

CAT

**ESTÁNDARES DE ACREDITACIÓN
(2ª EDICIÓN. AÑO 2002)**

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA

CAT

MIEMBROS DEL CAT QUE HAN PARTICIPADO EN LA ELABORACIÓN DE ESTOS ESTÁNDARES:

BLANCO, LYDIA.

Coordinadora. Centro de Transfusión de Madrid

AZNAR, JUAN M.

Servicio de Hematología. Hospital U. Virgen Macarena. Sevilla.

BARBOLLA, LUZ

Servicio de Hematología. Hospital de Móstoles. Madrid.

CORTÉS, ALICIA

Banco de Sangre. Hospital Virgen de Aránzazu. San Sebastián.

GARCÍA ERCE, JOSE A.

Servicio de Hematología. Hospital M. Servet. Zaragoza.

LARREA, LUIS

Centro de Transfusión de Valencia.

MUÑIZ, EDUARDO

Servicio de Hemoterapia. Hospital Sant Pau. Barcelona.

ORTIZ, PILAR

Banco de Sangre. Hospital Arnau Vilanova. Lérida.

ORTIZ DE SALAZAR, MABEL

Centro de Transfusión de Alicante.

OYONARTE, SALVADOR

Centro de Transfusión de Granada.

RODRIGUEZ VILLANUEVA, JULIA

Banco de Sangre. Hospital Provincial de Pontevedra.

RODRIGUEZ VICENTE, PILAR

Banco de Sangre. Hospital Central de Asturias.Oviedo.

PRÓLOGO A LA 2ª EDICIÓN.

Hace ahora treinta años que surgió en el seno de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia el Programa de Acreditación de Bancos de Sangre (PABAS), iniciativa que tuvo una repercusión fundamental en el arranque y ordenación de los primeros bancos hospitalarios.

Durante todo este tiempo se han sucedido una serie de hechos relevantes, y los bancos de sangre no han sido ni mucho menos ajenos a ellos. Globalmente la medicina ha experimentado un notable avance condicionado en buena medida por el progreso tecnológico. En los años ochenta se vivió la desagradable experiencia donde la sangre actuó como vehículo responsable de transmisión de graves enfermedades. Tal vez esa desgraciada vivencia empujó con decisión a la idea de buscar una donación totalmente altruista. En España nacieron los Centros de Hemodonación de las diferentes Comunidades Autónomas, y como órgano regulador se diseñó la controvertida Comisión Nacional de Hemoterapia. Se ha fomentado el desarrollo y preparación de nuevos productos y derivados de la sangre buscando un alto grado de seguridad, y también buscando una mejora en su repercusión terapéutica, bajo el marco de lo que conocemos como terapia celular. Todo ello ha impactado en la estructura, el modo de hacer y las exigencias de nuestra clásica hemoterapia, que incluso ha exigido la puesta al día de su denominación, debiendo cambiarla por la de Medicina Transfusional, concepto más acorde con la verdadera dimensión y potencialidad de esta parte de la Hematología moderna.

Los profundos cambios indicados, juntos con otras iniciativas más recientes, como es la bondad de incorporar sistemas de calidad sustentados en la norma ISO, el continuo desarrollo legislativo europeo en materia de medicina transfusional, etc, son elementos que nos obligan a establecer normas técnicas mínimas que deben ser exigidas a todos nuestros bancos de sangre, adaptadas a su tamaño y actividad.

El interés de la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea para colaborar con la AEHH e impulsar el programa de acreditación, fue una estupenda ini-

ciativa, constituyéndose un Comité de Acreditación en Transfusión (CAT) dependiente de las dos Sociedades científicas, manteniendo un grado de colaboración y trabajo continuado en la importante tarea que tiene encomendada.

Hace dos años, el CAT publicaba la primera edición de "Estándares de acreditación en transfusión sanguínea", adaptación del "libro verde para la acreditación" que ha constituido un notable avance y aproximación a las nuevas exigencias que debemos afrontar todos los centros con actividad en Medicina Transfusional.

Aparece ahora la segunda edición, con los aspectos ya presentes en la primera edición, más la adición de dos capítulos prácticamente nuevos, fruto de la colaboración entre Sociedades científicas, ONT, EBMT, etc. Estos nuevos capítulos abordan los estándares exigibles a la preparación de progenitores hematopoyéticos de diferente procedencia (médula, sangre, cordón umbilical), estándares para el estudio del sistema de histocompatibilidad, así como para los de bancos de tejidos.

Esta iniciativa, es un paso importante y ambicioso que seguirá repercutiendo de forma muy positiva en todos nuestros centros vinculados de una u otra forma con la Medicina Transfusional. Es justo agradecer a todas las personas de la SETS y AEHH que han dedicado su trabajo y esfuerzo para que mejoremos nuestra calidad y modo de trabajar en este campo, y en especial a la Dra Lydia Blanco, coordinadora durante todos estos años del CAT, que ha sido una pieza imprescindible para que podamos tener hoy este documento.

Vicente Vicente García
Presidente AEHH

Durante los treinta años de existencia de los programas de acreditación en transfusión, una primera etapa a través del PABAS, dependiente de la Asociación Española de Hematología-Hemoterapia, y recientemente con el CAT, estructura común de la AEHH y la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, la organización transfusional española ha variado significativamente. Los cambios producidos se han vivido de manera especialmente intensa en estos programas de acreditación, ya que en ellos han trabajado, a lo largo de los años, gran parte de los profesionales de la Hemoterapia española de las tres últimas décadas.

Es justo reconocer, por tanto, a todos los compañeros que han participado en el PABAS y CAT su dedicación, ya que estos estándares son el resultado del trabajo y la experiencia aportados por todos ellos. También es justo reconocer que la recíproca influencia entre grupo acreditador y centros acreditados ha supuesto uno de los elementos más enriquecedores y formativos de la historia transfusional española.

La organización transfusional sigue siendo un proceso extraordinariamente dinámico. El entorno social y técnico de los bancos de sangre de hace treinta años es muy diferente al de ahora. De una estructura de elaboración de componentes sanguíneos casi "artesanal", hemos pasado a otra altamente especializada, de compleja, y creciente, incorporación tecnológica debido a las exigencias de seguridad que la asistencia sanitaria y la sociedad imponen, por su evidente relación con la salud pública de la comunidad.

Nos encontramos inmersos en un ambiente de búsqueda de las máximas calidad y seguridad, que en ocasiones puede resultar confuso. La incorporación de las administraciones sanitarias regionales, central, y europea, ha provocado un cambio en el marco legislativo aún no definido del todo, pero que deberá basarse en requisitos técnicos de calidad que garanticen la equidad de todos los ciudadanos ante la disponibilidad de productos sanguíneos, y reflejarse en autorizaciones rigurosas de funcionamiento. A las tradicionales acreditaciones científicas se ha sumado la implantación de diferentes Sistemas de Calidad que aseguran la correcta gestión de nuestros centros, pero que no deben dejar de lado los criterios científicos establecidos. En los próximos años

debiéramos ver una "ordenación" en todas estas estructuras que acoplara todos los requerimientos: técnicos de calidad, de gestión, de incorporación de nuevas tecnologías, etc., en un sistema homogéneo, ágil y eficaz.

No cabe ninguna duda de que la existencia de estándares basados en el conocimiento y la experiencia científicos, rigurosamente actualizados, deben constituir la esencia de esa estructura. La necesidad de conexión de las sociedades científicas con la organización transfusional es elemental en la definición de esos parámetros técnicos.

Este documento sigue permaneciendo como un instrumento muy útil en la realidad cotidiana asistencial de cada centro, convirtiéndose, no sólo en la herramienta fundamental de trabajo del comité, sino también en un vehículo de formación y difusión de primer orden entre los profesionales de la transfusión del país, que complementa y ajusta específicamente normas y recomendaciones nacionales y europeas.

Esta segunda versión de los estándares consolida el objetivo de ambas sociedades de su publicación periódica, con revisiones actualizadas e incorporación de nuevos temas relacionados con el mundo transfusional, y espero que en próximas ediciones se pueda hacer referencia a importantes aspectos actualmente en desarrollo, como son los sistemas de Hemovigilancia y alerta rápida.

Estoy seguro que la presente segunda edición de los estándares será de gran utilidad para el mundo transfusional español, y que colaborará en la progresiva mejora de esta rama de la asistencia sanitaria.

Miguel Angel Vesga
Presidente de la SETS

ÍNDICE

SECCIÓN 1: LA ACREDITACIÓN

- 1.- El Comité de Acreditación
- 2.- El Proceso de Acreditación

SECCIÓN 2: ESTÁNDARES DE ACREDITACIÓN

1.-ESTANDARES DE TRANSFUSIÓN SANGUINEA

- A.- Requisitos básicos para la Garantía de Calidad
- B.- Selección de donantes
- C.- Extracción de sangre
- D.- Componentes sanguíneos: preparación, almacenamiento, caducidad y requisitos del control de calidad.
- E.- Determinaciones analíticas
- F.- Etiquetado
- G.- Almacenamiento y transporte
- H.- Aféresis
- I.- Pruebas de compatibilidad
- J.- Transfusión
- K.- Complicaciones de la transfusión
- L.- Transfusión autóloga
- M.- Profilaxis con inmunoglobulina anti-D
- N.- Registros

2.- ESTANDARES DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

A.- UNIDADES DE EXTRACCIÓN DE PROGENITORES

HEMATOPOYÉTICOS DE MÉDULA ÓSEA O DE SANGRE PERIFÉRICA

- A.1.- Requisitos generales
- A.2.- Selección del donante
- A.3.- Consentimiento del donante
- A.4.- Extracción de células progenitoras hematopoyéticas
- A.5.- Reacciones adversas
- A.6.- Validación
- A.7.- Requisitos de calidad

B.- UNIDAD DE EXTRACCIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS

HEMATOPOYÉTICAS DE SANGRE DE CORDÓN

- B.1.- Requisitos generales
- B.2.- Selección del donante
- B.3.- Consentimiento a la donación
- B.4.- Extracción de sangre de cordón
- B.5.- Reacciones adversas
- B.6.- Validación
- B.7.- Requisitos de calidad

C.- UNIDADES DE PROCESADO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS DE MÉDULA ÓSEA, SANGRE PERIFÉRICA Y SANGRE DE CORDÓN

- C.1.- Requisitos generales
- C.2.- Definiciones y principios generales de los componentes
- C.3.- Criopreservación
- C.4.- Etiquetado
- C.5.- Almacenamiento y eliminación de productos
- C.6.- Transporte

D.- REGISTROS

- D.1.- Requisitos generales
- D.2.- Registros que deben mantenerse
- D.3.- Tiempo de permanencia de los registros
- D.4.- Registros en caso de responsabilidad compartida

3.- PRUEBAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD

- A.- Principios generales
- B.- Tipaje serológico HLA clase I y II
- C.- Cultivo mixto de leucocitos
- D.- Escrutinio de anticuerpos
- E.- Trasplante renal y de páncreas
- F.- Trasplante de otros órganos sólidos
- G.- Trasplante de médula ósea y de células madre pluripotenciales
- H.- Transfusión de plaquetas y granulocitos
- I.- Asociación del tipaje HLA con enfermedades
- J.- Estudios de paternidad
- K.- Análisis de ácido nucléico para estudios de histocompatibilidad
- L.- Citometría de flujo
- M.- ELISA

4.- BANCO DE TEJIDOS

- A.- Definiciones
- B.- Extracción de tejidos
- C.- Procesamiento y almacenamiento
- D.- Etiquetado
- E.- Distribución, transporte y utilización
- F.- Reacciones adversas
- G.- Información a los usuarios
- H.- Implantación de tejidos humanos
- I.- Registros

CAT

SECCION 1: LA ACREDITACIÓN

COMPOSICIÓN DEL COMITÉ

El Comité de Acreditación en Transfusión está compuesto por miembros de las Sociedades Españolas de Hematología y Hemoterapia y de Transfusión Sangünea con experiencia probada en el campo de la Transfusión.

