχέση όφελος/κίνδυνος. Απόλυτη ένδειξη μετάγγισης ΑΜΠ θεωρείται η παρουσία βαριάς θρομβοπενίας σε συνδυασμό με κλινικά σημαντική αιμορραγία που αποδίδεται στην έλλειψη αιμοπεταλίων [3,11,12].

Η προφυλακτική μετάγγιση αιμοπεταλίων είναι πιθανή και συχνά αδύνατον να αποφευχθεί σε πολύ βαριές περιπτώσεις θρομβοπενίας και έχει ως στόχο την αποτροπή αιμορραγικών εκδηλώσεων διατηρώντας την τιμή των αιμοπεταλίων πάνω από ένα προκαθορισμένο όριο. Σε κλινικά σταθερούς ασθενείς με χρόνια θρομβοπενία συνιστάται συνήθως προφυλακτική μετάγγιση ΑΜΠ με ουδό 10.000/μL, εφόσον δεν συνυπάρχουν παράγοντες όπως πυρετός >38.5°C, σήψη, διαταραχές παραγόντων πήξης, πρόσφατη αιμορραγική εκδήλωση [3,11,12].

Θεραπευτική μετάγγιση αιμοπεταλίων γίνεται για τον έλεγχο ενεργού αιμορραγίας λόγω θρομβοπενίας και/ή λειτουργικής διαταραχής των αιμοπεταλίων. Σε ασθενείς με χρόνια θρομβοπενία θεραπευτική μετάγγιση ΑΜΠ συνιστάται συνήθως και επί ήπιας αιμορραγίας που όμως δεν απαιτεί μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σε ασθενείς με ενεργό αιμορραγία συνιστάται ουδός μετάγγισης αιμοπεταλίων ο αριθμός 75.000/μL, για την εξασφάλιση ορίου ασφαλείας και την πρόληψη πτώσης κάτω των 50.000/μL, δηλαδή του κρίσιμου ορίου για επαρκή αιμόσταση [3,11,12].

Όταν υπάρχει διαταραχή της ακεραιότητας του αγγειακού συστήματος όπως συμβαίνει σε επεμβάσεις ή μετά από τραυματισμό, ο αριθμός των αιμοπεταλίων θα πρέπει να διατηρείται σε αρκετά υψηλότερα επίπεδα, τουλάχιστον 50.000/μL. Μετάγγιση ΑΜΠ σπανίως ενδείκνυται σε θρομβοπενία και μικροαγγειακή αιμορραγία όταν ο αριθμός των ΑΜΠ είναι

>100.000/ μ L, ενώ συνήθως ενδείκνυται επί αριθμού ΑΜΠ<50.000/ μ L. Όταν ο αριθμός των αιμοπεταλίων κυμαίνεται μεταξύ 50.000-100.000/ μ L στην απόφαση για τη μετάγγιση συνεκτιμώνται παράγοντες όπως η έκταση της εγχείρησης/τραύματος, η δυνατότητα ελέγχου της αιμορραγίας με τοπικά μέτρα, η ταχύτητα της αιμορραγίας, η παρουσία λειτουργικής διαταραχής των ΑΜΠ και η συνύπαρξη διαταραχών της πήξης [3,11,12].

Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα (FFP)

Το πλάσμα είναι ένα διαφανές ωχροκίτρινο υγρό που αποτελείται από νερό, άλατα και οργανικές ενώσεις όπως πρωτεΐνες, γλυκόζη, λιπίδια, βιταμίνες και ορμόνες. Με το πλάσμα γίνεται η μεταφορά των ηλεκτρολυτών και των διαφόρων θρεπτικών ουσιών στους ιστούς, η μεταφορά των προϊόντων του μεταβολισμού από τα κύτταρα των ιστών στα απεκκριτικά όργανα, καθώς επίσης και η μεταφορά διαφόρων ουσιών από ένα όργανο σε άλλο (κυρίως στο ήπαρ) για εξουδετέρωση ή μεταβολισμό. Από τις πρωτεΐνες ιδιαίτερη σημασία έχουν οι παράγοντες του μηχανισμού της πήξης οι οποίοι εξασφαλίζουν την πήξη του αίματος όταν τραυματισθεί ένα αγγείο, με αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου που σταματάει οριστικά την αιμορραγία. Το έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα περιέχει φυσιολογικά επίπεδα όλων των σταθερών παραγόντων πήξης, λευκωματίνη, ανοσοσφαιρίνες και τουλάχιστον το 70% της αρχικής ποσότητας του παράγοντα VIII.

Η κύρια ένδειξη χορήγησης έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος είναι η διόρθωση της ανεπάρκειας παραγόντων πήξης για τους οποίους δεν υπάρχει συμπυκνωμένος παράγοντας, σε ασθενείς με αιμορραγία [2].

Γενικά σε ασθενείς με ανεπάρκεια πολλών παραγόντων πήξης η χορήγηση έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος ενδείκνυται όταν ο PT ή/και ο APTT είναι >1.5 από το χρόνο του μάρτυρα και εφόσον υπάρχει αιμορραγία. Στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη όπου παρατηρείται ελάττωση πολλών παραγόντων πήξης, φυσικών ανασταλτών και αιμοπεταλίων λόγω

κατανάλωσης τους η χορήγηση FFP ενδείκνυται σε ασθενείς με έκδηλη αιμορραγία [3,13,14].

Η χορήγηση FFP ενδείκνυται και στη μαζική μετάγγιση. Ως μαζική μετάγγιση ορίζεται η αντικατάσταση του συνολικού αίματος του ασθενούς σε χρόνο μικρότερο των 24 ωρών. Σημαντικό ρόλο για την εξασφάλιση της αιμόστασης σε αυτές τις καταστάσεις παίζουν η διατήρηση του όγκου αίματος με τη χορήγηση υγρών, η αποφυγή υποθερμίας και η αποφυγή οξέωσης. Όταν το ινωδογόνο $<1\text{g/l}$ και υπάρχει παράταση των PT/APTT >1.5 τότε ενδείκνυται η έναρξη χορήγησης FFP. Καλύτερη εκτίμηση της αιμόστασης γίνεται με το θρομβοελαστογράφημα. Όταν δεν υπάρχει η δυνατότητα εργαστηριακής παρακολούθησης και η αιμορραγία είναι διάχυτη συνιστάται χορήγηση FFP [5,13,14].

Σε ασθενείς με ανεπάρκεια μεμονωμένων παραγόντων FFP χορηγείται μόνο στην περίπτωση που δεν υπάρχει διαθέσιμος συμπυκνωμένος παράγοντας σε περίπτωση αιμορραγίας ή για την αποφυγή αιμορραγίας σε χειρουργικές ή άλλες επεμβατικές διαδικασίες [3].

Στη θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα η πλασμαφαίρεση και αντικατάσταση ενός όγκου πλάσματος με FFP μέχρι να επιτευχθεί ύφεση αποτελεί θεραπεία εκλογής [2,3].

3. Λευκαφαίρεση

Η παρουσία των λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα και στα παράγωγα του έχει ενοχοποιηθεί ότι ευθύνεται για διάφορες άμεσες αλλά και απώτερες παρενέργειες στο λήπτη, όπως η πυρετική μη αιμολυτική αντίδραση, η μεταφορά ενδοκυττάρων λοιμογόνων παραγόντων, η αλλοανοσοποίηση στα HLA και στα αιμοπεταλιακά αντιγόνα, και η ανοσοτροποποίηση. Η διαδικασία απομάκρυνσης των λευκών αιμοσφαιρίων από το αίμα και τα παράγωγα του καλείται λευκαφαίρεση και επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικών φίλτρων κατακράτησης λευκών [15].

Η λευκαφαίρεση ξεκίνησε να εφαρμόζεται από τη δεκαετία του 1980 αρχικά στους πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς και κυρίως για την πρόληψη πυρετικών αντιδράσεων. Η επιλεκτική λευκαφαίρεση παραγώγων αίματος σε ασθενείς με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης παρενεργειών από τα λευκά εξακολουθεί να εφαρμόζεται στη χώρα μας. Αντίθετα σε αρκετές χώρες της Ευρώπης, όπως στο Ηνωμένο Βασίλειο, στη Γαλλία, στην Ελβετία και στην Αυστρία εφαρμόζεται από το 1999 η καθολική λευκαφαίρεση, δηλαδή η απομάκρυνση των λευκών αιμοσφαιρίων από όλες τις μονάδες του ολικού αίματος και των παραγώγων του, με κύριο στόχο την πρόληψη της πιθανής μετάδοσης της νόσου Creutzfeld-Jakob αλλά και νέων παθογόνων οργανισμών με τη μετάγγιση [15].

Η επιλεκτική λευκαφαίρεση εφαρμόζεται μετά από την επεξεργασία του ολικού αίματος το διαχωρισμό σε παράγωγα και την αποθήκευση (poststorage). Η απομάκρυνση των λευκών επιτυγχάνεται, είτε με τη χρήση “bedside” (πρακτική που τείνει να εγκαταληφθεί), είτε με τη χρήση ειδικών εργαστηριακών φίλτρων (πρακτική που κυρίως εφαρμόζεται). Οι μονάδες παραγώγων (συνήθως συμπυκνωμένα ερυθρά) που λευκαφαιρούνται εργαστηριακά πρέπει να χορηγούνται εντός 24ώρου και τούτο διότι παραβιάζεται η στειρότητα του ασκού και υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης μικροβίων.

Η καθολική λευκαφαίρεση του ολικού αίματος και των παραγώγων του γίνεται μετά τη συλλογή του από τον αιμοδότη και πριν από την αποθήκευση (prestorage). Ανάλογα με το σύστημα συλλογής που χρησιμοποιείται, είτε λευκαφαιρείται το ολικό αίμα (σε αυτήν την περίπτωση δεν είναι δυνατή η παρασκευή αιμοπεταλίων διότι κατακρατούνται κατά το φιλτράρισμα, εκτός και αν υπάρχει ειδικό φίλτρο), είτε λευκαφαιρούνται τα παράγωγα του ολικού αίματος. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η παρουσία των λευκών αιμοσφαιρίων είναι επιθυμητή για τις πρώτες ώρες μετά τη λήψη του αίματος, αφού μέσω της φαγοκυττάρωσης έχει φανεί ότι μειώνουν την πιθανότητα βακτηριακής επιμόλυνσής του. Έτσι ανεξάρτητα από το σύστημα συλλογής που θα χρησιμοποιηθεί, το φιλτράρισμα θα πρέπει να γίνεται μετά την πάροδο τουλάχιστον 2 ωρών από την αιμοληψία.

Η συγκέντρωση των λευκών στο ολικό αίμα, το είδος του φίλτρου που χρησιμοποιείται, η θερμοκρασία, καθώς και η διάρκεια της λευκαφαίρεσης καθορίζουν την αποτελεσματικότητα του φιλτραρίσματος [15,16,17].

Χαρακτηριστικό των φίλτρων που είναι ενσωματωμένα στα συστήματα συλλογής είναι ότι έχουν μια δικτυωτή επιφάνεια, η οποία είναι φορτισμένη με θετικό ή αρνητικό φορτίο. Στο φορτίο αυτό αποδίδεται η ικανότητα τους να κατακρατούν τα λευκά αιμοσφαίρια, είτε άμεσα λόγω του φορτίου, είτε έμμεσα μέσω της προσκόλλησης τους σε αιμοπετάλια που έχουν κατακρατηθεί. Τα φίλτρα που χρησιμοποιούνται για τη λευκαφαίρεση των αιμοπεταλίων υπόκεινται σε ειδική επεξεργασία ώστε να αποτρέπεται η προσκόλληση των αιμοπεταλίων σε αυτά και να απομακρύνονται μόνον λευκά αιμοσφαίρια [15,17].

Η λευκαφαίρεση, επιλεκτική ή καθολική, απαιτεί την τήρηση αυστηρών προδιαγραφών σε όλα τα στάδια της διαδικασίας. Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της λευκαφαίρεσης διενεργείται ποιοτικός έλεγχος κατά τον οποίο ιδιαίτερη σημασία έχει η μέτρηση των υπολειπόμενων λευκών στα λευκαφαιρεμένα παράγωγα [17].

4. Ακτινοβολήση

Η ακτινοβολήση παραγώγων αίματος γίνεται για την πρόληψη της εμφάνισης της αντίδρασης μοσχεύματος εναντίον ξενιστή μετά μεταγγιση (Ta-GvHD), κυρίως σε ασθενείς που βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή, αλλά και σε ανοσοϊκανά άτομα όταν αυτά μεταγγίζονται με παράγωγα αίματος από HLA απλοταυτόσημους δότες ή ομόζυγους ως προς έναν HLA απλότυπο τους. Η αντίδραση μοσχεύματος εναντίον ξενιστή προκαλείται όταν ανοσοδραστικά λεμφοκύτταρα του δότη εγκαθίστανται, πολλαπλασιάζονται και τελικά στρέφονται εναντίον των κυττάρων του δέκτη. Στόχος της ακτινοβολήσης είναι η αδρανοποίηση και συνεπώς η πρόληψη του πολλαπλασιασμού των μεταγγιζόμενων T-λεμφοκυττάρων. Συνεπώς τα ερυθρά, τα αιμοπετάλια και τα ουδετερόφιλα που πρόκειται να χορηγηθούν σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης της Ta-GvHD πρέπει απαραίτητα να ακτινοβολούνται [3,18].

Η αποτελεσματικότητα της ακτινοβολήσης στηρίζεται στη διαφορά ραδιοευαισθησίας που υπάρχει μεταξύ των λεμφοκυττάρων και των λοιπών κυττάρων του αίματος όπως είναι τα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια. Τα παράγωγα που πρόκειται να ακτινοβοληθούν υποβάλλονται σε δόση τουλάχιστον 25Gy η οποία δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 50Gy. Η δόση αυτή επαρκεί για να αδρανοποιήσει τα λεμφοκύτταρα, χωρίς να επηρεάσει τη λειτουργική ποιότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων [19,20,21].

Τα συμπυκνωμένα ερυθρά ακτινοβολούνται μέχρι 14 ημέρες από τη συλλογή τους και μπορούν να αποθηκευθούν για άλλες 14 ημέρες μετά την ακτινοβολήση. Λόγω της αυξημένης απελευθέρωσης καλίου από τα ερυθρά στις ακτινοβολημένες μονάδες ΣΕ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης συνιστάται η ακτινοβολήση να γίνεται λίγο πριν τη μεταγγιση σε περιπτώσεις ασθενών που κινδυνεύουν από υπερκαλιαιμία, στις ενδομήτριες μεταγγίσεις καθώς επίσης σε μεταγγίσεις νεογνών και παιδιών. Τα αιμοπετάλια

ακτινοβολούνται οποιαδήποτε στιγμή μέσα στο χρόνο των 5 ημερών από τη συλλογή τους και χορηγούνται μέσα στο χρόνο αυτό [3].

Κάθε παράγωγο που πρόκειται να ακτινοβοληθεί σημαίνεται με ειδική ακτινοευαίσθητη ετικέτα, η οποία μετά την ακτινοβολήση αλλάζει χρώμα. Στις ετικέτες αυτές οι οποίες είναι μόνιμες πρέπει να αναγράφεται η ημερομηνία και η δόση της ακτινοβολίας, καθώς και κάθε μείωση της διάρκειας ζωής της μονάδας που ακτινοβολήθηκε [19].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

1. Μορφές Συμπυκνωμένων ερυθρών

Λευκαφαιρεμένα συμπυκνωμένα ερυθρά

Η παρουσία των λευκών αιμοσφαιρίων στις μονάδες ΣΕ είναι δυνατόν να προκαλέσει σημαντικές παρενέργειες στους λήπτες. Σκοπός της απομάκρυνσης των λευκών αιμοσφαιρίων από τα συμπυκνωμένα ερυθρά είναι η αποφυγή εμφάνισης αυτών των παρενεργειών και επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικών φίλτρων κατακράτησης λευκών. Λευκαφαιρεμένα θεωρούνται τα ΣΕ όταν ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων στη μονάδα αίματος είναι μικρότερος από 1×10^6 [2].

Η λευκαφαίρεση των ΣΕ μπορεί να γίνει με δύο τρόπους. Είτε μερικές ώρες μετά την αιμοληψία και πριν το διαχωρισμό του ολικού αίματος σε ερυθρά, πλάσμα και αιμοπετάλια (λευκαφαίρεση πριν τη συντήρηση, pre-storage), είτε πριν από τη μετάγγιση με τη χρήση ειδικών εργαστηριακών φίλτρων (post-storage). Από τις δύο προαναφερθείσες διαδικασίες, η πρώτη, δηλαδή η λευκαφαίρεση πριν την αποθήκευση των ερυθρών, θεωρείται πιο αποτελεσματική και τούτο διότι τα χρησιμοποιούμενα φίλτρα παρουσιάζουν μεγαλύτερο δείκτη κατακράτησης λευκών, και επιπλέον αποφεύγεται με τη διαδικασία αυτή η απελευθέρωση διαφόρων κυτοκινών μέσα στα ΣΕ, οι οποίες μπορεί να είναι επιβλαβείς κατά τη μετάγγιση και οι οποίες προκύπτουν από την απόπτωση και λύση των λευκών αιμοσφαιρίων μέσα στα ΣΕ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης [22, 23,24].

Ακτινοβολημένα συμποκνωμένα ερυθρά

Όπως ήδη ειπώθηκε, στόχος της ακτινοβολήσης των ΣΕ είναι η αδρανοποίηση των λεμφοκυττάρων του δότη, τα οποία είναι δυνατόν να προκαλέσουν αντίδραση μοσχεύματος εναντίον ξενιστή μετά μετάγγιση (TA-GvHD) σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, αλλά και σε ανοσοϊκανά άτομα όταν τα παράγωγα αίματος που λαμβάνουν προέρχονται από HLA απλοταυτούσους δότες ή ομόζυγους ως προς έναν HLA απλότυπο τους. Το TA-GvHD προκαλείται όταν ανοσοδραστικά λεμφοκύτταρα του δότη εγκαθίστανται, πολλαπλασιάζονται και τελικά στρέφονται εναντίον των κυττάρων του δέκτη. Τα ΣΕ ακτινοβολούνται μέχρι 14 ημέρες από τη συλλογή τους, και μπορούν να αποθηκευθούν για άλλες 14 ημέρες μετά την ακτινοβολήση. Οι ακτινοβολημένες μονάδες ΣΕ έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερης αιμοσφαιρίνης, ιόντων Κ και χαμηλότερο ενδοκυττάριο ATP [3,19].

Πλυμένα συμποκνωμένα ερυθρά

Πρόκειται για εναιώρημα ΣΕ από το οποίο έχει αφαιρεθεί το μεγαλύτερο μέρος του πλάσματος, των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων. Παρασκευάζεται από ολικό αίμα με φυγοκέντρηση, απομάκρυνση του πλάσματος και λευκαφαίρεση που ακολουθείται από πλύση των ερυθρών με προσθήκη ψυχρού (+4°C) ισότονου φυσιολογικού ορού και φυγοκέντρηση κατά προτίμηση υπό ψύξη. Τα πλυμένα ΣΕ αποθηκεύονται σε θερμοκρασία +2°C έως +6°C και θα πρέπει να χορηγηθούν εντός 24ώρου, εφόσον έχει παραβιαστεί η ακεραιότητα του συστήματος. Η περιεκτικότητα πρωτεϊνών του πλάσματος στα πλυμένα ΣΕ είναι μικρότερη από 30mg ανά μονάδα. Παρασκευάζονται με σκοπό την πρόληψη των αλλεργικών αντιδράσεων και τη μείωση του κινδύνου υπερκαλιαιμίας από τη μετάγγιση [2,24].

Κρυοσυντηρημένα συμποκνωμένα ερυθρά

Το παράγωγο αυτό παρασκευάζεται από ολικό αίμα του οποίου τα ερυθροκύτταρα έχουν καταψυχθεί μετά από προσθήκη κρυοπροστατευτικού διαλύματος κατά προτίμηση μέσα σε 7 ημέρες από τη συλλογή του αίματος. Τα κρυοσυντηρημένα ΣΕ αποθηκεύονται σε θερμοκρασία από -60°C έως -150°C ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται. Πριν από τη χορήγηση τα κύτταρα αποψύχονται, πλένονται, απομακρύνεται το κρυοπροστατευτικό διάλυμα και προστίθενται σε αυτά ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου ή θρεπτικό διάλυμα. Οι ανασυσταθείσες μονάδες κρυοσυντηρημένων ΣΕ έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του πλάσματος, λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια και κάθε ανασυσταθείσα μονάδα θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 36g αιμοσφαιρίνης [2].

Η παρασκευή αυτού του παραγώγου γίνεται με δύο μεθόδους. Η μια περιλαμβάνει υψηλή συγκέντρωση γλυκερόλης 40% και αποθήκευση σε μηχανικό καταψύκτη σε θερμοκρασία από -60°C έως -80°C , ενώ στην άλλη χρησιμοποιείται χαμηλή συγκέντρωση γλυκερόλης 20% και η αποθήκευση γίνεται σε ατμούς υγρού αζώτου σε θερμοκρασία από -140°C έως -150°C . Ο χρόνος αποθήκευσης μπορεί να παραταθεί έως και 10 χρόνια εάν διασφαλιστεί η διατήρηση της σωστής θερμοκρασίας αποθήκευσης. Μετά την ανασύσταση και την πύση τα ΣΕ φυλάσσονται σε θερμοκρασία $+2^{\circ}\text{C}$ έως $+6^{\circ}\text{C}$ και θα πρέπει να χορηγηθούν εντός 24 ωρών [24].

Η χορήγηση κρυοσυντηρημένων ΣΕ ενδείκνυται μόνο σε ιδιαίτερες περιπτώσεις όπως η διατήρηση αποθεμάτων ερυθροκυττάρων για ασθενείς με σπάνια ομάδα αίματος ή για ασθενείς με πολλαπλά αλλοαντισώματα [3].

2. Μορφές συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων

Ανακτηθέντα αιμοπετάλια

Πρόκειται για συμπυκνωμένα αιμοπετάλια που παρασκευάζονται από ολικό αίμα τυχαίων δοτών με τη μέθοδο του πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος (platelet-rich plasma, PRP) ή από τη στιβάδα των λευκοκυττάρων (Buffy coat, BC).

- Παρασκευή αιμοπεταλίων από πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια

Το ολικό αίμα που λαμβάνεται από τον αιμοδότη φυλάσσεται σε θερμοκρασία από 20°C έως 24°C πριν από την επεξεργασία, η οποία θα πρέπει να έχει ολοκληρωθεί εντός 24 ωρών από την αιμοληψία και περιλαμβάνει δύο διαδοχικές φυγοκεντρήσεις. Η πρώτη φυγοκέντρωση, στην οποία υποβάλλεται η μονάδα ολικού αίματος, έχει ως στόχο ο αριθμός των αιμοπεταλίων στο υπερκείμενο πλάσμα να είναι ο μεγαλύτερος δυνατός. Η μέθοδος εξαρτάται : από την *ταχύτητα* φυγοκέντρωσης (g/min), τη *θερμοκρασία* του αίματος κατά τη φυγοκέντρωση, το *επίπεδο διαχωρισμού* του πλάσματος-ΑΜΠ που θα πρέπει να είναι 8-10mm από την επιφάνεια των ερυθρών και τη *ροή* του πλάσματος που δεν θα πρέπει να είναι αυξημένη τη στιγμή του διαχωρισμού. Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης το υπερκείμενο πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα (PRP) αποχωρίζεται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια και μεταφέρεται σε συνοδό ασκό. Στη συνέχεια το πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα υποβάλλεται σε φυγοκέντρωση υψηλής ταχύτητας, τα αιμοπετάλια καθιζάνουν και το υπερκείμενο πτωχό πλέον σε αιμοπετάλια πλάσμα απομακρύνεται αφήνοντας μια ποσότητα περίπου 50-70ml πλάσματος στην οποία περιέχονται τα αιμοπετάλια. Τα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια παραμένουν στο

περιβάλλον επί μία ώρα ακίνητα για να αποσυνσφρευτούν και στη συνέχεια ανακινείται ο ασκός για να εναιωρηθούν [2].

- Παρασκευή αιμοπεταλίων από τη στιβάδα των λευκοκυττάρων

Το ολικό αίμα που λαμβάνεται από τον αιμοδότη και το οποίο έχει φυλαχθεί σε θερμοκρασία από 20°C έως 24°C φυγοκεντρείται εντός 24 ωρών από την αιμοληψία. Στόχος της φυγοκέντρωσης είναι η καθίζηση των αιμοπεταλίων στη στιβάδα των λευκοκυττάρων. Ακολουθεί ο διαχωρισμός της στιβάδας των λευκοκυττάρων προκειμένου να υποβληθεί σε περαιτέρω επεξεργασία. Στη συνέχεια μεμονωμένες στιβάδες λευκοκυττάρων ή 4-6 στιβάδες λευκοκυττάρων από διαφορετικές μονάδες ολικού αίματος συμβατές μεταξύ τους ως προς το σύστημα ABO, αραιώνονται με πλάσμα ή με κατάλληλο θρεπτικό διάλυμα. Ακολουθεί φυγοκέντρωση μετά το τέλος της οποίας τα αιμοπετάλια παραμένουν στο υπερκείμενο ενώ τα ερυθρά και τα λευκά καθιζάνουν στον πυθμένα του ασκού. Με την τεχνική αυτή είναι δυνατή η παραγωγή ασκού με αριθμό ΑΜΠ >240/ασκό [2].

Αιμοπετάλια αφαίρεσης

Πρόκειται για συμπυκνωμένα αιμοπετάλια που παρασκευάζεται με αφαίρεση αιμοπεταλίων από έναν μόνο δότη με τη χρήση αυτοματοποιημένης διάταξης διαχωρισμού κυττάρων.

Από τον αιμοπεταλιοδότη λαμβάνεται ολικό αίμα στο οποίο προστίθεται αντιπηκτικό διάλυμα, το οποίο περιέχει κιτρικά ιόντα. Ακολουθεί αφαίρεση των αιμοπεταλίων, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά του αίματος επιστρέφονται στον δότη. Το παρασκεύασμα των αιμοπεταλίων αφαίρεσης μπορεί να υποβληθεί σε ένα επιπρόσθετο στάδιο φυγοκέντρωσης ή διήθησης μέσω φίλτρου προκειμένου να μειωθεί ο αριθμός των υπολειπόμενων λευκοκυττάρων. Τα αιμοπετάλια που συλλέγονται με τη μέθοδο της

αφαίρεσης αποθηκεύονται ως εναιώρημα σε πλάσμα ή σε συνδυασμό πλάσματος και κατάλληλου θρεπτικού διαλύματος.

Ανάλογα με το μηχάνημα διαχωρισμού κυττάρων που χρησιμοποιείται και τη μέθοδο παρασκευής, παρατηρείται διακύμανση τόσο στην απόδοση κάθε συνεδρίας αφαίρεσης, όσο και στην ποσότητα των λευκοκυττάρων και των ερυθροκυττάρων που παραμένουν στο τελικό προϊόν [2].

Επιπρόσθετες διαδικασίες επεξεργασίας συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων

Ανεξάρτητα από τη μέθοδο παρασκευής τους, όπως αναφέρθηκε, τα αιμοπετάλια παραμένουν στο περιβάλλον επί μία ώρα ακίνητα για να αποσυσσωρευτούν και στη συνέχεια ανακινείται ο ασκός για εναιωρηθούν. Ακολουθεί η αποθήκευσή τους σε θερμοκρασία 20°-24°C σε ανακινητήρα με βραδεία ανακίνηση, όπου διατηρούνται για 5 ημέρες.

Επιπρόσθετες διαδικασίες κατά την παρασκευή των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων είναι η λευκαφαίρεση, η ακτινοβόληση και το πλύσιμο.

Η λευκαφαίρεση η οποία σε αρκετές Ευρωπαϊκές χώρες είναι υποχρεωτική γίνεται με ειδικά φίλτρα με τα οποία απομακρύνεται πάνω από το 99.5% των λευκοκυττάρων, συνιστάται δε να γίνεται πριν την αποθήκευση. Λευκαφαιρεμένα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια είναι δυνατόν να προκύψουν και κατά την παρασκευή από τη στιβάδα των λευκοκυττάρων όταν οι συνθήκες φυγοκέντρωσης είναι οι βέλτιστες.

Για την ακτινοβόληση των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων η οποία μπορεί να γίνει οποιαδήποτε στιγμή μετά την παρασκευή τους και δεν επηρεάζει το χρόνο ζωής τους χρησιμοποιείται γ-ακτινοβολία σε δόση 25-50 Gy. Η ελάχιστη δόση στο πεδίο ακτινοβόλησης είναι 25 Gy κανένα όμως σημείο του πεδίου δεν πρέπει να εκτεθεί σε ακτινοβολία μεγαλύτερη από 50 Gy [19].