El número de componentes es variable entre 10 y 15, y su perfil dependerá de las necesidades del Comité en cada momento, como puede ser pertenencia a Centros de Transfusión, Bancos de Sangre Hospitalarios, Depósitos de Sangre, experiencia en trasplante de progenitores hematopoyéticos, en histocompatibilidad o en Bancos de Tejidos, o conocimientos extensos en Sistemas de Calidad.

Desde el Comité se procura la formación de sus componentes en la metodología a seguir en las visitas de inspección y en el conocimiento de los estándares y normativas.

1.- SOLICITUD DE ACREDITACIÓN

La Acreditación es un proceso de carácter voluntario.

La solicitud se realiza a instancias del Director del Banco de Sangre y se dirige por escrito a la Secretaría del CAT que tiene su sede en la Secretaría de la AEHH. En dicha solicitud deberán reseñarse la áreas en las que se solicita la Acreditación.

Una vez recibida la solicitud, se enviará a vuelta de correo la siguiente documentación:

- Un ejemplar de los Estándares de Acreditación en base a los cuales se realizará la visita de inspección y se emitirá un informe.
- Un ejemplar para la recogida de los datos estadísticos que se solicitan.
- Un ejemplar del Manual de Autoevaluación donde se recogen las preguntas que llevará a cabo el acreditador durante su visita con el fin de que en el Banco de Sangre pueda conocerse, previamente a la auditoria en qué situación se encuentra. Asimismo ayudará a llevar a cabo pequeños cambios que facilitarán el camino hacia la acreditación.
- La factura proforma, cuyo importe depende de las áreas a auditar. Esta factura tendrá que ser abonada antes de designar los acreditadores y la fecha de la inspección.

2.- EL PROCESO DE LA ACREDITACIÓN

Una vez recibidos en la Secretaría del CAT la encuesta sobre datos estadísticos debidamente rellena, el Manual de Procedimientos, la factura pagada y los demás documentos que se hubieran requerido, se procederá a la DESIGNACIÓN DE LOS AUDITORES.

El número de auditores será uno, dos o tres en función de las características de cada Centro, del número de áreas a auditar o de las características especiales de las mismas. Su designación se realizará por parte del Coordinador del Comité de manera que se asegure la imparcialidad, y que se trate de personas con conocimientos suficientes en las actividades que se van a inspeccionar.

Los auditores fijarán una fecha para la VISITA DE AUDITORÍA que podrá ser de uno o dos días dependiendo del número de áreas a visitar.

El día previsto, se mantendrá una entrevista con el responsable del Banco de Sangre, Centro de Transfusión o Depósito y se le explicará brevemente el contenido de la visita de acreditación, fijando una hora para la Reunión Final. El Responsable del Banco de Sangre podrá ser requerido en cualquier momento para consultas o aclaraciones.

Se auditará el Centro relleno las respuestas correspondientes del Manual de Autoevaluación y haciendo hincapié en aquellas respuestas dudosas. Se recabará información escrita concordante con la información verbal recibida.

Cuando termina la auditoria se prepara la REUNIÓN FINAL a la que deben asistir, el Responsable del Banco de Sangre, el Jefe del Servicio si lo hubiere y aquellas personas Médicos, Enfermeras, o Representantes de la Dirección que ellos mismos consideren oportuno. Allí se presentarán los hallazgos comprobables de manera documentada y objetiva y se plantearán las acciones correctivas propuestas.

Todo ello se recogerá por escrito en un INFORME FINAL donde se establecerá un plazo de tiempo para llevar a cabo las acciones correctivas, y si no las hubiere, se concederá la acreditación .

En breve se enviará al Centro acreditado, el CERTIFICADO DE ACREDITACIÓN que tendrá una validez de tres años.

Aquellos Bancos que requirieran la implantación de acciones correctivas, serán visitados de nuevo en el plazo previsto, y si no se han solucionado, se denegará la acreditación.

Una vez pasados tres años, el Certificado de Acreditación dejará de tener vigencia, debiéndose seguir el mismo procedimiento para la reacreditación que se siguió con la primera solicitud.

CAT

SECCIÓN 2 : ESTÁNDARES DE ACREDITACIÓN

1.- ESTANDARES DE TRANSFUSIÓN SANGUINEA

A .- REQUISITOS BÁSICOS PARA LA GARANTÍA DE CALIDAD.

A.1 .- DIRECCIÓN: El Banco de Sangre tiene que estar bajo la dirección de un médico especialista en Hematología y Hemoterapia, con experiencia demostrada en el campo de la Transfusión.

A.2 .- CALIDAD: Todo Banco de Sangre debería establecer un programa de aseguramiento de la Calidad, descrito en un Manual de Calidad, de acuerdo a los principios especificados en la "Guía para la preparación uso y garantía de la calidad de los componentes sanguíneos del Consejo de Europa".

A.3 .- ORGANIZACIÓN: Todo Banco de Sangre debe estar organizado de tal forma que garantice la calidad de los servicios prestados (Banco de sangre, de Tejidos, otros...).

A.3.1.- Debería existir un organigrama de la estructura del Centro o Banco de sangre.

A.3.2.- Las tareas y responsabilidades de todos los individuos deben estar claramente entendidas y documentadas.

A.4 .- PROCEDIMIENTOS: Existirá un Manual de Procedimientos, donde se describan detalladamente todos aquellos que se realizan en el Centro de Transfusión o Banco de Sangre, incluido el transporte de componentes y tejidos.

A.4.1.- Toda la documentación estará actualizada.

A.5 .- FORMACIÓN: Se establecerá un Programa de Formación del Personal, tanto inicial como continuada en las tareas asignadas.

A.5.1.- Existirán registros detallados de las actividades de formación tanto colectivas como individuales.

A.6 .- EQUIPAMIENTO: Habrá un Manual del Equipamiento donde consten todos los datos correspondientes de los equipos y aparatos del Banco de Sangre, en el cual se señalará el equipo definido como crítico.

A.6.1.- Existirán procedimientos de mantenimiento preventivo y correctivo (averías) del equipamiento con sus correspondientes registros por equipo.

A.6.2.- En el registro del equipo definido como crítico constará la calibración y la recalibración tras averías.

A.7 .- CONTROL DE CALIDAD: El Banco de Sangre mantendrá un Programa de Control de Calidad interno suficiente para asegurar que los reactivos, equipamiento y métodos utilizados cumplen su función, de acuerdo con éstos estándares.

A.7.1.- Debería existir, siempre que fuera posible, un control de calidad externo de los mismos.

A.8 .- POLÍTICA TRANSFUSIONAL: Existirá un programa para evaluar la política transfusional.

A.9 .- DISCONFORMIDADES: Existirá un manual de quejas y disconformidades.

A.9.1.- Estarán a disposición de los receptores de los servicios prestados hojas de reclamación según la legislación vigente.

A.9.2.- Existirá un registro de las disconformidades (interiores y exteriores) detectadas, en el cual constarán los pormenores de las mismas y las medidas correctoras tomadas.

A.10 .- BIOSEGURIDAD: En todos Bancos de Sangre, existirán procedimientos y medidas para la protección y bioseguridad de los empleados.

A.10.1.- La manipulación y desecho de los componentes sanguíneos, así como de cualquier residuo biológico, se realizarán bajo estrictas condiciones de seguridad, de acuerdo a la normativa legal vigente.

B .- SELECCIÓN DE DONANTES.

B.1 .- INFORMACIÓN AL DONANTE.

B.1.1.- Información previa a la donación.

B.1.1.1.- Los candidatos a donantes de sangre recibirán, en cada donación, información previa, por escrito y en lenguaje comprensible, sobre las condiciones y actividades que excluyen de la donación (en especial sobre SIDA y prácticas sexuales inseguras u otros comportamientos de riesgo de exposición potencial a infecciones de transmisión transfusional) y sobre la importancia de no dar sangre si le son aplicables algunas de ellas.

B.1.1.2.- Los candidatos que hayan viajado, permanecido o nacido en el extranjero serán informados sobre los de antecedentes de enfermedades infecciosas propias de la zona que excluyen de la donación. A tal efecto es conveniente disponer de un mapa epidemiológico mundial.

B.1.1.3.- Una vez finalizado el reconocimiento, el donante y el interrogador firmarán un documento en el que se deje constancia clara que se han explicado y se han comprendido los motivos de exclusión para la donación y de que éstos no le afectan.

B.1.1.4.- En cada donación de sangre, aféresis o progenitores hematopoyéticos se recabará del donante el consentimiento informado específico.

B.1.1.5.- Se informará sobre los cuidados de la zona de venopunción y posibles reacciones adversas así como posibles soluciones.

B.1.1.6.- Se establecerá un sistema de comprobación y notificación de resultados anormales a los donantes, de acuerdo a los algoritmos vigentes legalmente establecidos.

B.1.1.7.- Se entregará a cada donante una tarjeta de identificación que permita comprobar la fecha de cada extracción y la cantidad de sangre extraída.

B.2 .- CRITERIOS PARA LA PROTECCIÓN DEL DONANTE.