Το πλύσιμο των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων με φυσιολογικό ορό ή άλλο ρυθμιστικό διάλυμα γίνεται για την απομάκρυνση των πρωτεϊνών του πλάσματος. Σε ασθενείς με αντισώματα έναντι της IgA, το πλύσιμο πρέπει να γίνεται τουλάχιστον τρεις φορές ώστε η συγκέντρωση των πρωτεϊνών του πλάσματος να μειωθεί περισσότερο από 3 λογάριθμους [25].

3. Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα

Το πλάσμα που αποτελεί συστατικό του ολικού αίματος και περιλαμβάνει το 50% περίπου του συνολικού όγκου του περιέχει κατά 90% H₂O και κατά 7% πρωτεΐνες. Απ' αυτές το μεγαλύτερο ποσοστό καταλαμβάνει η αλβουμίνη, ενώ οι ανοσοσφαιρίνες αποτελούν περίπου το 15% και οι παράγοντες πήξης λιγότερο από το 1% των πρωτεϊνών του πλάσματος [26].

Ως έγκαιρα ή πρόσφατα κατεψυγμένο πλάσμα χαρακτηρίζεται το πλάσμα που παρασκευάζεται είτε από ολικό αίμα με φυγοκέντρηση, είτε από πλάσμα που συλλέγεται με τη διαδικασία της αφαίρεσης και καταψύχεται μέσα σε καθορισμένο χρονικό διάστημα σε θερμοκρασία στην οποία διατηρείται επαρκώς η λειτουργικότητα των ασταθών παραγόντων της πήξης [27].

Στη χώρα μας το έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα παρασκευάζεται σχεδόν αποκλειστικά από ολικό αίμα. Το ολικό αίμα που λαμβάνεται από τον Αιμοδότη συλλέγεται σε ειδικό σύστημα συλλογής αίματος με συνοδούς ασκούς μεταφοράς και υποβάλλεται σε φυγοκέντρηση υψηλής ταχύτητας. Πριν από τη φυγοκέντρηση μπορεί να προηγηθεί διήθηση του αίματος με φίλτρο ώστε να αφαιρεθούν τα λευκοκύτταρα. Μετά το πέρας της φυγοκέντρησης, τα ερυθροκύτταρα καθιζάνουν στον πυθμένα του ασκού και το υπερκείμενο πλάσμα απομακρύνεται και μεταφέρεται σε συνοδό ασκό. Ακολουθεί η κατάψυξη, η οποία πρέπει να γίνεται εντός 6 έως 8 ωρών από τη συλλογή του αίματος, σε σύστημα που να εξασφαλίζει την πλήρη κατάψυξη του πλάσματος σε θερμοκρασία μικρότερη των -30°C μέσα σε μία ώρα. Στη θερμοκρασία αυτή διατηρείται για 12 μήνες [27,28,29].

Η παρασκευή του έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος μπορεί επίσης να γίνει από ολικό αίμα, το οποίο αμέσως μετά τη συλλογή και μέχρι την ολοκλήρωση της διαδικασίας παρασκευής του FFP διατηρήθηκε για διάστημα όχι μεγαλύτερο των 24 ωρών σε ελεγχόμενη θερμοκρασία περιβάλλοντος 20°-24°C [2].

Το έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα περιέχει σταθερούς παράγοντες πήξης, λευκωματίνη και ανοσοσφαιρίνες στα επίπεδα του φυσιολογικού πλάσματος. Επίσης περιέχει 70 IU παράγοντα VIIIc ανά 100μL και τουλάχιστον παρόμοιες ποσότητες των άλλων ασταθών παραγόντων της πήξης και των φυσικών αναστολέων τους. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διαταραχές της πήξης, ιδιαίτερα σε κλινικές περιπτώσεις με έλλειψη πολλαπλών παραγόντων πήξης [26]. Πριν από τη χρήση αποψύχεται με ειδική συσκευή στους 37°C σε σύντομο χρόνο και χορηγείται αμέσως μετά την απόψυξη. Δεν πρέπει να καταψύχεται ξανά αφού αποψυχθεί.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

1. Έλεγχος ποιότητας παραγώγων-Γενικές αρχές

Κάθε παράγωγο του αίματος θα πρέπει να πληρεί ειδικά ποιοτικά κριτήρια, όπως αυτά προβλέπονται από το Συμβούλιο της Ευρώπης, προκειμένου να παρέχει ασφάλεια και το επιθυμητό κλινικό αποτέλεσμα στον ασθενή. Η διασφάλιση της ποιότητας στα παράγωγα του αίματος προϋποθέτει, αφενός μεν την αυστηρή τήρηση των κατευθυντήριων οδηγιών σε όλα τα στάδια των διαδικασιών, από την επιλογή του αιμοδότη, τη συλλογή του αίματος, την επεξεργασία, την αποθήκευση και τη μεταφορά του, και αφετέρου δε τη διενέργεια ποιοτικού ελέγχου στα παραγόμενα παράγωγα ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

Ο έλεγχος της αρχικής πρώτης ύλης για την παρασκευή παραγώγων υψηλής ποιότητας ξεκινάει από την επιλογή του αιμοδότη, ο οποίος υποβάλλεται σε διαδικασία επιλογής προκειμένου να αξιολογηθεί η καταλληλότητα του. Μεγάλη σημασία θα πρέπει να δίνεται στην ενθάρρυνση της εθελοντικής και μη αμειβόμενης προσφοράς αίματος, όπως αυτή ορίζεται από το Συμβούλιο της Ευρώπης [2]. Είναι γνωστό ότι ο εθελοντής αιμοδότης αποτελεί την ασφαλέστερη πηγή αίματος κυρίως όσον αφορά τη μετάδοση νοσημάτων.

Η συλλογή του αίματος θα πρέπει να γίνεται σε κατάλληλα διαμορφωμένο χώρο, που να ικανοποιεί τις απαιτήσεις όσον αφορά την ασφάλεια και την υγεία των αιμοδοτών και του προσωπικού, και να επιτρέπει

την ελεύθερη πρόσβαση στο σημείο της φλεβοκέντησης. Ιδιαίτερη σημασία πριν από τη φλεβοκέντηση έχει ο έλεγχος των συστημάτων συλλογής για τυχών σημεία φθοράς και η ορθή αποστείρωση της περιοχής που πρόκειται να παρακεντηθεί. Η φλεβική παρακέντηση θα πρέπει να πραγματοποιείται με επιτυχία και να εξασφαλίζεται η σωστή ανάμιξη του αίματος που λαμβάνεται με το αντιπηκτικό που περιέχεται στον ασκό συλλογής, η δε λήψη δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 10 λεπτά.

Οι συνθήκες φύλαξης καθώς και ο χρόνος αποθήκευσης του ολικού αίματος πριν από της επεξεργασία θα καθορίσουν την ποιότητα των παραγώγων. Είναι απαραίτητο να ακολουθούνται οι κατευθυντήριες οδηγίες για την παρασκευή του κάθε παραγώγου, καθώς και του απαραίτητου για το σκοπό αυτό εξοπλισμού (φυγόκεντροι, φίλτρα κ.α.) που θα χρησιμοποιηθεί. Τα συστήματα συλλογής που επιλέγονται με βάση τις ανάγκες σε παράγωγα θα πρέπει να διασφαλίζουν στείρες συνθήκες κατά την επεξεργασία.

Τα παράγωγα μετά την παρασκευή τους αποθηκεύονται στις προβλεπόμενες για το καθένα συνθήκες φύλαξης σε χώρους που πληρούν τις προδιαγραφές και ελέγχονται συνεχώς, η δε μεταφορά τους θα πρέπει να γίνεται σε επικυρωμένες συνθήκες θερμοκρασίας και χειρισμών.

Ο έλεγχος ποιότητας περιλαμβάνει όλες εκείνες τις ενέργειες και δοκιμασίες με τις οποίες εξετάζεται και επιβεβαιώνεται ότι όλα τα χρησιμοποιούμενα υλικά και οι διαδικασίες που εφαρμόζονται πληρούν τις απαιτούμενες προδιαγραφές. Οι εργαστηριακές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των παραγώγων θα πρέπει να είναι πλήρως τυποποιημένες.

Η έλλειψη ακρίβειας κατά την εκτέλεση των διαδικασιών, καθώς και οι άστοχοι χειρισμοί κατά την επεξεργασία του αίματος έχουν ως συνέπεια αποκλίσεις από τις ελάχιστες απαιτήσεις ποιότητας. Για το λόγο αυτό είναι σημαντικό να υπάρχει επάρκεια προσωπικού, το οποίο να διαθέτει τα κατάλληλα τυπικά προσόντα και την κατάλληλη εκπαίδευση για την επιτέλεση των όλων των επιμέρους διαδικασιών.

2. Ερυθρά αιμοσφαίρια

Ο έλεγχος ποιότητας των ερυθρών αιμοσφαιρίων έχει ως στόχο τη συνεχή παροχή άριστου προϊόντος και την αποφυγή παρασκευής «κακής» ποιότητας ερυθρών αιμοσφαιρίων, συνεπώς είναι απαραίτητος προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια αλλά και η αποτελεσματικότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Για την εξασφάλιση ποιότητας απαιτούνται βασικώς: α) εγχειρίδιο για την ποιοτική παρασκευή, β) διαδικασίες εργασίας παραγωγής, γ) τήρηση αρχείων προτύπων, προδιαγραφών [2,30].

Το πρόγραμμα εφαρμογής ενός ποιοτικού συστήματος περιλαμβάνει όλα τα στάδια της διαδικασίας, από την ενημέρωση του κόσμου σχετικά με την αιμοδοσία και την επιλογή των κατάλληλων αιμοδοτών ως την παράδοση όσο το δυνατό ασφαλέστερου αίματος στον ασθενή.

Παράγοντες που σχετίζονται με την ποιότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων [2,30,31,32,33]:

- 1) Η επιλογή του κατάλληλου αιμοδότη
- 2) Η συλλογή του αίματος σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες και η σήμανσή του
- 3) Η επιλογή των συστημάτων συλλογής ολικού αίματος ανάλογα με τις ανάγκες των κλινικών τμημάτων
- 4) Η σήμανση και η καταχώρηση στο ηλεκτρονικό σύστημα
- 5) Η διενέργεια των προκαθορισμένων υποχρεωτικών ελέγχων (ομάδα, Rhesus, φαινότυποι, μεταδιδόμενα νοσήματα)
- 6) Η παρασκευή συμπυκνωμένων ερυθρών σύμφωνα πάντα με τις κατευθυντήριες οδηγίες που ισχύουν τόσο για αυτά όσο και για τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται (ψυκτικές φυγόκεντροι, φίλτρα κ.α.)
- 7) Η αποθήκευση και συντήρηση των συμπυκνωμένων ερυθρών στις προβλεπόμενες συνθήκες, καθώς και το χρονικό διάστημα της φύλαξης τους

- 8) Ο συγκεκριμένος ποιοτικός έλεγχος των συμπυκνωμένων ερυθρών που παρασκευάζονται
- 9) Ο έλεγχος των ψυγείων αποθήκευσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων
- 10) Ο έλεγχος της απόδοσης των μεταγγιζόμενων συμπυκνωμένων ερυθρών μετά από κλινικοεργαστηριακή εκτίμηση του ασθενούς
- 11) Η αναζήτηση, η καταγραφή και διερεύνηση μιας ενδεχόμενης αντίδρασης κατά ή μετά τη μετάγγιση των συμπυκνωμένων ερυθρών
- 12) Η διακίνηση και μεταφορά των συμπυκνωμένων ερυθρών.

Από τους προαναφερθέντες παράγοντες που καθορίζουν την ποιότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αυτοί που σχετίζονται με τον τρόπο παρασκευής είναι οι 3) και 6).

Οι κατευθυντήριες οδηγίες για τον ποιοτικό έλεγχο των ερυθρών αιμοσφαιρίων έχουν καταγραφεί από επίσημους Διεθνείς οργανισμούς, όπως οι AABB, FDA, Συμβούλιο της Ευρώπης κ.α.[2,31,32,33]. Στη χώρα μας ισχύουν και οφείλουν να ακολουθούνται οι κατευθυντήριες οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης.

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των συμπυκνωμένων ερυθρών που εξαρτώνται από τον τρόπο παρασκευής και το σύστημα συλλογής παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Ποιοτικά χαρακτηριστικά ΣΕ σχετικά με τον όγκο και την περιεκτικότητα σε Hb και λευκά αιμοσφαίρια [2]			
Ερυθροκύτταρα	Αιμοσφαιρίνη¹	Λευκά αιμοσφαίρια²	Όγκος³
Ερυθροκύτταρα μετά από αφαίρεση της στιβάδας των λευκοκυττάρων	Τουλάχιστον 43g/μονάδα	<1.2×10 ⁹ /μονάδα	250±50mL
Πλυμένα ερυθροκύτταρα	40g/μονάδα		Καθορίζεται ανάλογα με το σύστημα που χρησιμοποιείται
Ερυθροκύτταρα μετά από λευκαφαίρεση	Τουλάχιστον 40g/μονάδα	<1×10 ⁶ /μονάδα	Καθορίζεται ανάλογα με το σύστημα που χρησιμοποιείται
Ερυθροκύτταρα, λευκαφαιρεμένα, με προσθετικό διάλυμα	Τουλάχιστον 40g/μονάδα	<1×10 ⁶ /μονάδα με μέτρηση	Καθορίζεται ανάλογα με το σύστημα που χρησιμοποιείται

¹Ελέγχεται στο 1% όλων των μονάδων και σε τουλάχιστον 4 μονάδες το μήνα. Στα πλυμένα ερυθροκύτταρα ελέγχονται όλες οι μονάδες.

²Ελέγχονται στο 1% όλων των μονάδων και σε τουλάχιστον 4 μονάδες το μήνα.

³Ελέγχεται στο 1% όλων των μονάδων. Στα πλυμένα ερυθροκύτταρα ελέγχονται όλες οι μονάδες.

3. Έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα

Ο ποιοτικός έλεγχος του έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος (FFP) βασίζεται κατά κύριο λόγο στη μέτρηση των επιπέδων του παράγοντα FVIII καθώς αυτός αποτελεί την πλέον ασταθή από τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του συμβουλίου της Ευρώπης τα επίπεδα του παράγοντα VIII θα πρέπει να είναι μεγαλύτερα από 0.70 IU/ml και προκειμένου να επιτευχθεί αυτό απαιτείται το πλάσμα να έχει διαχωριστεί από το ολικό αίμα και να έχει καταψυχθεί εντός 6 ωρών και οπωσδήποτε όχι πέραν των 18 ωρών από τη συλλογή. Ωστόσο οι οδηγίες του συμβουλίου της Ευρώπης επιτρέπουν επίσης την ταχεία κατάψυξη πλάσματος που προέρχεται από ολικό αίμα το οποίο έχει φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου 20°C-24°C για διάστημα όχι μεγαλύτερο των 24 ωρών [34].

Η ποιότητα του πλάσματος εξαρτάται και από παράγοντες που σχετίζονται με τη διαδικασία συλλογής του αίματος και την επεξεργασία, όπως τη φλεβοκέντηση, την επιλογή του αντιπηκτικού, το χρόνο και τις συνθήκες φύλαξης του αίματος πριν το διαχωρισμό, τη φυγοκέντρηση, τη μείωση των κυτταρικών προσμίξεων στο πλάσμα και τη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης [34,35,36,37,38].

Παράγοντες που σχετίζονται με την ποιότητα του πλάσματος και εξαρτώνται από το σύστημα συλλογής και τον τρόπο παρασκευής

- Αντιπηκτικό διάλυμα

Τα αντιπηκτικά διαλύματα που περιέχονται στους ασκούς συλλογής αίματος αναπτύχθηκαν αφενός μεν για να εξασφαλίζουν την αναστολή του μηχανισμού της πήξης και αφετέρου δε για να επιτρέπουν την αποθήκευση του αίματος για κάποιο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Όλα τα αντιπηκτικά διαλύματα που χρησιμοποιούνται περιέχουν κιτρικό νάτριο,

κιτρικό οξύ, και γλυκόζη (δεξτρόζη), ενώ κάποια περιέχουν φωσφορικά και αδενίνη. Το κιτρικό νάτριο αναστέλλει το μηχανισμό της πήξης δεσμεύοντας ιόντα ασβεστίου. Με τη γλυκόζη και την αδενίνη που αποτελούν θρεπτικά υλικά των κυττάρων επιτυγχάνεται η διατήρηση των επιπέδων του ATP. Το κιτρικό οξύ ρυθμίζει το pH, ενώ τα φωσφορικά συμβάλλουν στην απόδοση υψηλών επιπέδων 2,3-DPG στα ερυθρά κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους.

Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες η ποιότητα του FFP έχει άμεση σχέση με τα επίπεδα του παράγοντα VIII. Η συγκέντρωση των κιτρικών καθώς και ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της συλλογής του ολικού αίματος και της επεξεργασίας του για την παρασκευή του έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος, επηρεάζουν τη δραστικότητα του FVIII. Έχει αποδειχθεί ότι μειώνοντας τη συγκέντρωση των κιτρικών στο 50% βελτιώνεται η δραστικότητα του FVIII στο πλάσμα. Ωστόσο παρά τη βελτίωση της σταθερότητας του FVIII, αλλά και την ελάττωση της επιβάρυνσης του ασθενούς, υπάρχει μια επιφυλακτικότητα στην παρασκευή και τη χρήση πλάσματος που προέρχεται από συλλογή αίματος με μειωμένα κιτρικά, και τούτο διότι δεν υπάρχουν σχετικές μελέτες που να αποδεικνύουν ότι η μείωση της συγκέντρωσης των κιτρικών στο αντιπηκτικό δεν θα έχει αρνητικές επιπτώσεις στα προϊόντα κλασματοποίησης.

- Κυτταρικές προσμίξεις στο πλάσμα

Η πρόσμιξη λευκοκυττάρων στο πλάσμα έχει ενοχοποιηθεί ότι ευθύνεται για διάφορες ανεπιθύμητες αντιδράσεις στο λήπτη κατά τη μετάγγιση. Η απομάκρυνση των λευκών με τη χρήση ειδικών φίλτρων προσέφερε σημαντικά κλινικά πλεονεκτήματα. Ωστόσο από το υλικό των φίλτρων ήταν αναμενόμενος ένας βαθμός ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Επιπλέον δεν θα μπορούσε να αποκλειστεί κάποιος βαθμός ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης, αλλά και ενεργοποίηση των πολυμορφοπυρήνων και μονοκυττάρων. Μια ενδεχόμενη ενεργοποίηση των

πολυμορφοπυρήνων μπορεί να οδηγήσει σε απελευθέρωση ενζύμων και σχηματισμό ριζών οξυγόνου με αποτέλεσμα την αλλοίωση των πρωτεϊνών. Για τους λόγους αυτούς πολλοί υποστηρίζουν ότι η λευκαφαίρεση του πλάσματος δεν είναι απαραίτητη. Ωστόσο όταν γίνεται θα πρέπει για κάθε νέο φίλτρο ή σύστημα παρασκευής να καθορίζονται οι ιδανικές συνθήκες για την όσο το δυνατόν μικρότερη ενεργοποίηση του συμπληρώματος κατά τη διαδικασία της λευκαφαίρεσης, ώστε να αποφεύγονται ανεπιθύμητες αντιδράσεις.

- Αποθήκευση ολικού αίματος πριν το διαχωρισμό

Η σταθερότητα των παραγόντων πήξης στο ολικό αίμα επηρεάζεται από τη θερμοκρασία αποθήκευσης αλλά και από το χρόνο που μεσολαβεί μέχρι τον αποχωρισμό των παραγόντων. Υπενθυμίζεται ότι οι κατευθυντήριες οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης προβλέπουν ο διαχωρισμός του πλάσματος από το ολικό αίμα και η κατάψυξη του να έχουν ολοκληρωθεί εντός 6 ωρών και όχι πέραν των 18 ωρών από τη συλλογή. Ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις και ανάλογα με το σύστημα συλλογής που χρησιμοποιείται ο ασκός του ολικού αίματος μπορεί να παραμείνει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20°C-24°C) έως και 24 ώρες πριν την επεξεργασία για την παρασκευή FFP.

- Συνθήκες ψύξης και συντήρησης

Το κρίσιμο βήμα για την ποιότητα του έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος, παρότι δεν εξαρτάται από το σύστημα συλλογής και τον τρόπο παρασκευής, αποτελεί η κατάψυξη καθότι επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα του παράγοντα VIII. Σύμφωνα με τις οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης για να επιτευχθεί η υψηλότερη δυνατή συγκέντρωση παράγοντα VIII στο έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα αυτό θα πρέπει να καταψύχεται στους -30°C ή και χαμηλότερα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Όταν κατά την κατάψυξη η

στερεοποίηση του πλάσματος διαρκεί περισσότερο από μία ώρα προκαλούνται απώλειες του παράγοντα VIII. Για το λόγο αυτό συστήνεται ο χρόνος κατάψυξης να είναι 60min ή και μικρότερος. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση συστημάτων ταχείας ψύξης που χρησιμοποιούν ψυχρό αέρα με μεγάλη ταχύτητα.

Η σταθερότητα του FFP κατά την αποθήκευση εξαρτάται από τη διαθέσιμη θερμοκρασία αποθήκευσης. Η βέλτιστη αποθήκευση επιτυγχάνεται σε θερμοκρασία ίση ή χαμηλότερη από τους -25°C . Οι Ευρωπαϊκές οδηγίες επιτρέπουν τη συντήρηση του FFP σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από -25°C για 24 μήνες.

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος που εξαρτώνται από τον τρόπο παρασκευής και το σύστημα συλλογής παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 2.)

Πίνακας 2. Ποιοτικά χαρακτηριστικά FFP που εξαρτώνται από το σύστημα συλλογής και τον τρόπο παρασκευής [2]			
Παράμετρος που ελέγχεται	Απαιτήσεις ποιότητας (προδιαγραφές)	Συχνότητα ελέγχου	Ο έλεγχος γίνεται από
Όγκος	Αναφερόμενος όγκος $\pm 10\%$	Όλες οι μονάδες	Εργαστήριο επεξεργασίας
Παράγοντας VIII	Μέση περιεκτικότητα (μετά την κατάψυξη και την απόψυξη): ≥ 70 IU παράγοντα VIII ανά 100mL	Κάθε τρεις μήνες 10 μονάδες στον πρώτο μήνα αποθήκευσης ¹	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας
Υπολειπόμενα κύτταρα ²	Ερυθροκύτταρα: $<6.0 \times 10^9$ /L Λευκοκύτταρα: $<0.1 \times 10^9$ /L Αιμοπετάλια: $<50 \times 10^9$ /L Εάν έχει γίνει λευκαφαίρεση: $<1 \times 10^6$	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 4 μονάδες κάθε μήνα 1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 4 μονάδες κάθε μήνα ³	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας
Διαρροή	Απουσία διαρροής από οποιοδήποτε σημείο του περιέκτη π.χ. οπτικός έλεγχος μετά από εφαρμογή πίεσης σε διάταξη έκθλιψης πλάσματος, πριν την κατάψυξη και μετά την απόψυξη	Όλες οι μονάδες	Εργαστήριο επεξεργασίας και παραλαβής
Ορατές αλλοιώσεις	Απουσία χρωματικών αλλοιώσεων ή ορατών θρόμβων	Όλες οι μονάδες	Εργαστήριο επεξεργασίας και παραλαβής

¹Ο ακριβής αριθμός των μονάδων που θα ελεγχθούν θα μπορούσε να προσδιοριστεί με στατιστικό έλεγχο διαδικασίας.

²Η μέτρηση των κυττάρων πρέπει να γίνεται πριν από την κατάψυξη.

³Θα θεωρείται ότι πληρείται αυτή η απαίτηση όταν το 90% όλων των μονάδων που ελέγχθηκαν εμπίπτουν μέσα στις τιμές που υποδεικνύονται.

4. Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια

Ο τακτικός έλεγχος ποιότητας σε καθορισμένα στάδια της επεξεργασίας έχει εξαιρετική σημασία. Όσον αφορά τις απαιτήσεις του ελέγχου ποιότητας των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων ισχύει ότι και για τα ερυθρά αιμοσφαίρια με τις προσθήκες που υποδεικνύονται στον πίνακα 3 για τα αιμοπετάλια αφαίρεσης και στον πίνακα 4 για τα ανακτηθέντα αιμοπετάλια [39,40].

Υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες για τον αριθμό των μονάδων που πρέπει να ελέγχονται κατά τον ποιοτικό έλεγχο καθώς και ειδικές απαιτήσεις ποιότητας για το εύρος του όγκου, τον αριθμό των αιμοπεταλίων ανά μονάδα, τον αριθμό των υπολειπόμενων λευκοκυττάρων και το pH. Σύμφωνα με τις οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης ο όγκος πρέπει να ελέγχεται σε όλες τις παραγόμενες μονάδες, ενώ οι άλλες παράμετροι που προαναφέρθηκαν πρέπει να ελέγχονται στο 1% των μονάδων που παράγονται. Ο όγκος, καθώς και ο αριθμός των αιμοπεταλίων και των υπολειπόμενων λευκών κάθε μονάδας εξαρτώνται σε σημαντικό βαθμό από το σύστημα συλλογής και από τον τρόπο παρασκευής [39].

Η λήψη δειγμάτων για τον ποιοτικό έλεγχο γίνεται 1 ώρα μετά την παρασκευή των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων. Το δείγμα λαμβάνεται χωρίς να παραβιάζεται η στείριότητα του ασκού από το δορυφορικό σωληνάριο δειγματοληψίας που είναι συγκολλημένο στον ασκό των αιμοπεταλίων.

Κατά τη διάρκεια της παρασκευής και επεξεργασίας αλλά και πριν από τη χορήγησή τους, όλες οι μονάδες συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων πρέπει να ελέγχονται οπτικά. Η ύπαρξη ενδείξεων διαρροής, ελαττώματος του ασκού, δυσχρωμιών και συσσωρευμάτων όπως επίσης και η απουσία του φαινομένου της περιδίνησης καθιστούν τη μονάδα ακατάλληλη προς χρήση. Το φαινόμενο της περιδίνησης βασίζεται στη σκέδαση του φωτός από αιμοπετάλια που έχουν φυσιολογική μορφολογία και βρίσκονται σε κίνηση και εξαφανίζεται όταν ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι μικρός ή όταν αυτά χάνουν το φυσιολογικό δισκοειδές τους σχήμα.

Σε ορισμένες δοκιμασίες ποιοτικού ελέγχου υποβάλλονται και μονάδες συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων που έχουν λήξει για την εκτίμηση του pH και του αριθμού των αιμοπεταλίων μετά τη συντήρηση. Οι μονάδες που έχουν λήξει φυλάσσονται στις προβλεπόμενες συνθήκες θερμοκρασίας και ανακίνησης μέχρι να ολοκληρωθεί ο έλεγχος, ο οποίος δεν πρέπει να πραγματοποιείται μετά την 6^η ημέρα.

Σε ορισμένες από τις μονάδες που έχουν λήξει θα πρέπει να γίνεται και έλεγχος για βακτηριδιακή επιμόλυνση. Το αρνητικό αποτέλεσμα υποδηλώνει ότι δεν έχει παραβιαστεί η στείριότητα του κλειστού συστήματος κατά τη διαδικασία παρασκευής. Επί θετικού αποτελέσματος απαιτείται διερεύνηση προκειμένου να εντοπιστεί πιθανό πρόβλημα και να γίνουν οι κατάλληλες διορθωτικές ενέργειες. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η βακτηριδιακή επιμόλυνση παρατηρείται συχνότερα στα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια σε σχέση με τα συμπυκνωμένα ερυθρά και τούτο διότι οι προβλεπόμενες συνθήκες θερμοκρασίας φύλαξής τους καθιστούν ευνοϊκή την ανάπτυξη και των πολλαπλασιασμό των βακτηριδίων. Έλεγχος για βακτηριδιακή επιμόλυνση θα μπορούσε να γίνει και σε όλες τις παραγόμενες μονάδες συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων χωρίς να παραβιαστεί η στείριότητα του κλειστού συστήματος, θα είχε όμως αυξημένο κόστος και θα απαιτούσε πολύ χρόνο. Σύμφωνα με τις οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης τα ποσοστά της βακτηριδιακής επιμόλυνσης στα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια θα πρέπει να καθορίζονται από τις Υπηρεσίες Αιμοδοσίας τουλάχιστον σε ετήσια βάση. Για το σκοπό αυτό θα πρέπει να καλλιεργούνται περίπου 30 μονάδες την εβδομάδα ή το 5% των μονάδων που χορηγούνται μετά από αποθήκευση 48 ωρών. Το ποσοστό της βακτηριδιακής επιμόλυνσης δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0.2%.

Οι συνθήκες αποθήκευσης των αιμοπεταλίων θα πρέπει να διασφαλίζουν τη διατήρηση της βιωσιμότητας και την αιμοστατική τους δράση στο βέλτιστο δυνατό βαθμό.