B.2.1.- Aspectos generales:

B.2.1.1.- Los locales donde se atiendan a los donantes deben tener suficientes condiciones ambientales para realizar dicha tarea.

B.2.1.2.- En el momento de la donación, los donantes deben ser evaluados por personal sanitario cualificado debidamente formado, bajo la tutela de un médico que tomará la decisión final sobre la extracción.

B.2.1.3.- Debe existir un procedimiento escrito que refleje todas las etapas del proceso de selección.

B.2.1.4.- Se garantizará el altruismo y la no remuneración de los donantes.

B.2.1.5.- Los candidatos a donantes serán sometidos a reconocimiento, exámen físico e interrogatorio previo a la donación.

B.2.1.6.- Se garantizará la confidencialidad durante el interrogatorio.

B.2.1.7.- Habrá un fichero de donantes excluidos.

B.2.2.- Criterios de Exclusión.

B.2.2.1.- Exclusión definitiva de donantes con:

B.2.2.1.1.- Enfermedades autoinmunes siempre que haya más de un órgano afectado.

B.2.2.1.2.- Enfermedades cardiovasculares.

B.2.2.1.3.- Enfermedades del Sistema Nervioso Central.

B.2.2.1.4.- Enfermedad maligna o antecedentes de la misma. El médico responsable puede hacer excepciones a esta norma en algunos casos concretos.

B.2.2.1.5.- Síncopes o convulsiones.

B.2.2.1.6.- Tendencia anormal al sangrado.

B.2.2.1.7.- Enfermedades gastrointestinales, hematológicas, metabólicas, respiratorias o renales graves o crónicas no incluidas en las categorías anteriores.

B.2.2.1.8.- Diabetes Mellitus en tratamiento con insulina.

B.2.2.1.9.- Historia documentada de anafilaxia.

B.2.2.1.10.- Diagnóstico confirmado de hipertensión. Las situaciones que no se ajusten a ello se valorarán individualmente.

B.2.2.2.- Embarazo:

B.2.2.2.1.- Las mujeres embarazadas quedan excluidas durante el embarazo, y en el postparto tantos meses como ha durado el embarazo o al menos todo el tiempo que dura la lactancia.

B.2.2.2.2.- Puede estar indicada la extracción de sangre a las mujeres embarazadas o tras un parto reciente para la transfusión del niño, si así se estima por parte de los médicos responsables.

B.2.2.3.- Medicación. El personal dispondrá de una lista de medicamentos de uso común con sus correspondientes normas de aceptación. Serán excluidos tras evaluación específica:

B.2.2.3.1.- Los donantes tratados con FINASTERIDA (Proscar, etc.), o ISOTRETINOINA (Roacután, etc.) serán excluidos durante un mes después de la última dosis.

B.2.2.3.2.- Las personas que hayan recibido ETRETINATO (Tigasón), serán excluidas indefinidamente.

B.2.2.3.3.- La ingesta de aspirina en los cinco últimos días antes de la donación excluye como donante de plaquetas.

B.2.3.- Intervalo entre las donaciones: 2 meses.

B.2.4.- Número máximo de donaciones al año: 4 donaciones para los hombres, 3 para las mujeres.

B.2.5.- Edad: 18-65 años.

B.2.5.1.- Los mayores de 65 años pueden donar a criterio médico.

B.2.6.- Hemoglobina: Superior a 12,5 g/dl en mujeres (Hct. Mínimo: 0.38). Superior a 13,5 g/dl en hombres (Hct. Mínimo: 0.40).

B.2.6.1.- La donación puede ser aceptada por debajo de estos niveles según criterio médico.

B.2.6.2.- Serán investigados los valores superiores e inferiores, así como, la caída de más 2g/dl entre 2 donaciones sucesivas.

B.2.7.- Pulso: rítmico, entre 50-110 pulsaciones/min.

B.2.8.- Presión arterial: Diastólica: inferior a 100 mm de Hg. Sistólica: inferior a 180 mm de Hg.

B.2.9.- Peso: mayor de 50 Kg.

B.2.10.- Los donantes con ocupaciones de riesgo, como conductores, pilotos, etc., o participantes en deportes peligrosos, deberán esperar un intervalo no inferior a 12 horas tras la extracción de sangre.

B.3 .- CRITERIOS PARA LA PROTECCIÓN DEL RECEPTOR.

B.3.1.- Criterios generales:

B.3.1.1.- El Banco de Sangre debe disponer de un sistema para asegurar la identidad del donante.

B.3.1.2.- El aspecto del donante será de buena salud. No estará aparentemente bajo los efectos de alcohol ni otras drogas.

B.3.1.3.- Se incluirán en el cuestionario preguntas para identificar prácticas de riesgo para la transmisión por transfusión de enfermedades infecciosas.

B.3.1.4.- La utilización de drogas en la actualidad o en el pasado, especialmente por vía intravenosa y el alcoholismo crónico serán causa de exclusión permanente.

B.3.1.5.- En general, se seguirá la normativa legal vigente para la selección de donantes.

B.3.2.- Cirugía: La cirugía mayor será causa de exclusión durante seis meses y la cirugía menor de una semana si no ha habido complicaciones.

B.3.3.- Inmunizaciones y vacunas:

B.3.3.1-Toxoides y virus muertos: pueden donar después de 48 horas si no tienen síntomas (cólera, difteria, gripe, hepatitis B, hepatitis A si no ha si-

do por exposición, paratifoidea, pertusis, polio IM, fiebre de las Montañas Rocosas, tétanos, fiebre tifoidea).

B.3.3.2- También puede incluirse en el apartado anterior la vacuna de la rabia, salvo si la inmunización ha sido por mordedura de perro, en cuyo caso hay que esperar 1 año después de la mordedura.

B.3.3.3- Virus atenuados (rubéola, sarampión, BCG, varicela, polio oral, fiebre amarilla, fiebre tifoidea y colera con agentes vivos atenuados) no pueden donar en 4 semanas.

B.3.3.4- No se aceptarán durante 12 meses aquellos donantes que hayan recibido Ig frente a hepatitis B o vacuna postexposición.

B.3.3.5- Suero de origen animal: no pueden donar en 3 meses.

B.3.3.6- Vacunas desensibilizantes para la alergia pueden donar 72 horas después de la última inyección.

B.3.4.- Lesiones cutáneas: La zona de venopunción tiene que estar libre de lesiones.

B.3.5.-Enfermedades infecciosas:

B.3.5.1.-Exclusión permanente:

B.3.5.1.1.-Personas que padecen o han padecido: Babebiosis, hepatitis B (antígeno HBs confirmado), hepatitis C, VIH/SIDA. HTLV I/II, lepra, leishmaniosis (kala-azar), fiebre Q, enfermedad de Chagas.

B.3.5.1.2.- Los donantes con antecedentes de ictericia o hepatitis pueden ser admitidos según criterio médico cuando tengan antígeno HBs y VHC negativos.

B.3.5.1.3.- Haber sido excluido por las recomendaciones para prevenir la transmisión de VIH.

B.3.5.1.4.- Haber sido donante único de un paciente que haya desarrollado hepatitis o SIDA, sin que se conozca otra causa, o estar involucrado en el desarrollo de hepatitis o SIDA postransfusional de dos pacientes.

B.3.5.1.5.- Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) o antecedentes de las mismas en la familia consanguínea.

B.3.5.1.6.- Receptores de córnea y duramadre y haber recibido hormona del crecimiento u otros extractos de origen humano imposibilitan para la donación.

B.3.5.2.- Exclusión de 2 años:

B.3.5.2.1.- Tuberculosis (después de declarada la curación).

B.3.5.2.2.- Toxoplasmosis (después de curación clínica y ausencia de anticuerpos IgM).

B.3.5.2.3.- Brucelosis (después de recuperación total).

B.3.5.2.4.- Fiebre reumática tras recuperación sin secuelas.

B.3.5.3.- Exclusión 12 meses:

B.3.5.3.1.- Tatuajes.

B.3.5.3.2.- Exposición de las mucosas a sangre.

B.3.5.3.3.- Perforación cutánea o de mucosas con material no estéril.

B.3.5.3.4.- Contacto sexual o familiar con pacientes con hepatitis viral B, C u otras de transmisión parenteral.

B.3.5.3.5.- Contacto sexual con personas con VIH positivo o con alto riesgo de ser portadoras.

B.3.5.3.6.- Examen endoscópico.

B.3.5.3.7.- Implantación de catéteres intravasculares.

B.3.5.3.8.- Trasplante de tejido o trasplante celular.

B.3.5.3.9.- Transfusiones.

B.3.5.3.10.- Alergia a medicamentos, especialmente Penicilina (después de la última exposición).

B.3.5.3.11.- Enfermedades de transmisión sexual: historia de sífilis o gonorrea, o pruebas serológicas positivas, exclusión hasta 12 meses después de finalizar el tratamiento.

B.3.5.4.- Exclusión de 6 meses: Mononucleosis infecciosa (después de curación clínica).

B.3.5.5.- Exclusión temporal (no definida):

B.3.5.5.1.- Donantes que en una segunda muestra han dado un resultado indeterminado en alguna de las pruebas de detección de agentes infecciosos transmisibles por transfusión.

B.3.5.5.2.- Contacto con enfermedades infecciosas: Período de cuarentena similar al período de incubación, o en el caso de ser este último desconocido, el médico establecerá la naturaleza de la exposición y el tiempo de rechazo.

B.3.5.5.3.- Personal sanitario en contacto directo con enfermos de hepatitis será aceptado a criterio médico.

B.3.5.6.- Otras exclusiones:

B.3.5.6.1.- Exclusión de dos semanas: Síndrome febril (>38°C).

B.3.5.6.2.- Enfermedades infecciosas tras su curación y no estén incluidas en alguno de los apartados anteriores.

B.3.5.6.3.- Resfriado común: una semana tras la desaparición de los síntomas.

B.3.5.7.- Paludismo:

B.3.5.7.1.- Exclusión de 3 años:

B.3.5.7.1.1.- Personas que lo hayan padecido estén asintomáticos y sin tratamiento, solo aceptables como donantes de plasma. Posteriormente si las pruebas inmunológicas son negativas, pueden donar hemáties.

B.3.5.7.1.2.- Nacidos en zonas endémicas y que hayan permanecido en ella cinco años o más.

B.3.5.7.1.3.- Personas que hayan estado en zonas endémicas y han tenido episodios febriles y no se han realizado la prueba inmunológica.

B.3.5.7.2.- Exclusión de 6 meses: Aquellas personas que han estado en zonas endémicas y no han tenido episodios febriles.