Οι πλαστικοί ασκοί αποθήκευσης των αιμοπεταλίων θα πρέπει να είναι επαρκώς διαπερατοί από τον αέρα, έτσι ώστε να διασφαλίζεται η

διαθεσιμότητα οξυγόνου στα αιμοπετάλια. Η ποσότητα οξυγόνου που απαιτείται εξαρτάται από τον αριθμό των αιμοπεταλίων που περιέχονται στον ασκό. Οι συνθήκες αποθήκευσης θεωρούνται αποδεκτές όταν η συγκέντρωση των αιμοπεταλίων είναι $<1.5 \times 10^9/\text{ml}$ και το pH του προϊόντος διατηρείται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης συνεχώς μεταξύ 6.4–7.4. Με τη βελτίωση της τεχνολογίας των ασκών αποθήκευσης αιμοπεταλίων και τη βελτιστοποίηση των συνθηκών παρασκευής και αποθήκευσης των αιμοπεταλίων είναι δυνατό να επιτευχθεί αποδεκτή *in vivo* ανάκτηση αιμοπεταλίων μετά τη μετάγγιση ακόμα και με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων και με τιμές pH μικρότερες από 6.4 ή μεγαλύτερες από 7.4.

Η ανακίνηση των αιμοπεταλίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης πρέπει να είναι αρκετά αποδοτική ώστε να διασφαλίζει επαρκή διαθεσιμότητα οξυγόνου, ενώ πρέπει να παραμένει όσο το δυνατό πιο ήπια.

Αν διασφαλιστούν οι βέλτιστες συνθήκες αποθήκευσης τα αιμοπετάλια διατηρούνται βιώσιμα για 7 ημέρες. Δεν συνίσταται ωστόσο η αποθήκευση των αιμοπεταλίων για περισσότερο από 5 ημέρες, εκτός αν η απουσία βακτηριακής επιμόλυνσης διασφαλίζεται με κάποιο επικυρωμένο σύστημα ελέγχου.

Η ποιότητα των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων κατά τη διάρκεια της συντήρησης εξαρτάται από την ανάκτηση και επιβίωση τους μετά τη μετάγγιση σε θρομβοπενικούς ασθενείς. Όταν μετά την πάροδο μίας ώρας από τη μετάγγιση ο δείκτης διόρθωσης των αιμοπεταλίων (Corrected count increment, CCI) κυμαίνεται μεταξύ 10.000-20.000 τότε η απάντηση θεωρείται καλή. Αντίθετα CCI χαμηλότερο από 7.500 υποδηλώνει φτωχή απάντηση και αστοχία της μετάγγισης σε ασθενή που δεν έχει ανθεκτικότητα [3]. Υπενθυμίζεται ότι ο CCI υπολογίζεται από τον τύπο [3]:

$$\text{Δόση AMΠ } (\times 10^{11}) = \text{PI} \times \text{BV} \times 1.5/100$$

PI: στόχος αύξησης AMΠ

BV: όγκος αίματος ασθενούς (επιφάνεια σώματος σε $\text{m}^2 \times 2.5$ ή βάρος σώματος σε kg $\times 0.8$)

1.5: συντελεστής διόρθωσης για τον σπληνικό εγκλωβισμό

Πίνακας 3. Ποιοτικά χαρακτηριστικά αιμοπεταλίων αφαίρεσης που εξαρτώνται από τον τρόπο παρασκευής [2]			
Παράμετρος που ελέγχεται	Απαιτήσεις ποιότητας (προδιαγραφές)	Συχνότητα ελέγχου	Ο έλεγχος γίνεται από
Όγκος	>40 ml ανά 60×10^9 αιμοπετάλια	Όλες οι μονάδες	Εργαστήριο επεξεργασίας
Αριθμός αιμοπεταλίων	Πρότυπη μονάδα: τουλάχιστον 2×10^{11} ανά μονάδα Για χρήση σε νεογνά και βρέφη: τουλάχιστον 0.5×10^{11} ανά μονάδα	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 10 μονάδες κάθε μήνα	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας
Υπολειπόμενα λευκοκύτταρα ¹	$<0.3 \times 10^9$ ανά μονάδα	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 10 μονάδες κάθε μήνα	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας
Μετρούμενο pH (+22°C) στο τέλος της συνιστώμενης διάρκειας αποθήκευσης ²	>6.4	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 4 μονάδες κάθε μήνα	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας

¹Αυτές οι απαιτήσεις θεωρείται ότι ικανοποιούνται εάν το 90% των μονάδων που εξετάζονται δίνουν αποτελέσματα που εμπίπτουν εντός των ορίων που υποδεικνύονται.

²Προτιμάται η μέτρηση του pH σε κλειστό σύστημα έτσι ώστε να αποφευχθεί η διαφυγή CO₂. Η μέτρηση μπορεί να γίνει σε άλλη θερμοκρασία και το αποτέλεσμα να αναχθεί σε θερμοκρασία +22°C με τους κατάλληλους υπολογισμούς.

Πίνακας 4. Ποιοτικά χαρακτηριστικά ανακτηθέντων αιμοπεταλίων που εξαρτώνται από τον τρόπο παρασκευής [2]			
Παράμετρος που ελέγχεται	Απαιτήσεις ποιότητας (προδιαγραφές)	Συχνότητα ελέγχου	Ο έλεγχος γίνεται από
Όγκος	>40 ml ανά 60×10^9 αιμοπετάλια	Όλες οι μονάδες	Εργαστήριο επεξεργασίας
Αριθμός αιμοπεταλίων ανά τελική μονάδα ¹	$>60 \times 10^9$	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 10 μονάδες κάθε μήνα	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας
Υπολειπόμενα λευκοκύτταρα ανά τελική μονάδα ² i. Παρασκευή από πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια ii. Παρασκευή από στιβάδα λευκοκυττάρων	$<0.2 \times 10^9$ $<0.05 \times 10^9$	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 10 μονάδες κάθε μήνα	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας
Μετρούμενο pH (+22°C) στο τέλος της συνιστώμενης διάρκειας αποθήκευσης ³	>6.4	1% όλων των μονάδων, τουλάχιστον 4 μονάδες κάθε μήνα	Εργαστήριο ελέγχου ποιότητας

¹Αυτές οι απαιτήσεις θεωρείται ότι ικανοποιούνται εάν το 75% των μονάδων που εξετάζονται δίνουν αποτελέσματα που εμπίπτουν εντός των ορίων που υποδεικνύονται.

²Αυτές οι απαιτήσεις θεωρείται ότι ικανοποιούνται εάν το 90% των μονάδων που εξετάζονται δίνουν αποτελέσματα που εμπίπτουν εντός των ορίων που υποδεικνύονται.

³Προτιμάται η μέτρηση του pH σε κλειστό σύστημα έτσι ώστε να αποφευχθεί η διαφυγή CO₂. Η μέτρηση μπορεί να γίνει σε άλλη θερμοκρασία και το αποτέλεσμα να αναχθεί σε θερμοκρασία +22°C με τους κατάλληλους υπολογισμούς.

ΕΙΔΙΚΕΣ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ [2,39]

1. Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια από πρόσφατο ολικό αίμα τυχαίων δοτών
Τουλάχιστον το 75% των μονάδων που εξετάζονται κατά τον ποιοτικό έλεγχο θα πρέπει να περιέχουν $0.45-0.85 \times 10^{11}$ αιμοπετάλια σε 50–60ml πλάσματος ή διαλύματος εναιώρησης. Σε κάθε μονάδα συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων ο αριθμός των υπολειπόμενων λευκοκυττάρων θα πρέπει να είναι μικρότερος από 0.2×10^9 όταν πρόκειται για αιμοπετάλια που παρασκευάζονται από ολικό αίμα τυχαίων δοτών, και μικρότερος από 0.05×10^9 όταν πρόκειται για αιμοπετάλια που προέρχονται από τη στιβάδα των λευκοκυττάρων. Ο όγκος του πλάσματος ή του διαλύματος εναιώρησης θα πρέπει να είναι τόσοσ ώστε να εξασφαλίζεται κατά τη διάρκεια της συντήρησης η διατήρηση του pH μεταξύ 6.4 έως 7.4.
2. Pool- συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων από στιβάδες λευκοκυττάρων.
Προκύπτουν από συνένωση 4 έως 8 στιβάδων λευκοκυττάρων που προέρχονται από διαφορετικές μονάδες ολικού αίματος και πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον 2.5×10^{11} αιμοπετάλια. Οι μεμονωμένες μονάδες που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι συμβατές μεταξύ τους ως προς το σύστημα ABO. Μετά την προσθήκη πλάσματος ή κατάλληλου θρεπτικού διαλύματος ακολουθεί φυγοκέντρηση στο τέλος της οποίας ο αριθμός των υπολειπόμενων λευκοκυττάρων θα πρέπει να είναι μικρότερος από 0.05×10^9 για κάθε μεμονωμένη μονάδα.
3. Συμπυκνωμένα αιμοπετάλια αφαίρεσης.
Σε κάθε ασκό αφαίρεσης ο αριθμός των αιμοπεταλίων θα πρέπει να είναι $>2 \times 10^{11}$. Το 75% των μονάδων που υποβάλλονται σε ποιοτικό έλεγχο θα πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον 3×10^{11} αιμοπετάλια. Ο όγκος του πλάσματος ή του διαλύματος εναιώρησης θα πρέπει να είναι

τόσος ώστε να διατηρείται κατά τη διάρκεια της συντήρησης το pH μεταξύ 6.4 έως 7.4. Εάν έχουν παρασκευασθεί σε κλειστό κύκλωμα διατηρούνται στις προβλεπόμενες συνθήκες για διάστημα που εξαρτάται από τον ασκό συλλογής αλλά δεν υπερβαίνει τις 5 ημέρες. Ο αριθμός των υπολειπόμενων λευκοκυττάρων θα πρέπει να είναι μικρότερος από 1.0×10^6 στο 90% των μονάδων που ελέγχονται.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

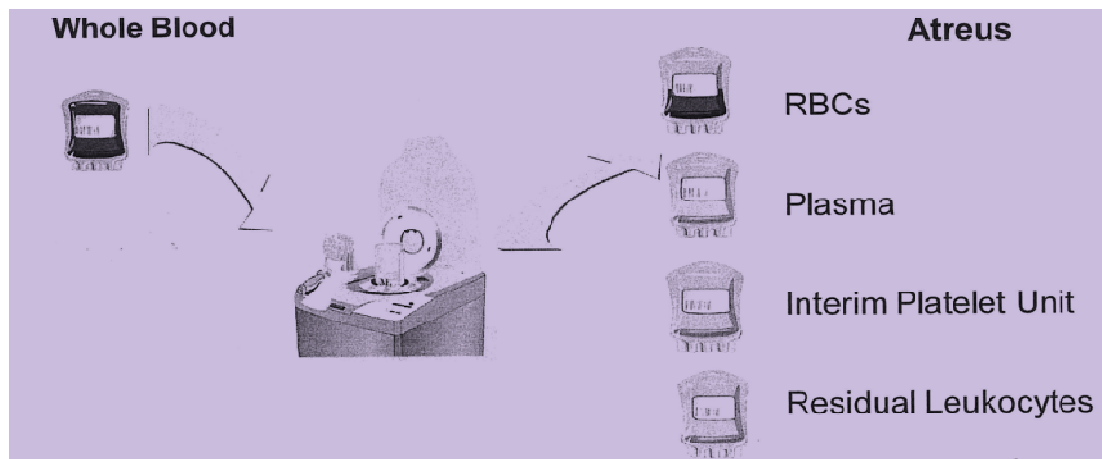
Σύστημα Atreus 3C

1. Εισαγωγή – Σκοπός

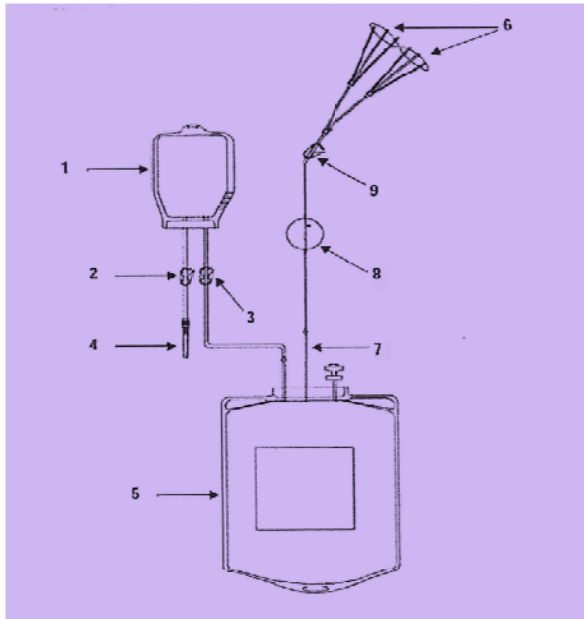
Είναι γνωστό ότι για την παρασκευή παραγώγων αίματος από ολικό αίμα, που απαιτούνται για την ικανοποίηση των αναγκών διαφόρων ασθενών χρησιμοποιούνται διάφορες χειρωνακτικές μέθοδοι με πολλά ενδιάμεσα βήματα. Συγκεκριμένα ο ασκός του ολικού αίματος, ο οποίος λαμβάνεται από τον αιμοδότη φυγοκεντρείται σε μία ή δύο φάσεις (εάν λαμβάνεται μόνο πλάσμα ή αιμοπετάλια αντίστοιχα), στη συνέχεια αποχωρίζονται τα παράγωγα με τον ειδικό συμπιεστή και μεταφέρονται στους ασκούς που προορίζονται για τη συντήρηση του συγκεκριμένου παραγώγου. Το γεγονός αυτό έχει σημαντική επίπτωση στις εργατοώρες, στη ροή παραγωγής και στην ποιότητα των παραγώγων, δεδομένου ότι πολλές φορές η αδυναμία προτυποποίησης των διαδικασιών οδηγεί σε ανομοιογένεια των τελικών προϊόντων.

Με το σύστημα Atreus 3C (Caridian BCT), επιτυγχάνεται ο αυτόματος διαχωρισμός ενός ασκού ολικού αίματος, με μία μόνο φυγοκέντρηση, σε συμπυκνωμένα ερυθρά (ΣΕ), έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα(FFP), μια προσωρινή ή ενδιάμεση μονάδα αιμοπεταλίων, και στη στιβάδα των λευκοκυττάρων, τοποθετημένα το καθένα σε διαφορετικούς ασκούς (εικόνα 1.), με αποτέλεσμα στη συνέχεια και στο τέλος της όλης διαδικασίας να λαμβάνεται ένας ασκός ΣΕ 42 ημερών, ένας ασκός FFP, ενώ η προσωρινή μονάδα των αιμοπεταλίων ενώνεται σε ειδικό ασκό (εικόνα 2.) με άλλες 2 έως 5 παρόμοιες μονάδες αιμοπεταλίων από άλλες αιμοληψίες. Επισημαίνεται ότι όλα τα τελικά παράγωγα είναι λευκαφαιρεμένα.

Με σκοπό την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της νέας τεχνικής πραγματοποιήθηκε μελέτη ελέγχου ποιότητας των παραγώγων αίματος που παρασκευάστηκαν με την παραπάνω μέθοδο από 1251 αιμοληψίες ολικού αίματος σε διάστημα 10 μηνών στην Αιμοδοσία του Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ», όπου εφαρμόζεται η συγκεκριμένη μέθοδος



Εικόνα 1. Αυτόματος διαχωρισμός ενός ασκού ολικού αίματος με το σύστημα Atreus (RBCs: ΣΕ, Plasma: FFP, Interim Platelet Unit: ενδιάμεση μονάδα αιμοπεταλίων, Residual leukocytes: στιβάδα των λευκοκυττάρων).



Εικόνα 2. Ειδικός ασκός στον οποίο ενώνονται οι ενδιάμεσες μονάδες αιμοπεταλίων. (1) ασκός δειγματοληψίας για έλεγχο ποιότητας του τελικού προϊόντος. (2),(3) και (9) clips ασφαλείας. (4) στόμιο εξόδου με βελόνα για τη λήψη δείγματος ελέγχου ποιότητας. (5) ασκός αποθήκευσης τελικού προϊόντος. (6) στόμια σύνδεσης των ενδιάμεσων μονάδων αιμοπεταλίων. (7) σημείο αποκοπής μετά τη διόδο των αιμοπεταλίων από το φίλτρο. (8) φίλτρο λευκαφαίρεσης αιμοπεταλίων.

2. Υλικό – Μέθοδος

Το σύστημα ATREUS 3C [41] αποτελείται από τη συσκευή διαχωρισμού, το ειδικό λογισμικό για την αποθήκευση στοιχείων συνδεδεμένο με τη φυγόκεντρο (εικόνα 3) και τον ειδικό ασκό στον οποίο συλλέγεται το ολικό αίμα από τον αιμοδότη (εικόνα 4).

Το λογισμικό συλλέγει και αποθηκεύει δεδομένα από όλα τα βήματα της διαδικασίας για κάθε μονάδα αίματος, όπως στοιχεία και χρόνους φυγοκέντρωσης, ενδείξεις για την περιεκτικότητα των μονάδων σε Hb και το περιεχόμενο των αιμοπεταλίων και τους όγκους των λαμβανομένων παραγώγων (εικόνα 5), έχει δε ενσωματωμένο γραμμωτό κώδικα, ενώ είναι σχεδιασμένο για τον έλεγχο της αυτοματοποιημένης διαδικασίας. Τα στοιχεία αυτά παραμένουν στη μνήμη του υπολογιστή για απεριόριστο χρονικό διάστημα, ανάλογα με τη δυνατότητα του server, γεγονός που όπως είναι προφανές εξασφαλίζει την ιχνηλασιμότητα.

Η φυγόκεντρος, η οποία ελέγχεται από υπολογιστή, φέρει ειδικές βαλβίδες με συγκολλητές για την αυτόματη συγκόλληση των γραμμών, ανιχνευτή διαρροής και ανιχνευτή στοιβάδας ερυθρών.

Το ολικό αίμα από τον αιμοδότη συλλέγεται στον αρχικό ασκό, ο οποίος περιέχει αντιπηκτικό CPD. Οι ασκοί πρέπει να παραμείνουν σε ελεγχόμενη θερμοκρασία περιβάλλοντος (18°C έως 24°C) από τη συλλογή έως και την ολοκλήρωση της διαδικασίας. Η έναρξη της «παραγωγής» δεν πρέπει να αρχίσει νωρίτερα από 2 ώρες μετά την αιμοληψία και πρέπει να έχει ολοκληρωθεί εντός 24 ωρών, περιλαμβανομένου και του χρόνου φιλτραρίσματος.

Το σύστημα συλλογής του ολικού αίματος περιλαμβάνει τον ασκό στον οποίο έχει συλλεχθεί το ολικό αίμα, έναν ασκό για το πλάσμα, έναν για την ενδιάμεση μονάδα των αιμοπεταλίων, έναν ασκό με το προσθετικό διάλυμα των ερυθρών (SAG, saline-adenine-glucose-mannitol) και έναν ασκό

κυκλικού σχήματος στον οποίο θα τοποθετηθούν προσωρινά τα ερυθρά μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης (εικόνα 6).

Ο κενός αυτός κυκλικός ασκός των ερυθρών τοποθετείται στη στεφάνη της φυγοκέντρου, ενώ ο ασκός που περιέχει το ολικό αίμα μαζί με τους κενούς ασκούς για την προσωρινή μονάδα αιμοπεταλίων, το πλάσμα και το SAG, τοποθετούνται στην ειδική υποδοχή της φυγοκέντρου (εικόνα 7).

Η φυγοκέντρωση διαρκεί 12 λεπτά, μετά το τέλος της οποίας λαμβάνονται στον ειδικό κυκλικό ασκό τα συμπυκνωμένα ερυθρά και σε ξεχωριστούς ασκούς το έγκαιρα κατεψυγμένο πλάσμα και η ενδιάμεση μονάδα αιμοπεταλίων, ενώ στον αρχικό ασκό συλλογής του ολικού αίματος παραμένουν τα υπολειπόμενα λευκά (εικόνα 8).

Τα ερυθρά που μένουν στον ειδικό κυκλικό ασκό αναμειγνύονται με το προσθετικό διάλυμα και στη συνέχεια λευκαφαιρούνται από το ενσωματωμένο στο σύστημα φίλτρο και αποθηκεύονται στον τελικό ασκό για συμπυκνωμένα ερυθρά.

Η ενδιάμεση μονάδα των αιμοπεταλίων παραμένει επί μία ώρα μετά τη φυγοκέντρωση στον πάγκο για αποσυσσώρευση, στη συνέχεια ανακινείται για 2 ώρες και έπειτα παρασκευάζεται το pool. Για την παρασκευή του pool 3 έως 6 τέτοιες προσωρινές μονάδες αιμοπεταλίων ενώνονται με συσκευή άσηπτης συγκόλλησης με τους ειδικούς σωληνίσκους του ασκού στον οποίο θα αποθηκευθεί το τελικό pool των λευκαφαιρεμένων αιμοπεταλίων (εικόνα 9). Μετά τη συγκόλληση τα αιμοπετάλια φιλτράρονται από το ενσωματωμένο φίλτρο και αποθηκεύονται στον τελικό ασκό (εικόνα 10).

Επιπλέον, στο τέλος της φυγοκέντρωσης, στην οθόνη αφής που βρίσκεται πάνω στη συσκευή υπάρχουν ενδείξεις για τον όγκο των λαμβανομένων παραγώγων, καθώς και ένας δείκτης παραγωγής αριθμού αιμοπεταλίων (Platelet Yield Indicator, PYI) με υψηλή συσχέτιση με την πραγματική τιμή των αιμοπεταλίων που περιέχει η ενδιάμεση μονάδα (εικόνα 11). Το γεγονός αυτό δίνει τη δυνατότητα στο χρήστη για μια άμεση εκτίμηση των χαρακτηριστικών των παραγώγων, τα οποία στη συνέχεια μαζί με άλλες παραμέτρους αποθηκεύονται στο ειδικό λογισμικό.

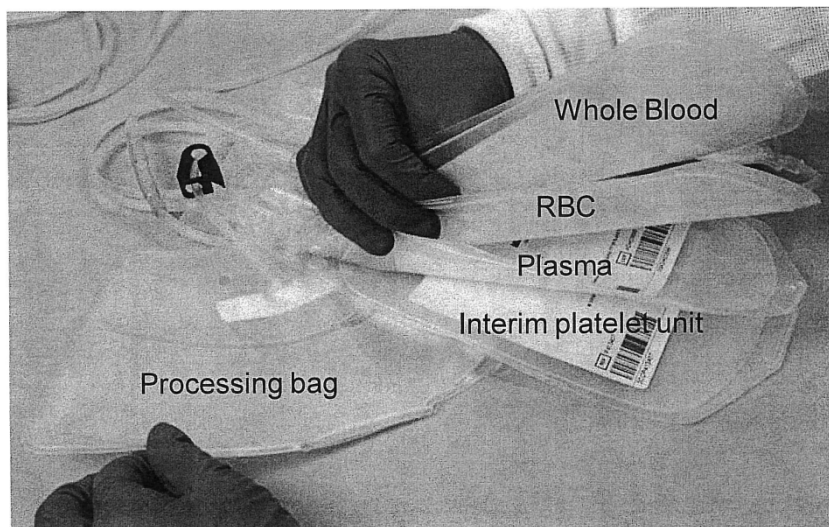
Με σκοπό την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της νέας τεχνικής αυτόματου διαχωρισμού του ολικού αίματος με το σύστημα Atreus 3C πραγματοποιήθηκε μελέτη ελέγχου ποιότητας των παραγώγων αίματος που λαμβάνονται με την παραπάνω μέθοδο, προκειμένου να εκτιμηθεί εάν τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά πληρούν τις προδιαγραφές του Συμβουλίου της Ευρώπης. Η περιεκτικότητα των παραγώγων σε κύτταρα (αιμοσφαιρίνη, αιματοκρίτης, αριθμός αιμοπεταλίων) μετρήθηκε με τον αναλυτή Celltac (Medicon), ο αριθμός των υπολειπόμενων λευκών σε κάθε παράγωγο μετρήθηκε με κυτταρομετρία ροής (Cyflow, Partec, Γερμανία) και η δραστικότητα του FVIII μετρήθηκε με τον αναλυτή BCS-XP Systems (Siemens) με πηκτικολογική μέθοδο με το αντιδραστήριο FVIII Deficient Plasma.



Εικόνα 3. Συσκευή διαχωρισμού και ειδικό λογισμικό για την αποθήκευση στοιχείων με ενσωματωμένο γραμμωτό κώδικα (ASM).



Εικόνα 4. Ασκός συλλογής ολικού αίματος.



Εικόνα 6. Ασκοί που περιλαμβάνει το σύστημα συλλογής ολικού αίματος

report all procedures

Facility: ΠΑΝΕΠ. ΓΕΝ. ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΤΤΙΚΩΝ
 Report date: 1/14/2010 12:51:32 PM

Number	Machine	Date	Start Time	Software Version
101	182	3/24/2009	9:53 AM	1.168
Process Flags				
Run OK		Yes		
Products				
Whole Blood		541 mL		
Red Blood Cells		255 mL		
Platelets		58 mL		
Plasma		207 mL		
Residual Leukocytes		20 mL		
RBC (Post Filter)		332 mL		
Hemoglobin Estimate		66 g		
Barcode Information				
Donation ID		10220		
LOT number		0010P50005		

ΑΙΜΑΤΟΛ. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ-ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Page 16 of 1262

Εικόνα 5. Δελτίο αναφοράς χαρακτηριστικών παραγώγων με το σύστημα Atreus 3C



Εικόνα 7. Τοποθέτηση του κενού κυκλικού ασκού στη στεφάνη της φυγοκέντρου, ενώ οι υπόλοιποι συμπεριλαμβανομένου και του ασκού που περιέχει του ολικό αίμα τοποθετούνται στην ειδική υποδοχή της φυγοκέντρου.



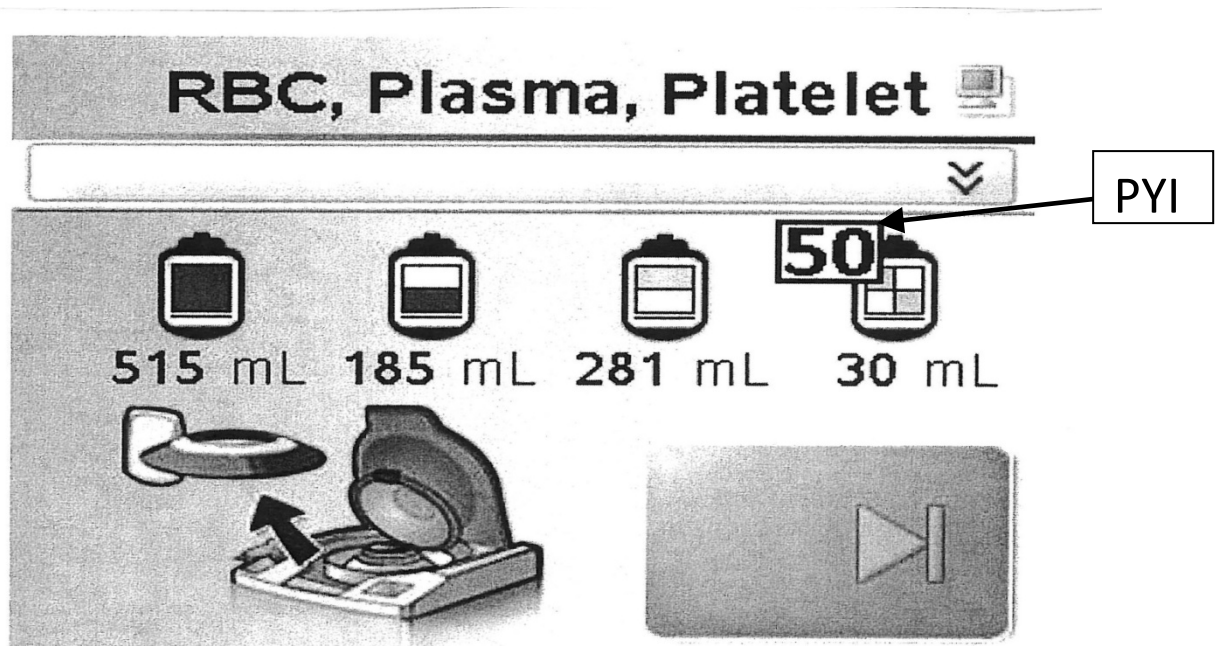
Εικόνα 8. Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης λαμβάνονται τα ΣΕ στον κυκλικό ασκό, ενώ στον αρχικό ασκό παραμένουν τα υπολειπόμενα λευκά. Το FFP και η ενδιάμεση μονάδα ΑΜΠ βρίσκονται σε ξεχωριστούς ασκούς.



Εικόνα 9. Προσωρινές μονάδες ΑΜΠ ενώνονται με συσκευή άσηπτης συγκόλλησης με τους ειδικούς σωληνίσκους του ασκού στον οποίο θα αποθηκευθεί το τελικό pool των λευκαφαιρεμένων ΑΜΠ.



Εικόνα 10. Φιλτράρισμα των ενδιάμεσων μονάδων ΑΜΠ μετά τη συγκόλληση και αποθήκευση στον τελικό ασκό.