C.- EXTRACCIÓN DE SANGRE

C.1.- LUGAR DE DONACIÓN.

C.1.1.- Los locales de extracción, unidades móviles o puntos fijos, cumplirán las condiciones de salud y seguridad necesarias tanto para el donante como para el personal que los atiende.

C.1.2.- Dispondrán de un espacio adecuado que permita un libre acceso, garantice la confidencialidad, disponga de una adecuada temperatura, luz, ventilación y limpieza.

C.2.- EQUIPAMIENTO.

C.2.1.- Existirá un procedimiento de uso, revisión y mantenimiento preventivo de todo el equipo e instrumental que se use en los puntos donde se realicen las extracciones.

C.2.2.- Las bolsas de recogida de sangre se inspeccionarán antes de su uso. En caso de que el continente o el contenido no cumplieran los requisitos establecidos por el fabricante se desecharán registrándose dicha incidencia.

C.2.2.1.- En todo momento se cumplirán las condiciones de almacenamiento establecidas por el fabricante.

C.3.- PROCEDIMIENTO. La extracción de sangre se realizará mediante punción única, con un sistema cerrado y estéril que será inspeccionado visualmente antes de su uso.

C.4.- PREPARACIÓN DE LA ZONA DE VENOPUNCIÓN.

C.4.1.- Aunque es imposible una garantía total de esterilidad de la piel, sin embargo, es necesario disponer de un procedimiento para la preparación de la venopunción y un sistema de control de descontaminación de la piel.

C.4.2.- La solución antiséptica empleada deberá secarse como mínimo durante 30 segundos antes de la venopunción.

C.4.3.- La superficie preparada no debe ser tocada con los dedos antes de la inserción de la aguja.

C.5.- EXTRACCIÓN.

C.5.1.- Antes de la extracción se comprobará mediante una identificación positiva del donante, que sus datos coinciden con los recogidos en la documentación a utilizar en el proceso de donación.

C.5.2.- Se intentará canalizar la vena al primer intento. En caso de realizar una segunda punción se utilizará un nuevo equipo de extracción.

C.5.3.- Se garantizará una correcta mezcla de la sangre con el anticoagulante durante todo el proceso de extracción. Si la mezcla se realiza manualmente se debe invertir la bolsa cada 30-45 segundos.

C.5.4.- El flujo de la sangre debe ser suficiente e ininterrumpido. Es recomendable que la extracción de sangre total no supere los 10 minutos. Si excede este periodo no se empleará para la preparación de plaquetas.

C.5.5.- Finalizada la extracción se sellará el tubular y se homogeneizará su contenido con el del interior de la bolsa.

C.5.6.- Habrá normas que especifiquen las condiciones de conservación y transporte de la unidad de sangre desde la extracción hasta su fraccionamiento.

C.6 .- MUESTRAS PILOTO.

C.6.1.- El Banco de Sangre dispondrá de un procedimiento que garantice la correcta identificación de la ficha del donante, la bolsa principal y satélites y muestras piloto.

C.6.2.- Si las muestras se extraen al final de la donación, el intervalo de tiempo será el mínimo, y antes de desplazar las bolsas de sangre y las muestras piloto a otro sitio, se comprobará su identificación.

C.6.3.- Se recomienda conservar las muestras del donante el mayor tiempo posible.

C.7 .- VOLUMEN EXTRAÍDO. El volumen extraído no sobrepasará el 13% de la volemia obtenida sobre el peso y altura del donante.

C.8 .- REACCIONES ADVERSAS.

C.8.1.- Existirán instrucciones escritas para la prevención y el tratamiento y posterior registro de las reacciones adversas.

C.8.2.- El equipo y medicación necesarios para su tratamiento, se revisarán y actualizarán periódicamente, registrándose dichas revisiones.

C.9 .- INCIDENTES Y ACCIDENTES. Existirá un procedimiento de actuación en general, en casos de incidentes y accidentes que puedan ocurrir durante las extracciones a los donantes.

D.- COMPONENTES SANGUÍNEOS: PREPARACIÓN, ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y REQUISITOS DEL CONTROL DE CALIDAD.

D.1.- CONSIDERACIONES GENERALES.

D.1.1.- Los componentes sanguíneos son aquellos productos terapéuticos de la sangre (glóbulos rojos, blancos, plaquetas, plasma) que pueden prepararse mediante centrifugado, filtración y congelación utilizando la metodología convencional de los Bancos de Sangre.

D.1.2.- En la preparación y posterior manipulación de los componentes sanguíneos se utilizarán métodos que garanticen las condiciones de esterilidad en todo momento. En caso de que se abra el sistema se reducirán los periodos de caducidad: 24 horas para los componentes que se conserven a 2-6° C y 6 horas para aquellos que se mantengan a 20-24° C.

D.1.3.- Las conexiones estériles deben considerarse como sistema cerrado.

D.1.4.- Existirán procedimientos actualizados donde se describan la conservación de los componentes sanguíneos antes, durante y después de su preparación, el método de fraccionamiento, el uso de soluciones aditivas, la caducidad, los procedimientos de leucorreducción y congelación y los controles de calidad que deben cumplir los productos iniciales, intermedios y finales.

D.1.5.- El tiempo máximo de almacenamiento (período de caducidad) de un componente sanguíneo, dependerá de la solución anticoagulante-conservadora utilizada, de la temperatura de almacenamiento y de los diferentes tratamientos a que se someta.

D.1.6.- Se considera fecha de caducidad de un componente, al último día útil para la transfusión.

D.2.- DEFINICIÓN DE LOS COMPONENTES SANGUÍNEOS.

D.2.1.- COMPONENTE SANGUÍNEO: Es el preparado terapéutico de la sangre (hematíes, leucocitos, plaquetas y plasma) que puede obtenerse mediante centrifugado, filtración o congelación utilizando la metodología convencional de los bancos de sangre.

D.2.2.- PRODUCTO SANGUÍNEO: Cualquier preparado terapéutico derivado de donaciones de sangre total o plasma humanos. Esta definición incluye tanto los componentes sanguíneos lábiles como los derivados plasmáticos estables.

D.2.3.- SANGRE TOTAL: Es el componente sanguíneo obtenido a partir de un donante sano, mezclada con anticoagulante, conservada en un contenedor estéril y que no se ha fraccionado. Su principal uso es como producto inicial para la preparación de otros componentes sanguíneos.

D.2.4.- CONCENTRADO DE HEMATÍES: Es el componente sanguíneo obtenido al separar el plasma de la sangre total por centrifugación o sedimentación en cualquier momento antes de la fecha de caducidad.

D.2.5.- CONCENTRADO DE HEMATÍES SIN CAPA LEUCOPLAQUETARIA. Es el componente sanguíneo obtenido al retirar de la sangre total la capa leucoplaquetar y la mayor parte del plasma.

D.2.6.- CONCENTRADO DE HEMATÍES EN SOLUCION ADITIVA. Es el componente sanguíneo preparado por centrifugación de la sangre total, retirando la mayor parte del plasma y añadiendo a los hematíes una solución nutritiva apropiada.

D.2.7.- CONCENTRADO DE HEMATÍES SIN CAPA LEUCOPLAQUETARIA EN SOLUCION ADITIVA. Es el componente sanguíneo preparado por centrifugación de la

sangre total, retirando la mayor parte del plasma y de la capa leucoplaquetaria y añadiendo a los hematíes una solución nutritiva apropiada.

D.2.8.- CONCENTRADO DE HEMATÍES LEUCORREDUCIDO. Es el componente sanguíneo obtenido tras la eliminación de la mayor parte de los leucocitos del concentrado de hematíes por filtración.

D.2.9.- CONCENTRADO DE HEMATÍES LAVADO. Es un concentrado de hematíes lavado con solución isotónica para eliminar prácticamente todo el plasma y la mayor parte de las proteínas que contiene.

D.2.10.- CONCENTRADO DE HEMATÍES CONGELADO. Es aquel concentrado de hematíes que se congela añadiendo un agente crioprotector, que deberá eliminarse antes de la transfusión. La congelación debe realizarse preferentemente antes de los siete días postextracción y estos concentrados serán almacenados a temperatura inferior a -65°C .

D.2.11.- CONCENTRADO DE HEMATÍES OBTENIDO POR AFÉRESIS. Hace referencia al método de extracción del concentrado de hematíes y sus características dependerán de las soluciones aditivas, del anticoagulante o de los métodos de procesamiento que se usen.

D.2.12.- PLASMA FRESCO CONGELADO. Componente sanguíneo obtenido de donante único a partir de una unidad de sangre total o mediante aféresis, tras la separación de los hematíes. Debe congelarse en un periodo de tiempo y a una temperatura que aseguren un correcto mantenimiento de los factores lábiles de coagulación.

D.2.12.1.- Para la transfusión se utilizará Plasma Fresco Congelado con medidas adicionales de seguridad en sus diferentes formas. En los casos urgentes y de acuerdo con la legislación española, se podrán usar otros tipos de plasma fresco.

D.2.13.- CRIOPRECIPITADO. Componente sanguíneo obtenido a partir del plasma fresco congelado por descongelación y que contiene la fracción crioglobulínica del plasma.

D.2.14.- PLASMA SOBRENADANTE DE CRIOPRECIPITADO. Componente sanguíneo obtenido tras la separación del crioprecipitado del plasma. Tiene reducidos los factores V, VIII y fibrinógeno.

D.2.15.- DERIVADO PLASMÁTICO. Proteína de plasma humano altamente depurada preparada con procedimientos estándar de la industria farmacéutica.

D.2.16.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS UNITARIO. Componente sanguíneo que contiene la mayor parte de las plaquetas de una unidad de sangre suspendidas en plasma u otras soluciones conservantes. Pueden obtenerse a partir de plasma rico en plaquetas o de capa leucoplaquetar.

D.2.17.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS DE VARIAS UNIDADES. Concentrado de plaquetas preparado a partir de plaquetas unitarias o capas leucoplaquetarias procedentes de varias unidades de sangre total. En este caso el componente final cumplirá los requisitos mínimos correspondientes al número de unidades que integren la mezcla.

D.2.18.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS OBTENIDO POR AFÉRESIS. Componente sanguíneo que contiene plaquetas suspendidas en plasma u otra solución conservante, obtenido a partir de donante único mediante un equipo de separación celular.

D.2.19.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS CRIOPRESERVADAS. Es el concentrado de plaquetas que se congela añadiendo un agente crioprotector. La congelación debe realizarse en las 24 horas postextracción. La temperatura de almacenamiento será de -80°C o inferior.