Εικόνα 11. Ενδείξεις στην οθόνη αφής μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης που αναγράφει τον όγκο του αρχικού ασκού με το ολικό αίμα (515mL), των ΣΕ (185mL χωρίς το SAG), του FFP (281mL), της προσωρινής μονάδας αιμοπεταλίων (30mL), καθώς και το PYI (50).

3. Αποτελέσματα

Κατά την περίοδο της μελέτης επεξεργάστηκαν με το σύστημα Atreus 1251 μονάδες ολικού. Όλοι αυτοί οι ασκοί εμφάνιζαν κανονική κατανομή των τιμών όσον αφορά τον όγκο, τον αριθμό των κυττάρων, την αιμοσφαιρίνη και τον αιματοκρίτη, σύμφωνα με τις πληροφορίες που παρέχει το ειδικό λογισμικό του συστήματος. Η μέση τιμή αιμοσφαιρίνης ήταν πάνω από 45g ανά ασκό (Hb>45g) και ο μέσος όγκος τους 518 ± 17 ml (συμπεριλαμβανομένου του αντιπηκτικού CPD). Από το σύνολο των 1251 μονάδων έγινε ποιοτικός έλεγχος σε 90 (7.2%) μονάδες ΣΕ, 90 (7.2%) μονάδες FFP, 36 (2.9%) ενδιάμεσες μονάδες αιμοπεταλίων και 13 (3.6%) pool αιμοπεταλίων.

Όπως φαίνεται στον πίνακα 1 οι μονάδες των ΣΕ που εξετάστηκαν είχαν όγκο 296.6 ± 41.3 ml, αιμοσφαιρίνη 49.3 ± 7.1 g, και αιματοκρίτη $56.6 \pm 5.2\%$, συνεπώς πληρούσαν τα κριτήρια που έχουν τεθεί από το Συμβούλιο τη Ευρώπης για τα λευκαφαιρεμένα ερυθροκύτταρα με θεραπευτικό διάλυμα. Επισημαίνεται ότι ο αριθμός των υπολειπόμενων λευκών βρέθηκε $0.03 \pm 0.04 \times 10^6$ δηλαδή πολύ πιο χαμηλός από το όριο που έχει τεθεί.

Τα απαραίτητα κριτήρια πληρούνταν και στην περίπτωση της αξιολόγησης των μονάδων του FFP, όπως φαίνεται στον πίνακα 2. Οι μονάδες που εξετάστηκαν είχαν όγκο 220.2 ± 28.4 ml, αριθμό υπολειπόμενων λευκών $0.05 \pm 0.07 \times 10^6$, αριθμό υπολειπόμενων ερυθρών $0.00 \pm 0.001 \times 10^9$ /L ενώ επισημαίνεται ότι τα επίπεδα του παράγοντα VIII ήταν ικανοποιητικά υψηλά παρά την ολονύκτια παραμονή των ασκών του ολικού αίματος σε θερμοκρασία δωματίου.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά μονάδων ΣΕ (7.2%) που παρασκευάστηκαν με το σύστημα ATREUS 3C

	ATREUS	Κριτήρια ποιότητας Συμβουλίου της Ευρώπης [2]
Όγκος ασκού (ml)	296±41.3	Καθορίζεται ανάλογα με το σύστημα που χρησιμοποιείται
Αιμοσφαιρίνη ασκού (g)	49.3±7.1	Τουλάχιστον 40
Αιματοκρίτης ασκού (%)	56.6±5.2	50-70
Υπολειπόμενα λευκοκύτταρα ασκού ($\times 10^6$)	0.03±0.04	<1

Οι προδιαγραφές πληρούνταν και στην περίπτωση των αιμοπεταλίων, όπως φαίνεται στον πίνακα 3, αξίζει δε να σημειωθεί ότι η περιεκτικότητα των ενδιάμεσων μονάδων σε αιμοπετάλια βρέθηκε μεγαλύτερη από το όριο των 0.6×10^{11} , γεγονός που σημαίνει ότι η θεραπευτική δόση ενήλικα (3×10^{11}) μπορεί να επιτευχθεί από pool 3 έως 4 ενδιάμεσων μονάδων αιμοπεταλίων.

Τέλος αξίζει να αναφερθεί ότι, όπως φαίνεται στην εικόνα 12, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του δείκτη παραγωγής αριθμού αιμοπεταλίων (Platelet Yield Indicator, PYI) που παρέχεται από το σύστημα και εμφανίζεται στην οθόνη μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης (εικόνα 11), με την περιεκτικότητα των ασκών σε αιμοπετάλια (ανά μL), η οποία μετρήθηκε με τον αναλυτή Celltac από τον συνοδό ενσωματωμένο σωληνίσκο για τον έλεγχο ποιότητας της μονάδας.

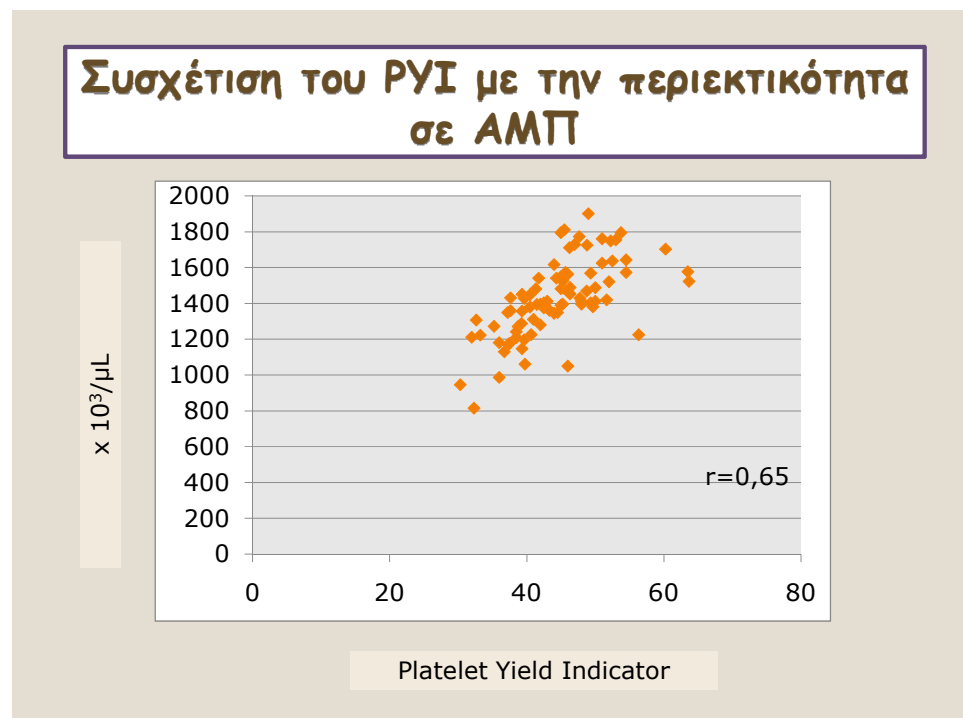
Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά μονάδων FFP (7.2%) που παρασκευάστηκαν με το σύστημα ATREUS 3C

	ATREUS	Κριτήρια ποιότητας Συμβουλίου της Ευρώπης [2]
Όγκος ασκού (ml)	220.2±28.4	Καθορίζεται ανάλογα με το σύστημα που χρησιμοποιείται*
Υπολειπόμενα λευκοκύτταρα ασκού	0.05±0.07	<0.1×10 ⁹ /L
Υπολειπόμενα ερυθροκύτταρα ασκού	0.00±0.001×10 ⁹ /L	<6.0×10 ⁹ /L
FVIII (%) στον αιμοδότη	117±18	
FVIII (%) στον ασκό πριν την κατάψυξη	93±12	>70%
FVIII (%) στον ασκό μετά την απόψυξη	91±11	>70% της τιμής πριν την απόψυξη

* Σύμφωνα με τις διεθνείς ισχύουσες προδιαγραφές ο όγκος των μονάδων FFP ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του ασκού συλλογής, ωστόσο πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 200-250ml.

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά αιμοπεταλίων που παρασκευάστηκαν με το σύστημα ATREUS 3C

	ATREUS	Κριτήρια ποιότητας Συμβουλίου της Ευρώπης [2]
Όγκος προσωρινής μονάδας αιμοπεταλίων (ml)	53.3±5.2	>40ml ανά 60×10 ⁹ αιμοπετάλια
Περιεκτικότητα σε αιμοπετάλια προσωρινής μονάδας αιμοπεταλίων (×10 ¹¹)	0.90±0.15	>0.6
Περιεκτικότητα σε αιμοπετάλια του τελικού ασκού (pool 3-4 προσωρινών μονάδων αιμοπεταλίων (×10 ¹¹))	2.8±0.4	>2.0
Υπολειπόμενα λευκοκύτταρα στο pool (×10 ⁹)	0.09±0.12	<1



Εικόνα 12. Συσχέτιση του ΡΥΙ με την περιεκτικότητα σε ΑΜΠ

4. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Το Atreus 3C αποτελεί αυτοματοποιημένο σύστημα παρασκευής συμπυκνωμένων ερυθρών, πρόσφατου κατεψυγμένου πλάσματος και αιμοπεταλίων από μια μονάδα ολικού αίματος, με μια μόνο φυγοκέντρωση. Όπως περιγράφηκε αναλυτικά οι μονάδες των συμπυκνωμένων ερυθρών και του πλάσματος είναι λευκαφαιρεμένες, ενώ δίνει τη δυνατότητα παρασκευής δεξαμενής (pool) λευκαφαιρεμένων αιμοπεταλίων μετά από ένωση 3-6 προσωρινών μονάδων αιμοπεταλίων που παράγονται από τη φυγοκέντρωση του ολικού αίματος. Επιπλέον επιτρέπει την επεξεργασία των αιμοληψιών την επόμενη ημέρα, δυνατότητα ιδιαίτερα σημαντική για Αιμοδοσίες με μεγάλο αριθμό αιμοληψιών, καθώς και για Αιμοδοσίες που πραγματοποιούν εξορμήσεις εκτός Νοσοκομείου σε συλλόγους εθελοντών αιμοδοτών.

Ο απαιτούμενος για την επεξεργασία του ολικού αίματος εξοπλισμός (ζυγοί, φυγόκεντροι, συγκολλητές, διαχωριστές) μειώνεται, διότι είναι ενσωματωμένος με το σύστημα και τίθεται σε λειτουργία ανεξάρτητα από το χρήστη. Όπως είναι προφανές αποφεύγεται η διπλή φυγοκέντρωση που απαιτείται για την παρασκευή των αιμοπεταλίων, ενώ συγχρόνως δεν χρειάζεται το ζύγισμα κάθε μονάδας αίματος ξεχωριστά για την πραγματοποίηση της φυγοκέντρωσης. Ο χειρισμός των διαχωριστών πλάσματος από τα ερυθρά, όπως είναι γνωστό, εξαρτάται πολύ από το χρήστη, γεγονός που με το σύστημα αυτό παρακάμπτεται. Επιπλέον λόγω του ενσωματωμένου ανιχνευτή στιβάδας ερυθροκυττάρων και λευκοκυττάρων επιτυγχάνεται υψηλή ποιότητα παραγώγων, τόσο ως προς τη λευκαφαίρεση όσο και ως προς τις κυτταρικές προσμίξεις. Με τις ειδικές βαλβίδες αυτόματης συγκόλλησης δεν υπάρχει παρέμβαση του χρήστη στη διαδικασία αυτή, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό εκτός των άλλων και για τη βακτηριδιακή επιμόλυνση των παραγώγων. Τέλος το σύστημα φέρει ανιχνευτές διαρροής, που διασφαλίζουν την ακεραιότητα των ασκών και κατ' επέκταση την ποιότητα των παραγώγων. Αξίζει να επισημανθεί ότι με τον περιορισμό των

χειρονακτικών μεθόδων με τα πολλά ενδιάμεσα βήματα περιορίζεται η μεταβλητότητα της ποιότητας των παραγώγων και μειώνονται οι απώλειες λόγω ανθρώπινου λάθους. Το γεγονός αυτό δημιουργεί και ικανοποίηση στο προσωπικό δεδομένου ότι ελαττώνονται αστοχίες στην ποιότητα των παραγώγων, περιορίζεται η ανάγκη επανάληψης διαδικασιών και μειώνονται αστοχίες της λευκαφαίρεσης. Η εργονομική διάταξη του συστήματος αφ' ενός μεν διευκολύνει το χειριστή και εξοικονομεί χρόνο, αφ' ετέρου παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα.

Η διάρκεια της φυγοκέντρωσης είναι 12 λεπτά, χρόνος σημαντικά μικρότερος από το σύνολο των φυγοκεντρήσεων που απαιτούνται με τους συμβατικούς τρόπους παρασκευής παραγώγων. Ο χρόνος της λευκαφαίρεσης των συμπυκνωμένων ερυθρών είναι παρόμοιος, αν όχι μικρότερος, συγκρινόμενος με τους ασκούς λευκαφαίρεσης ολικού αίματος πριν την αποθήκευση (pre-storage). Το μόνο επιπλέον βήμα σε σχέση με τους ασκούς λευκαφαίρεσης πριν την αποθήκευση, είναι η παρασκευή της δεξαμενής των αιμοπεταλίων, που όμως είναι ένα προϊόν που μπορεί να συγκριθεί ως προς την περιεκτικότητά του σε αιμοπετάλια μόνο με τους ασκούς αφαίρεσης ενός δότη.

Με το σύστημα αυτό επιτυγχάνεται υψηλής ποιότητας λευκαφαίρεση, όπως απέδειξε ο έλεγχος ποιότητας των παραγώγων, η οποία είναι ίση, αν όχι ανώτερη σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αλλά και από τη δική μας εμπειρία, με τη λευκαφαίρεση που επιτυγχάνεται με τους ασκούς λευκαφαίρεσης πριν την αποθήκευση. Ωστόσο σε σχέση με τους ασκούς αυτούς το σύστημα αυτό υπερτερεί ως προς την αυτοματοποίηση για όλους τους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω. Ακόμη η βατότητα τόσο του φίλτρου των συμπυκνωμένων ερυθρών, όσο και του φίλτρου των αιμοπεταλίων που υπάρχει στον ασκό παρασκευής της δεξαμενής των αιμοπεταλίων κρίνεται ως εξαιρετική, με ελάχιστα έως καθόλου προβλήματα ροής για το φίλτρο των συμπυκνωμένων ερυθρών και μηδενικά για το φίλτρο των αιμοπεταλίων.