D.2.20.- CONCENTRADO DE GRANULOCITOS OBTENIDO POR AFÉRESIS. Es el componente sanguíneo que contiene granulocitos en concentración elevada, suspendidos en plasma y obtenido mediante un equipo de separación celular.

D.3.- CONSERVACIÓN, CADUCIDAD Y CONTROL DE CALIDAD DE LOS COMPONENTES SANGUÍNEOS.

D.3.1.- SANGRE TOTAL.

D.3.1.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C en CPD o ACD: 21 días.
- De 2°C a 6°C en CPD-A: 35 días.
- Sistema abierto: 24 horas.
- Después de la extracción, la sangre puede ser conservada hasta 24 horas a una temperatura de 22 ± 2°C .

D.3.1.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	450 ml ± 10% excluido anticoagulante
Hemoglobina	1% .Mínimo 4 u./mes (si se utiliza como producto a transfundir)	≥ 45 g/u.
Hemólisis al final de la caducidad	1%. Mínimo 4 u./mes (si se utiliza como producto a transfundir)	< 0,8% de la masa globular

D.3.2.- CONCENTRADO DE HEMATÍES.

D.3.2.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C en CPD o ACD: 21 días.
- De 2°C a 6°C en CPD-A: 35 días.
- Sistema abierto: 24 horas.

D.3.2.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	280±50 ml
Hematocrito	1% (mínimo 4 u./mes)	65-75%
Hemoglobina	1% (mínimo 4 u./mes)	≥ 45 g/u.

D.3.3.- CONCENTRADO DE HEMATÍES SIN CAPA LEUCOPLAQUETARIA.

D.3.3.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C en CPD o ACD: 21 días.
- De 2°C a 6°C en CPD-A: 35 días.
- Sistema abierto: 24 horas.

D.3.3.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	280 ±50 ml
Hematocrito	1% (mínimo 4 u./mes)	65-75%
Hemoglobina	1% (mínimo 4 u./mes)	≥ 43 g/u.
Leucocitos	1% (mínimo 4 u./mes)	< 1,2 x 10 ⁹ /u. (75% de las u.)

D.3.4.- CONCENTRADO DE HEMATIES EN SOLUCION ADITIVA.

D.3.4.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C: caducidad adecuada a cada solución aditiva.
- Sistema abierto: 24 horas.

D.3.4.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	A definir por el sistema
Hematocrito	1% (mínimo 4 u./mes)	50-70%
Hemoglobina	1% (mínimo 4 u./mes)	≥ 45 g/u.

D.3.5.- CONCENTRADO DE HEMATIES SIN CAPA LEUCOPLAQUETARIA EN SOLUCION ADITIVA.

D.3.5.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C: caducidad adecuada a cada solución aditiva.
- Sistema abierto: 24 horas.

D.3.5.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	A definir por el sistema
Hematocrito	1% (mínimo 4 u./mes)	50-70%
Hemoglobina	1% (mínimo 4 u./mes)	≥ 43 g/u.
Leucocitos	1% (mínimo 4 u./mes)	< 1,2 x 10 ⁹ /u. (75% de las u.)

D.3.6.- CONCENTRADO DE HEMATIES LEUCORREDUCIDO.

D.3.6.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C igual caducidad que para los Concentrados de Hematíes.
- Sistema abierto: 24 horas.

D.3.6.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	250±50 ml. en el 75% de las u.
Hemoglobina	1% de las u. (mínimo 4 u./mes)	≥ 40 g/u.
Leucocitos	1% de las u. (mínimo 10 u./mes)	< 1 x10 ⁶ /u. en 90% de las u.

D.3.7.- CONCENTRADO DE HEMATIES LAVADO.

D.3.7.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- De 2°C a 6°C : 24 horas.
- De 20°C a 24°C: 6 horas.

D.3.7.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	Todas las u.	A definir por el sistema
Hematocrito	Todas las u.	65-75%
Hemoglobina	Todas las u.	≥ 40 g/u.
Proteínas	Todos las u.	< 0,5g./u. (IgA< 0,2 mg.)

D.3.8.-CONCENTRADO DE HEMATIES CONGELADO.

D.3.8.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- < -60°C almacenamiento 10 años.
- Desglicerolizado de 1°C a 6°C: 24 horas.
- Desglicerolizado de 20°C a 24°C: 6 horas.

D.3.8.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	Todas las u.	> 185 ml
Hematocrito	Todas las u.	65-75%
Hemoglobina	Todas las u.	≥ 36 g/u.
Hemoglobina sobrenadante	Todos las u.	< 0,2 g./u.
Osmolaridad	1%	<340mOsm/l
Leucocitos	1%	<0,1 x 10 ⁹ (75% de las u.)
Esterilidad	1%	Estéril

D.3.9.- CONCENTRADO DE HEMATIES OBTENIDO POR AFÉRESIS

Las condiciones de almacenamiento y caducidad y el control de calidad a realizar, serán los mismos que los de los concentrados de hematíes y dependerán de las soluciones aditivas y los métodos de procesamiento que se usen.

D.3.10.-PLASMA FRESCO CONGELADO.

D.3.10.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- ≤ - 30°C almacenamiento 1 año.
- - 25 a - 30°C almacenamiento 6 meses.
- - 18 a - 25°C almacenamiento 3 meses.
- Descongelado y mantenido de 2°C a 6°C almacenamiento 24 horas.

D.3.10.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Factor VIIIc	Cada 2 meses: • 6 u. el primer mes de conservación • 6 u. el último mes de conservación	• Antes de tratamiento para inactivación viral > 0.70 UI/ml • El plasma inactivado con Azul de Metileno deberá conservar más del 70% del f. VIII original
Células residuales	1%, mínimo 4 al mes	• Leucocitos < 0,1x10 ⁹ /l • Plaquetas < 50x10 ⁹ /l

D.3.11.-CRIOPRECIPITADO.

D.3.11.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- ≤ - 30°C almacenamiento 1 año.
- - 25 a - 30°C almacenamiento 6 meses.
- - 18 a - 25°C almacenamiento 3 meses.
- Descongelado y mantenido de 2°C a 6°C almacenamiento 6 horas.

D.3.11.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Factor VIIIc	Cada 2 meses: • 6 u. el primer mes de conservación. • 6 u. el último mes de conservación.	> 0. 70 UI/ml
Fibrinógeno	1%.	> 140 mg/u.
Volumen	Todas las u.	10-25 ml.

D.3.12.- PLASMA SOBRENADANTE DE CRIOPRECIPITADO.

D.3.12.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- ≤ - 30°C almacenamiento 5 años.
- - 18 a - 30°C almacenamiento 2 años.
- Descongelado y mantenido de 2 a 6°C almacenamiento 24 horas.

D.3.13.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS UNITARIO.

D.3.13.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD.

- 20°C a 24°C. Almacenamiento en agitación continua suave máximo 5 días.
- 20°C a 24°C sin agitación, máximo 24 h.
- Sistema abierto máximo 6 h.

D.3.13.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	1%	> 40ml
Plaquetas	1%	$6 \times 10^{10}/u.$ (75% de las u.)
Leucocitos (PRP)	1%	$< 0,2 \times 10^9/u.$ (75% de las u.)
Leucocitos (Buffy-coat)	1%	$< 0,5 \times 10^8/ud.$ (75% de las u.)
Leucocitos tras filtración.	1%	$< 0,2 \times 10^6/u.$ (90% de las u.)
PH	1%	6,8-7.4

Los concentrados de plaquetas de varias unidades, cumplirán los requisitos mínimos correspondientes al número de unidades que integren la mezcla

D.3.14.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS OBTENIDO POR AFÉRESIS.

D.3.14.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD.

- 20°C a 24°C. Almacenamiento en agitación continua suave máximo 5 días.
- 20°C a 24°C sin agitación, máximo 24 h.
- Sistema abierto máximo 6 h.

D.3.14.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	Todas las u.	40ml / 6×10^{10} plaquetas
Plaquetas	1%	$> 2,5 \times 10^{11}/u.$ (75% de las u.)
Leucocitos (con leucorreducción)	1%	$< 1 \times 10^6/u.$ (90% de las u.)
PH	1%	6,8-7.4

D.3.15.- CONCENTRADO DE PLAQUETAS CRIOPRESERVADAS.

D.3.15.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD.

- < -80°C almacenamiento hasta 12 meses.
- < -150°C almacenamiento >12 meses.
- Descongelado 20°C-24°C en agitación suave, el menor tiempo posible.

D.3.15.2.-CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	Todas las u.	50 a 200 ml.
Plaquetas	Todas las u.	> 40% de la cifra inicial
Leucocitos residuales	Todas las u.	$< 0,2 \times 10^6$ por cada 60×10^9 plaquetas

D.3.16.- CONCENTRADO DE GRANULOCITOS OBTENIDOS POR AFÉRESIS.

D.3.16.1.- ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD:

- 20°C-24°C. 12 horas.

D.3.16.2.- CONTROL DE CALIDAD.

Parámetro	Frecuencia	Especificación
Volumen	Todas las u.	< 500 ml.
Granulocitos	Todas las u.	>10 x 10 ⁹ /u. (75% de las u.)

E.- DETERMINACIONES ANALÍTICAS.

E.1 .- GRUPO ABO Y RH.

E.1.1.- El grupo previo de un donante (ABO y Rh) no servirá para identificar la unidad de la nueva donación. Se determinará este tras cada extracción mediante las siguientes pruebas:

E.1.1.1.- GRUPO ABO. En cada donación de sangre se determinará el grupo ABO enfrentando los hematíes a reactivos anti-A y anti-B y el suero/plasma a células A1 y B.

E.1.1.2.- Rho(D). Se determinará utilizando al menos dos antisueros anti-D con sus correspondientes controles.

E.1.1.3.- Si el resultado inicial es negativo, se descartará la presencia de D débil. Cuando ambas determinaciones sean negativas se considerará "Rh negativo". Cuando alguna de las determinaciones sea positiva, se considerará "Rh positivo".

E.2 .- COMPROBACIONES.

E.2.1.- Antes de etiquetar cada unidad se comprobará la concordancia entre grupo ABO sérico y hemático y en las determinaciones del D. Si existen discrepancias, se resolverán adecuadamente.

E.2.2.- Se comprobará la identidad entre el grupo obtenido del tubo y el grupo hemático de la bolsa.

E.2.3.- En los donantes ya estudiados, se comparará el grupo obtenido con

el previo. Si hubiera discrepancia, se determinará nuevamente el grupo con una muestra obtenida del segmento de la bolsa de sangre.

E.3 .- ANTICUERPOS IRREGULARES.

E.3.1.- Se hará un estudio de anticuerpos irregulares antieritrocitarios en las muestras de donantes con historia previa de transfusión o embarazo.

E.3.2.- El método utilizado debe ser capaz de detectar los anticuerpos clínicamente significativos.

E.3.3.- Los Componentes Sanguíneos (CH y CP) con anticuerpos irregulares antieritrocitarios positivos deben contener la mínima cantidad de plasma. El PFC de las unidades con AI positivos no se destinará a transfusión.

E.4 .- DETERMINACIONES PARA DISMINUIR LA TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

E.4.1.- A en cada donación, a partir de una muestra individual, se realizarán las pruebas de cribado para la detección de:

E.4.1.1.- Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg)

E.4.1.2.- Anticuerpos contra los virus de la inmunodeficiencia humana (Anti VIH 1 y 2).

E.4.1.3.- Anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (Anti VHC).

E.4.1.4.- Detección del virus de la hepatitis C (VHC) por técnicas de amplificación genómica u otras pruebas de detección directa del virus con

similar o superior sensibilidad y debidamente validadas. (obligatorio a partir del 1 de Enero de 2003)

E.4.1.5.- Serología de la sífilis.

E.4.2.- Las técnicas utilizadas en estas pruebas deberán tener, en cada momento, un nivel óptimo de sensibilidad y especificidad. Los reactivos empleados cumplirán la normativa sanitaria nacional.

E.4.3.- Se aceptará el uso de los componentes sanguíneos y la admisión del donante para siguientes donaciones solamente en el caso de que todos los resultados de las pruebas de cribado sean inequívocamente negativos.

E.4.4.- En aquellos casos de pruebas analíticas reactivas se procederá de la siguiente manera: **(algoritmo en anexo 1)**.

E.4.4.1.- Si en las pruebas de cribado los resultados no son negativos, la prueba reactiva deberá repetirse por duplicado con la misma muestra de sangre o con una procedente de la misma extracción (es recomendable que una de las muestras proceda de plasma de la propia unidad). Para ello se utilizará el mismo método. Para determinar la aceptación o exclusión de los componentes sanguíneos y del donante para futuras donaciones o la realización de pruebas suplementarias se seguirán los siguientes criterios:

E.4.4.1.1.- Si en la repetición, los dos resultados son inequívocamente negativos, se aceptará la donación y al donante.

E.4.4.1.1.1- Si el resultado de una o ambas repeticiones no es claramente negativo: se eliminará la unidad (o todos los componentes sanguíneos ya obtenidos).

E.4.5.- Para definir la situación del donante se procederá a efectuar pruebas de confirmación utilizando la misma muestra de sangre y con técnicas de distinto principio biológico que se aplicó en la prueba de cribado.

E.4.5.1.- Si el resultado de la prueba confirmatoria es negativo se aceptará al donante.

E.4.5.2.- En caso de resultado positivo de la prueba confirmatoria:

E.4.5.1.1.- Se informará lo antes posible y siempre antes de transcurridos siete días a los centros que hayan recibido los componentes sanguíneos de donaciones anteriores del mismo donante, para la recuperación y retirada de los componentes no utilizados.

E.4.5.1.2.- Se obtendrá una segunda muestra de sangre del donante, para confirmación.

E.4.5.3.- Cuando el resultado de la prueba confirmatoria sea indeterminado:

E.4.5.3.1.- Se informará lo antes posible y siempre antes de transcurridos siete días a los centros que hayan recibido los componentes sanguíneos de donaciones anteriores del mismo donante, para la recuperación y retirada de los componentes no utilizados.

E.4.5.3.2.- En ambas situaciones, resultado positivo o indeterminado, se obtendrá una segunda muestra de sangre del donante, en la que se hará una prueba de cribado y otra de confirmación.

E.4.5.3.3.- Si todos los resultados son negativos: Se aceptará al donante.

E.4.5.3.4.- Si el resultado es indeterminado:

E.4.5.3.4.1.- Se excluirá temporalmente al donante y se le informará de ello.

E.4.5.3.4.2.- Se realizarán estudios adicionales.

E.4.5.3.5.- En caso de que el resultado sea positivo:

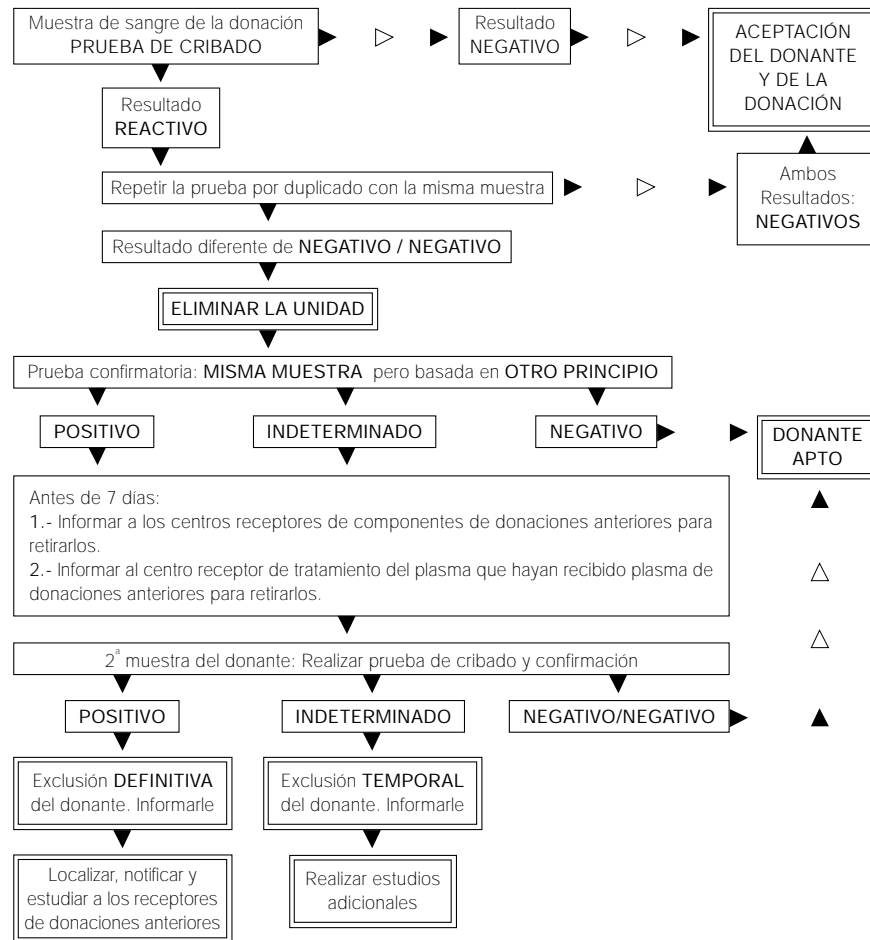
E.4.5.3.5.1.- Se excluirá de forma permanente al donante y se le informará de ello.

E.4.5.3.5.2.- Se procederá a la localización, notificación y al estudio de los receptores de las donaciones anteriores.

E.4.6.- Habrá un fichero de donantes positivos excluidos definitivamente y otro con donantes con muestras repetidamente reactivas con exclusión temporal.

ANEXO 1

Algoritmo para la interpretación de resultados de pruebas para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas.



Es recomendable que una de las muestras de la repetición sea de plasma de la unidad

F.- ETIQUETADO.

F.1 .- Las etiquetas de los componentes sanguíneos y de las muestras deben estar firmemente adheridas y ser fácilmente legibles.

F.2 .- IDENTIFICACION DE LAS UNIDADES.

F.2.1.- Debe usarse un sistema numérico o alfanumérico que permita el seguimiento de cualquier unidad.

F.2.2.- Se utilizará un solo número de identificación para cada unidad y componentes, así como para los tubos con las muestras para los análisis preceptivos. Este número debe permanecer inalterable.

F.3 .- ETIQUETADO DEL PRODUCTO FINAL.

F.3.1.- Deben estar claramente definidos los criterios de aceptación de los diferentes componentes sanguíneos para su uso transfusional. Solo se etiquetarán para dicho uso los componentes que los cumplan.

F.3.1.- La etiqueta de los diferentes componentes sanguíneos debe contener como mínimo, la siguiente información:

F.3.1.1.- Nombre del producto.

F.3.1.2.- Identificación numérica o alfanumérica.

F.3.1.3.- Nombre y cantidad del anticoagulante y solución conservadora según el componente de que se trate.

F.3.1.4.- Volumen del producto.

F.3.1.5.- Temperatura y condiciones de almacenamiento.

F.3.1.6.- Fecha de extracción y caducidad.

- F.3.1.7.- ABO, Rh (D) y anticuerpos irregulares antieritrocitarios.
- F.3.1.8.- Resultado de las pruebas serológicas de los agentes infecciosos.
- F.3.1.9.- Nombre del Banco de Sangre.
- F.3.1.10.- Instrucciones sobre su utilización (No usar si hay signos de hemólisis y utilizar filtro de 70-200 micras)
- F.3.1.11.- Cualquier modificación del componente sanguíneo o característica especial del mismo.

F.3.2.- En los "pooles" de componentes, la etiqueta deberá contener como mínimo la siguiente información:

- F.3.2.1.- Nombre del componente.
- F.3.2.2.- Identificación numérica o alfanumérica única del "pool".
- F.3.2.3.- Cantidad de unidades que lo componen.
- F.3.2.4.- Volumen final.
- F.3.2.5.- Temperatura y condiciones de almacenamiento.
- F.3.2.6.- Fecha de extracción y caducidad.
- F.3.2.7.- ABO y Rh (D) de las unidades.
- F.3.2.8.- Resultado de las pruebas serológicas de los agentes infecciosos.
- F.3.2.9.- Nombre del Banco de Sangre.
- F.3.2.10.- En los registros debe constar inequívocamente la identificación de cada una de las unidades que componen los "pooles".

F.3.3.- En la etiqueta de las unidades de plasma deberá indicar también:

- F.3.3.1.- Si procede de donación de sangre total o de aféresis
- F.3.3.2.- Si está sometido a cuarentena o a algún proceso de atenuación de virus.

F.3.4.- En la etiqueta de los hematíes lavados y hematíes congelados debe constar:

- F.3.4.1.- Composición y volumen de solución para suspensión.
- F.3.4.2.- Fecha y hora de preparación y caducidad

F.4 .- PROCEDIMIENTO DE ETIQUETADO. Existirán procedimientos escritos para evitar los errores durante el etiquetado de los componentes.