Η δυνατότητα υπολογισμού και εμφάνισης στην οθόνη χαρακτηριστικών όπως ο όγκος όλων των παραγώγων και ο δείκτης

εκτίμησης του αριθμού των αιμοπεταλίων, δίνει στο χρήστη τη δυνατότητα μιας άμεσης εκτίμησης των χαρακτηριστικών των παραγώγων. Ειδικότερα ο δείκτης παραγωγής αιμοπεταλίων όπως ειπώθηκε και αποδείχθηκε από τη μελέτη εμφανίζει σημαντική συσχέτιση με τον πραγματικό αριθμό αιμοπεταλίων ανά ασκό. Οι παράμετροι αυτές στη συνέχεια μαζί με άλλες, όπως το ολικό ποσόν αιμοσφαιρίνης ανά ασκό συμπυκνωμένων ερυθρών, αποθηκεύονται στο ειδικό λογισμικό και φυλάσσονται για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα ανάλογα με τη χωρητικότητα του server. Όπως είναι προφανές η δυνατότητα αυτή συμβάλλει στην ιχνηλασιμότητα των παραγώγων. Ειδικότερα με τον υπολογισμό του συνολικού ποσού αιμοσφαιρίνης ανά μονάδα συμπυκνωμένων ερυθρών δίνεται η δυνατότητα εκτίμησης της κλινικής αποτελεσματικότητας της μετάγγισης συμπυκνωμένων ερυθρών, ενώ με τον υπολογισμό του δείκτη εκτίμησης του αριθμού των αιμοπεταλίων παρέχεται η δυνατότητα μια αδρής εκτίμησης της ύπαρξης ανθεκτικότητας στη μετάγγιση αιμοπεταλίων.

Τέλος το κόστος της όλης διαδικασίας είναι ιδιαίτερα υψηλό αν συγκριθεί με τους απλούς τριπλούς ασκούς χωρίς ενσωματωμένο φίλτρο λευκαφαίρεσης πριν την αποθήκευση. Ωστόσο οι ασκοί αυτοί δεν πρέπει να αποτελούν μέτρο σύγκρισης γιατί κανένα από τα λαμβανόμενα παράγωγα δεν είναι λευκαφαιρεμένο. Τα πλεονεκτήματα της λευκαφαίρεσης είναι γνωστά, και περιλαμβάνουν την ελάττωση εμφάνισης πυρετικών μη αιμολυτικών αντιδράσεων, την ελάττωση της άλλο-ευαισθητοποίησης έναντι των αντιγόνων κυρίως των λευκών και των αιμοπεταλίων, την ελάττωση μετάδοσης παθογόνων που μεταφέρονται με τα λευκά και πιθανόν την ελάττωση της ανοσοτροποποίησης που προκαλεί η μετάγγιση. Ως εκ τούτου η χορήγηση λευκαφαιρεμένων παραγώγων, παρά το κόστος που έχει, αποτελεί ενδεδειγμένη πρακτική για τη μεταγγισιοθεραπεία χρονίως μεταγγιζόμενων αλλά και άλλων ειδικών κατηγοριών ασθενών. Επισημαίνεται ότι αρκετές ανεπτυγμένες χώρες, όπως για παράδειγμα η Μεγάλη Βρετανία, εφαρμόζουν καθολική λευκαφαίρεση πριν την αποθήκευση σε όλα τα παράγωγα. Αφού λοιπόν η παρασκευή λευκαφαιρεμένων παραγώγων είναι σε σημαντικό

βαθμό απαραίτητη, επιβάλλεται η επιλογή ενός πρακτικού και αποτελεσματικού συστήματος. Το σύστημα ATREUS 3C αποτελεί μια τέτοια επιλογή, με κόστος όχι ιδιαίτερα υψηλό αν συγκριθεί με τους ασκούς λευκαφαίρεσης πριν την αποθήκευση με τους οποίους λαμβάνονται λευκαφαιρεμένα συμπυκνωμένα ερυθρά 42 ημερών (με προσθετικό διάλυμα), λευκαφαιρεμένο πλάσμα και λευκαφαιρεμένα αιμοπετάλια. Όπως όμως ήδη αναφέρθηκε συγκρινόμενο με τους ασκούς αυτούς, υπερτερεί ως προς την αυτοματοποίηση της παραγωγής, με όλα τα πλεονεκτήματα που αυτή έχει, γεγονός που ισοσκελίζει σε μεγάλο βαθμό το κόστος της διαδικασίας. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξε και μελέτη ανάλυσης διαφοράς κόστους [42] μεταξύ των δύο μεθόδων επεξεργασίας μονάδων ολικού αίματος (Atreus 3C και συμβατικής μεθόδου), λαμβάνοντας υπόψη το προσωπικό που απαιτείται για την εκτέλεση των επιμέρους διαδικασιών, τον απαραίτητο εξοπλισμό και το κόστος των συστημάτων συλλογής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το κόστος για την επεξεργασία 185.000 μονάδων ολικού αίματος είναι κατά 0.46% υψηλότερο με το σύστημα Atreus 3C έναντι της συμβατικής μεθόδου (πίνακας 4).

Συμπερασματικά λοιπόν φαίνεται ότι το σύστημα ATREUS 3C είναι απλό στη χρήση του, επιτυγχάνει την αυτοματοποίηση της διαδικασίας παρασκευής υψηλής ποιότητας παραγώγων, μειώνει σημαντικά τις εργατοώρες που απαιτούνται για τις διαδικασίες αυτές και είναι κατάλληλο και για Νοσοκομειακές Υπηρεσίες Αιμοδοσίας λόγω του εργονομικού σχεδιασμού του.

Πίνακας 4. Differences of cost in processing 185.000 whole blood units/year [42].

	Atreus 3C system	Manual + Orbisac	Variation (%)
A) Employees	8 laboratory technicians	14 laboratory technicians	-42%
B) Equipment	10 Atreus 3C machines + ASM*	7 whole blood centrifuges	
		1 balance	
		20 Compomats*	
		5 Orbisac machines*	-94.5%
	2 sterile connection devices	3 sterile connection devices	
	1 multihead sealer	1 multihead sealer	
	2 single sealers	1 set of scales	
	8 oscillating platelet shakers + incubators	4 oscillating platelet shakers + incubators	
C) Disposables	185.000 Atreus 3C disposables	185.000 quadruple Blood Bags	
	50.000 Pooling Kits for IPUS	50.000 Orbisac disposables	+11.1%
	50.000 Additive solutions	50.000 Additive solutions	
Total Cost Impact			+0.46%

* Material included with disposals. IPUS: interim platelet units

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ε. Γρουζή. Ενημερωτικό φυλλάδιο του Ιδρύματος της ΕΑΕ με θέμα: « το αίμα και τα παράγωγα του», 2010.
2. Οδηγός για την παρασκευή, τη χρήση και τη διασφάλιση της ποιότητας των προϊόντων αίματος. Εκδόσεις Συμβουλίου της Ευρώπης. 16^η έκδοση, 2010.
3. Κατευθυντήριες οδηγίες μετάγγισης αίματος και παραγώγων του. Έκδοση Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας. Αθήνα 2010. [www. eae.gr](http://www.eae.gr)
4. Stroncek DF, Rebulla P. Platelet transfusions. Transfusion Medicine 2. Lancet 2007; 370:427-438.
5. Ι. Σπηλιωτοπούλου. Θεραπευτικές ενδείξεις πλάσματος και προϊόντων του. Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Πλάσμα: διασφάλιση ποιότητας στη συλλογή, παραγωγή και κλασματοποίηση», Αθήνα, 12 Δεκεμβρίου 2003, σελ.47-53.
6. Harvey G. Klein, Donat R. Spahn, Jeffrey L. Carson. Red blood cell transfusion in clinical practice. Lancet 2007; 370:415-426.
7. AABB Technical Manual, 16th Edition, 2008.
8. Guidelines for the clinical use of red cell transfusions. British Committee for Standards in Haematology (BCSH) Task Force. Br J Haematol 2001; 113:24-31.
9. Thomas A. Ratko, Joseph P. Cummings, Harold A. Oberman et al. Evidence-based recommendations for the use of WBC-reduced cellular blood components. Transfusion 2001; 41:1310-1319.
10. Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Recommendations for the transfusion of red blood cells. Blood Transfus 2009; 7:49-64.

11. Liumbruno G, Bennardello F, Piccoli P, Rossetti G, and the Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Working Party. Recommendations for the transfusion of plasma and platelets. *Blood Transfus* 2009; 7:132-150.
12. Blajchman MA, Slichter SJ, Heddle NM, Murphy MF. New strategies for the optimal use of platelet transfusions. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008: 198-204.
13. British Committee for Standards in Haematology. Working Party of the Blood Transfusion Task Force: Contreras M, Ala FA, Greaves M, Jones J, Levin M, Machin SJ, Morgan C, Murphy W, Napier JAF, and Thomson AR. British Society for Haematology, London, UK. Guidelines for the use of fresh frozen plasma. *Transf Med* 1992; 2:57-63.
14. Schofield WN, Rubin GL and Dean MG. Appropriateness of platelet, platelet, fresh frozen plasma and cryoprecipitate transfusion in New South Wales public hospitals. *Med J Australia* 2003; 178(3):117-21.
15. Ε. Θεοδώρα. Επιλεκτική - καθολική λευκαφαίρεση. *Haema* 2001; Συμπλήρωμα: 167-172. 12^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2001.
16. Masse M. Universal leukoreduction of cellular and plasma components: process control and performance on leukoreduction process. *Transfus. Clin. Biol.* 2001; 8:297-302.
17. Γεώργιος Θεοδοσιάδης. Καθολική λευκαφαίρεση: Γενική θεώρηση των προβλημάτων και αποκτηθείσα γνώση. Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων: κατευθυντήριες οδηγίες», Αθήνα 13 Δεκεμβρίου 2008, σελ.30-38.
18. Richard J. Davey. Transfusion-Associated Graft-Versus-Host Disease and the Irradiation of Blood Components. *Immunological Investigations*, 1995; 24:431-434.
19. Θεόδωρος Α. Σπανός. Αιμοδοσία, Ύμνος στην Κοινωνία. Αθήνα 2011, σελ. 243-244.

20. Gary Moroff and N. L. C. Luban. The Irradiation of Blood and Blood Components to Prevent Graft-Versus-Host Disease: Technical Issues and Guidelines. *Transfusion Medicine Reviews*, 1997; 11(1):15-26.
21. E. G. Goes, J. C. Borges, D. T. Covas. Quality control of blood irradiation: determination T cells radio-sensitivity to cobalt-60 gamma rays. *Transfusion* 2006; 46:34-40.
22. Walter H. Dzik. Leukoreduction of blood components. *Curr Opin Hematol* 2002, 9:521-526.
23. Robbie P. H. et.al. Leucocyte depletion of blood components. *Blood Reviews* 2000 14, 145-156.
24. Γεωργία Κ. Κανελλοπούλου. Μορφές μεταγγιζόμενων ερυθρών αιμοσφαιρίων. Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων: κατευθυντήριες οδηγίες», Αθήνα 13 Δεκεμβρίου 2008, σελ.19-24.
25. Μπέλλια Μαριάννα. Παρασκευή συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων (ΑΜΠ) και ποιοτικός έλεγχος προϊόντων. Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Αιμοπετάλια: από τη συλλογή στη χορήγηση», 21 Οκτωβρίου 2005, σελ.13-26.
26. Μ. Γαβαλάκη. Πλάσμα, παράγωγα πλάσματος και προϊόντα κλασματοποίησης. Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Πλάσμα: Διασφάλιση ποιότητας στη συλλογή, παραγωγή και κλασματοποίηση», Αθήνα, 12 Δεκεμβρίου 2003, σελ. 16-21.
27. Κωνσταντίνος Σταμούλης. Παρασκευή - Ασφάλεια - Διάθεση έγκαιρα κατεψυγμένου πλάσματος. Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Ενδείξεις χορήγησης πλάσματος και λευκωματίνης», 10 Δεκεμβρίου 2004, σελ.6-13.
28. Α. Σδράκα. Προδιαγραφές για την Παρασκευή εγκαίρως κατεψυγμένου πλάσματος (FFP). Πρακτικά ημερίδας του τμήματος Αιμοδοσίας-

Αφαίρεσης της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας με θέμα: «Πλάσμα: Διασφάλιση ποιότητας στη συλλογή, παραγωγή και κλασματοποίηση», Αθήνα, 12 Δεκεμβρίου 2003, σελ.80-82.

29. www.transfusionguidelines.org.uk
30. Μυρσίνη Παραρά. Ποιότητα Παραγώγων Αίματος: Ερυθρά αιμοσφαίρια. Πρακτικά 6^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Μεταγγισιοθεραπείας. Ιωάννινα, 22-24 Απριλίου 2010, σελ. 38-43.
31. AABB. Standards for blood banks and transfusion services 21 ed. Bethesda. MD: Am. Association of Blood Banks, 2002.
32. Evidence-Based Practice of Transfusion Medicine. E. C. Vamvakas, AABB Press, Bethesda, 2001.
33. Handbook of Transfusion Medicine. C. D Hillyer et al Academic Press, California, 2001.
34. Κωνσταντίνος Σταμούλης. Ποιότητα Παραγώγων Αίματος: Πλάσμα για θεραπευτική χρήση. Πρακτικά 6^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Μεταγγισιοθεραπείας. Ιωάννινα, 22-24 Απριλίου 2010, σελ. 44-50.
35. Peter Hellstern, Hannelore Haubelt. Manufacture and composition of fresh frozen plasma and virus-inactivated therapeutic plasma preparations: correlation between composition and therapeutic efficacy. Thrombosis Research 107 (2002) S3-S8.
36. M. Lamboo, D. C. W. Poland, J. C. J. Eikenboom, M. S. Harvey, E. Groot, A. Brand, R.R.P. de Vries. Coagulation parameters of thawed fresh frozen plasma during storage at different temperatures. Transfusion Medicine, 2007, 17, 182-186.
37. A. M. Sward-Nilsson, P.O. Persson, U. Johnson, S. Lethagen. Factors influencing factor VIII activity in frozen plasma. Vox Sanguinis, 2006, 90, 33-39.
38. F. Bostrom, M. Sjodahl, L. Wehlin, N. Egberg, J. Lundahl. Coagulation parameters in apheresis and leukodepleted whole-blood plasma during storage. Transfusion, 2007; 47:460-463.

39. Ελισάβετ Ι. Γρουζή. Ποιότητα Παραγώγων Αίματος: Αιμοπετάλια. Πρακτικά 6^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Μεταγγισιοθεραπείας. Ιωάννινα, 22-24 Απριλίου 2010, σελ. 51-53.
40. Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 26th ed, Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2009.
41. Operator's Manual for use with Atreus Processing Sets, Caridian BCT, 07/2008.
42. Marisa Jurado, Manuel Algora, Felix Garcia-Sanchez, Santiago Vico, Eva Rodriquez, Sonia Perez, Luz Barbolla. Automated processing of whole blood units: operational value and in vitro quality of final blood components. Blood Transfusion 2012; 10:63-71.