G .- ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE.**G.1 .- ALMACENAMIENTO.**

G.1.1.- El almacenamiento de los diferentes componentes sanguíneos debe realizarse en las temperaturas y condiciones definidas anteriormente.

G.1.2.- Los equipos para el almacenamiento de los componentes sanguíneos (frigoríficos, congeladores e incubadores) deben tener:

G.1.2.1.- Un sistema de circulación de aire para asegurar el correcto mantenimiento de la temperatura.

G.1.2.2.- Un sistema de registro continuo de la temperatura.

G.1.2.3.- Un sistema de alarma audiovisual con las siguientes características:

G.1.2.3.1.- Se debe activar a una temperatura que permita retirar los componentes sanguíneos antes de que sufran alteraciones.

G.1.2.3.2.- Debe ser oída o verse en un área donde haya personal que tome inmediatamente las medidas correctivas.

G.1.2.3.3.- La alarma de los contenedores de nitrógeno líquido debe activarse cuando éste alcance niveles inseguros.

G.1.2.3.4.- Se deberá comprobar periódicamente el funcionamiento de las alarmas.

G.1.2.4.- Una capacidad adecuada al contenido, de manera que el espacio sea fácil de inspeccionar y permita mantener ordenados los componentes sanguíneos.

G.1.2.5.- Los frigoríficos para almacenamiento entre 2°C y 6°C, deben

restringir su uso a sangre total, componentes sanguíneos y tubos piloto. Se debe reservar un espacio claramente separado e identificado para:

G.1.2.5.1.- Unidades para distribución.

G.1.2.5.2.- Unidades seleccionadas para determinados pacientes, incluidas las donaciones autólogas.

G.1.2.5.3.- Unidades que estén en cuarentena.

G.1.2.5.4.- Unidades caducadas o desechadas.

G.1.2.5.5.- Tubos piloto.

G.1.2.6.- Los congeladores pueden contener componentes plasmáticos para transfusión, plasma no terapéutico, otros componentes criopreservados y productos séricos.

G.1.2.6.1.- Deben asignarse espacios claramente separados e identificados para cada producto con el objeto de evitar confusiones.

G.1.2.7.- Los componentes que se almacenen a 20°C-24°C, se mantendrán preferentemente dentro de un incubador cerrado con control de temperatura. Si no hay ninguno disponible, el espacio elegido para el almacenamiento, debe ser capaz de mantener la temperatura requerida de manera constante y verificable.

G.1.3.- Las plaquetas se almacenarán en agitadores que:

G.1.3.1.- Permitan un mezclado del contenido de la bolsa, así como un intercambio gaseoso a través de la pared de la misma.

G.1.3.2.- Eviten que las bolsas se plieguen.

G.1.4.- Deben existir procedimientos escritos sobre el mantenimiento de los componentes sanguíneos en condiciones adecuadas de temperatura, y que,

además, incluyan las instrucciones a seguir en caso de corte del suministro eléctrico u otras alteraciones de las condiciones del almacenamiento.

G.2 .- TRANSPORTE Y DISTRIBUCIÓN.

G.2.1.- El transporte se realizará en contenedores cerrados de tal forma que no se abran de forma incidental. Si son reutilizables deben poder limpiarse.

G.2.2.- Los hematíes se transportarán a temperatura entre 1°C y 10°C.

G.2.3.- Los componentes sanguíneos que se mantienen entre 20°C y 24°C se transportarán a dicha temperatura.

G.2.4.- Los que estén congelados, de forma que se mantenga la congelación.

G.2.5.- Los componentes sanguíneos deben inspeccionarse antes de su envío y en el momento de su recepción, y se comprobará la temperatura quedando registrados adecuadamente estos procesos. No podrán utilizarse para transfusión, aquellas unidades que hayan excedido los intervalos de temperatura definidos.

G.2.6.- Los componentes sanguíneos devueltos no deben ser destinados para transfusión si la bolsa ha sido abierta o utilizada, si el producto no se ha mantenido de forma continua dentro de los márgenes de temperatura o si hay evidencia de roturas, cambio de color o hemólisis.

G.2.7.- En el caso de los Concentrados de Hematíes se requerirá la existencia de al menos un segmento del tubular unido a la bolsa.

G.2.8.- La identificación correcta, fecha y hora de la distribución de cada componente sanguíneo deben estar documentados.

H .- AFÉRESIS

H.1 .- SELECCIÓN DE DONANTES. Los criterios de selección de donantes de aféresis son los mismos que para los donantes de sangre total. Además, se debe hacer especial énfasis en los siguientes aspectos:

H.1.1.- Anamnesis: Se hará hincapié en los siguientes procesos:

H.1.1.1.- Episodios de sangrado anormal.

H.1.1.2.- Historia sugestiva de retención hídrica, sobre todo si se van a utilizar esteroides o expansores de plasma.

H.1.1.3.- No haber tomado ácido acetilsalicílico u otros fármacos que interfieran la agregación plaquetaria en los cinco días anteriores a una tromboaféresis.

H.1.1.4.- Historia de molestias gastrointestinales cuando se vayan a utilizar esteroides.

H.1.1.5.- Reacciones adversas a donaciones previas.

H.1.1.6.- Los criterios de selección para la donación de progenitores hematopoyéticos se detallan en el capítulo correspondiente.

H.1.2.- Examen del donante de Plasmaféresis:

H.1.2.1.- Pulso y tensión arterial.

H.1.2.2.- Hemograma.

H.1.2.3.- Dosificación de proteínas séricas.

H.1.2.4.- Comprobación de que no existen anomalías en las fracciones globulínicas.

H.1.2.5.- La analítica se repetirá a intervalos regulares sin exceder las 6 donaciones consecutivas.

H.1.2.6.- Se suspenderá temporalmente el programa de plasmaféresis si la cifra de proteínas es inferior a 60 g/l. o si hay un descenso del 10% en la tasa de proteínas o globulinas.

H.1.3.- Examen del donante de Citaféresis:

H.1.3.1.- Pulso y tensión arterial.

H.1.3.2.- Hemograma.

H.1.3.3.- Para las tromboaféresis, el conteo de plaquetas debe ser superior a $150 \times 10^9/l$.

H.1.3.4.- A los donantes de citaféresis que donen para un paciente determinado, se les realizarán las pruebas obligatorias en la primera citaféresis y al menos cada 10 días si vuelve a donar.

H.1.3.5.- El donante de eritroaféresis de más de una unidad debe tener un volumen sanguíneo estimado superior a 5 litros. La hemoglobina previa a la donación debe ser al menos 140 g/l y no debería ser menor de 110 g/l después de la donación.

H.1.3.6.- Para la realización de una aféresis de multicomponentes, deben cumplirse los requisitos de cada tipo de donación, y en ningún caso la volemia final del donante disminuirá más del 13% de la volemia inicial.

H.1.4.- Examen del donante de Progenitores Hematopoyéticos: Ver capítulo correspondiente.

H.2 .- FRECUENCIA Y VOLUMEN MAXIMO DE LA DONACION.

H.2.1.- Plasmaféresis:

H.2.1.1.- La frecuencia máxima será de una donación cada dos semanas. En circunstancias excepcionales, y siempre bajo criterio médico, este tiempo podrá acortarse teniendo en cuenta las siguientes consideraciones: el volumen extraído no debe sobrepasar 600 ml por sesión, 1.000 ml a la semana y 15 litros anuales.

H.2.1.2.- En caso de que a un donante de plasmaféresis no sea posible retornarle sus hematíes, o se extraiga una unidad de hematíes adicional, será excluido del programa de plasmaféresis durante 2 meses.

H.2.1.3.- El intervalo entre una donación de plasmaféresis y una donación de sangre total convencional, debe ser al menos de 48 horas.

H.2.2.- Citaféresis:

H.2.2.1.- Para las donaciones de plaquetas se respetará un intervalo mínimo de dos semanas. En casos especiales, el intervalo entre donaciones puede reducirse bajo criterio médico.

H.2.2.2.- Cuando por citaféresis sucesivas las pérdidas acumuladas de hematíes superen 200 ml, o se extraiga una unidad de concentrado de hematíes adicional, deberá dejarse transcurrir un plazo de al menos dos meses antes de realizar otra citaféresis, salvo en circunstancias excepcionales.

H.2.2.3.- El volumen extracorpóreo, en cualquier momento del proceso, no debe exceder el 13% del volumen sanguíneo estimado.

H.2.2.4.- El intervalo entre la donación de sangre total y la donación de dos unidades de eritrocitos debe ser de al menos tres meses.

H.2.2.5.- El intervalo entre la donación de dos unidades de eritrocitos por aféresis y una unidad de sangre total o una nueva eritroaféresis de dos unidades, debe ser al menos de seis meses.

H.2.2.6.- La pérdida de eritrocitos por año no debe exceder a la aceptada para los donantes de sangre total.

H.3 .- CONSENTIMIENTO INFORMADO

H.3.1.- Antes de recabar su consentimiento escrito, todos los donantes deben ser informados del procedimiento y de los riesgos potenciales del mismo.

H.4 .- PROCEDIMIENTO:

H.4.1.- Se asegurará la reinfusión de los hematíes autólogos, en aquellos procedimientos en los que no se prevea obtener hematíes.

H.4.2.- Todo el sistema debe ser estéril, libre de pirógenos, no tóxico. Se tendrán precauciones para evitar el embolismo aéreo.

H.4.3.- Antes de que la bolsa sea retirada del donante será identificada usando un solo número de identificación para cada unidad y sus componentes, así como para los tubos con las muestras para los análisis preceptivos. Este número debe permanecer inalterable.

H.4.4.- Deben existir protocolos escritos para todos los procesos. Incluirán criterios para las dosis de los agentes usados, e instrucciones para la prevención y tratamiento de las reacciones adversas.

H.4.5.- En cada proceso debe registrarse la siguiente información:

H.4.5.1.- Identificación del donante.

H.4.5.2.- Resultados analíticos.

H.4.5.3.- Anticoagulante usado.

H.4.5.4.- Duración del proceso.

H.4.5.5.- Volumen del componente.

H.4.5.6.- Medicación.

H.4.5.7.- Reacciones adversas y su tratamiento.

I.- PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD

I.1.- PETICIONES DE TRANSFUSIÓN.

I.1.1.- Las solicitudes de transfusión contendrán información suficiente para la identificación del receptor y del médico que la ha prescrito, así como las razones médicas en las que basa su indicación.

I.1.2.- Sólo se aceptarán las peticiones que sean legibles y debidamente cumplimentadas.

I.2.- MUESTRAS DE SANGRE.

I.2.1.- Etiquetado de las muestras.

I.2.1.1.- El receptor y las muestras deben ser identificados correctamente en el momento de la extracción.

I.2.1.2.- Las muestras deben extraerse en tubos cerrados, con una etiqueta adherida firmemente en la que consten: nombre, apellidos, número de identificación del paciente y fecha.

I.2.1.3.- La etiqueta debe pegarse al tubo en la cabecera del enfermo.

I.2.1.4.- Habrá un mecanismo para identificar de manera fehaciente a la persona que extrae la muestra y la fecha de extracción.

I.2.1.5.- Las muestras para las pruebas de compatibilidad deberán ser extraídas como máximo 2 días antes de la transfusión si en los últimos 3 meses el paciente ha sido transfundido con hematíes u otros compo-

mentos que contengan hematíes, o ha tenido un embarazo, o si ha sido imposible obtener esta información. En los demás casos podrán emplearse muestras extraídas con una antelación superior.

I.2.2.- Comprobaciones.

I.2.2.1.- Antes de iniciar las pruebas de compatibilidad, una persona cualificada del servicio de transfusión, confirmará que la información de la petición concuerda con la de las muestras. En caso de discrepancia o duda, se obtendrá una nueva muestra.

I.2.2.2.- Las muestras identificadas de forma incorrecta o insuficiente, deben rechazarse.

I.3.- PRUEBAS EN EL RECEPTOR.

I.3.1.- En cada muestra de sangre se determinará: grupo ABO, Rh (D) y anticuerpos irregulares eritrocitarios.

I.3.1.1.- ABO: Los hematíes se enfrentarán a reactivos anti-A y anti-B, y el suero a hematíes A1 y B. Se resolverán las posibles discrepancias.

I.3.1.2.- RH(D): Se debe determinar con reactivos anti-D empleando los correspondientes controles. Las pruebas para detectar formas débiles del antígeno D no son necesarias en el receptor.

I.4.- PRUEBAS EN LA BOLSA DE SANGRE. Confirmación del grupo ABO y Rh(D).

I.5. - PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD.

I.5.1.- Las pruebas de compatibilidad entre receptor y donante se realizarán siempre que se trate de transfusiones de sangre o de componentes sanguíneos en los que estén presentes hematíes en una cantidad suficiente como para detectarlos visualmente.

I.5.2.- La prueba cruzada entre el suero del receptor y los hematíes del donante se efectuará siempre que el receptor sea portador de anticuerpos irregulares eritrocitarios.

I.5.3.- Esta es la prueba de compatibilidad más recomendable, incluso cuando el paciente no posea anticuerpos irregulares, pero puede omitirse si en su lugar se efectúan otras pruebas que garanticen un nivel de seguridad equiparable, tales como el tipaje y escrutinio de anticuerpos irregulares.

I.5.4.- Las pruebas de compatibilidad deben incluir una técnica lo suficientemente segura y validada como para garantizar la detección de los anticuerpos clínicamente significativos, como la técnica de antiglobulina indirecta.

I.5.5.- Cuando se utilice el procedimiento de tipaje y escrutinio en lugar de la prueba cruzada, debe de garantizarse que:

I.5.5.1.- Se dispone de un mecanismo seguro y validado para la entrega de unidades.

I.5.5.2.- Las células empleadas en el escrutinio deben cubrir la detección de todos los antígenos, preferiblemente en forma homocigota, correspondientes a la amplia mayoría de anticuerpos clínicamente significativos.

I.5.5.3.- Las técnicas sean suficientemente sensibles para la detección de anticuerpos irregulares eritrocitarios.

I.5.6.- Los resultados de las pruebas de compatibilidad se registrarán inmediatamente después de ser realizadas.

I.5.7.- Se dispondrá de registros que incluyan las pruebas realizadas, los componentes sanguíneos transfundidos, la identificación de la persona que realizó las pruebas de compatibilidad, y la correcta identificación del paciente.

I.5.8.- Se recomienda conservar congelada una muestra del suero empleado en las pruebas de compatibilidad.

I.6 .- SELECCIÓN DE LA SANGRE Y COMPONENTES SANGUÍNEOS PARA LA TRANSFUSIÓN.

I.6.1.- En la transfusión de sangre o de componentes sanguíneos que contengan hematíes, éstos serán ABO compatibles.

I.6.2.- Los receptores Rh (D) negativo recibirán componentes Rh (D) negativo, salvo en circunstancias razonablemente justificadas y siempre con la autorización del facultativo responsable del servicio de transfusiones. Los receptores Rh positivo pueden recibir sangre Rh positivo o negativo.

I.6.3.- Si existen anticuerpos irregulares eritrocitarios, o una historia anterior de inmunización, se debe preparar sangre que carezca del correspondiente antígeno y con prueba cruzada compatible, salvo cuando las circunstancias obliguen a una excepción.

I.6.4.- El PFC debe ser ABO compatible con los hematíes del receptor, especialmente si se trata de recién nacidos.

I.6.5.- El plasma de los concentrados de plaquetas deberá ser compatible con los hematíes del receptor, especialmente cuando se trate de recién nacidos.

En caso contrario, el concentrado de plaquetas deberá ser desplasmatizado.

I.6.6.- Los hematíes de los concentrados de granulocitos deben ser compatibles con el plasma del receptor.

I.6.7.- Las plaquetas y los granulocitos obtenidos por citaféresis que contengan más de 5 ml de hematíes deben cruzarse con el plasma del receptor.

I.7 .- TRANSFUSIÓN MASIVA.

Cuando un paciente recibe una cantidad de sangre igual a su volumen sanguíneo en menos de 24 horas, las pruebas de compatibilidad pueden abreviarse de acuerdo con las indicaciones del médico responsable y del protocolo establecido para estos casos.

I.8 .- CONSIDERACIONES ESPECIALES PARA LAS TRANSFUSIONES EN LOS RECEPTORES MENORES DE CUATRO MESES DE EDAD.

I.8.1.- Se determinará el grupo ABO y Rh (D) en una muestra inicial del niño. El suero o plasma del niño o de la madre pueden usarse para la determinación de anticuerpos irregulares eritrocitarios.

I.8.2.- Si la investigación inicial de anticuerpos es negativa, no es necesario realizar pruebas cruzadas. En los niños menores de 4 meses, tampoco será necesario efectuar nuevas pruebas de compatibilidad durante su ingreso hospitalario.

I.8.3.- Si existiera algún anticuerpo clínicamente significativo, las unidades para transfusión deben carecer del antígeno correspondiente, o ser compatibles en una prueba de antiglobulina indirecta.

I.8.4.- Si un niño de grupo ABO distinto del grupo O, recibe hematíes de grupo distinto de O incompatibles con el ABO materno, se examinará el suero del niño para anti A o anti B utilizando hematíes A1 o B y por métodos que incluyan la técnica de antiglobulina.

I.8.5.- Si se detectan anti A o anti B, deben transfundirse hematíes que carezcan del correspondiente antígeno ABO.

I.8.6.- En las situaciones de: transfusión intraútero, receptores de menos de 1200 gr. al nacer, cuando el niño y/o la madre son CMV negativo, o cuando no se dispone de esta información, deben emplearse componentes celulares CMV negativo o convenientemente leucorreducidos, como sucede con los componentes sanguíneos actualmente empleados, a fin de reducir el riesgo de transmisión de la infección por CMV.

I.8.7.- Los hematíes empleados para transfusión intrauterina o exanguinotransfusión no deben superar los 5 días desde la donación. Estos componentes deben irradiarse. Una vez irradiados deben transfundirse antes de transcurridas 24 horas. Tras el parto, los neonatos que fueron transfundidos en el periodo prenatal seguirán recibiendo componentes celulares irradiados.

I.8.8.- Las plaquetas obtenidas de sangre total o por aféresis que van a ser empleadas en transfusión uterina deben ser leucorreducidas o de donantes CMV negativo, e irradiadas. Además deberán concentrarse para eliminar parte del sobrenadante. Se transfundirán antes de transcurridas 6 horas del proceso de concentración. La concentración por centrifugación exige un reposo de las plaquetas de 1 hora.

I.8.9.- Se recomienda la irradiación de los componentes celulares sanguíneos destinados a prematuros, neonatos de peso inferior a 1.500 gr. o neonatos en los que el componente sanguíneo procede de un donante emparentado de primera línea.

I.8.10.- Los componentes celulares irradiados destinados a neonatos se transfundirán antes de transcurridas 48 horas.

I.8.11.- Se aconseja que los servicios de transfusión desarrollen protocolos para reducir la exposición de los neonatos a múltiples donantes. Una práctica recomendable es la de dividir el componente sanguíneo en varias fracciones (25ml-100ml) a través de múltiples bolsas satélites. Si se transfunden volúmenes pequeños no es imprescindible que la sangre seleccionada sea fresca.

I.8.12.- Si se preparan fracciones a partir de un componente sanguíneo se empleará un método que garantice la esterilidad del contenido.

I.8.13.- Si se emplean plaquetas con volumen reducido deben transfundirse antes de transcurridas 6 horas desde la manipulación.

J .- TRANSFUSIÓN.

J.1 .- IDENTIFICACIÓN.

J.1.1.- Antes de entregar un componente sanguíneo para transfusión, se deben comparar los resultados de las pruebas realizadas con los registros del paciente. En este sentido, los Bancos de Sangre deben tener fichas individualizadas de receptores.

J.1.2.- La bolsa debe llevar una etiqueta firmemente adherida donde conste el nombre y apellidos del receptor, el número de la unidad y la interpretación de las pruebas de compatibilidad, si se han realizado.

J.1.3.- Se registrará la transfusión de cada unidad o "pool", indicando el nombre del receptor, ABO y Rh (D) del receptor, número de la unidad, ABO y Rh (D) del donante e interpretación de las pruebas de compatibilidad.

J.1.4.- Los componentes sanguíneos deben ser inspeccionados inmediatamente antes de su uso y rechazarlos si se observan anomalías.

J.1.5.- Finalizada la transfusión, debe quedar un registro de la transfusión y de la persona que la ha realizado.

J.1.6.- Conservación de las muestras de sangre. Se conservarán refrigeradas, un mínimo de 7 días después de la transfusión, una muestra del receptor y de los hematíes transfundidos.

J.1.7.- Readmisión de la sangre. El Banco de Sangre establecerá un protocolo para la readmisión de unidades ya distribuidas. Las unidades de sangre readmitidas sólo se podrán utilizar si:

J.1.7.1.- La bolsa no ha sido abierta.

J.1.7.2.- No ha superado los 10°C, ni ha estado por debajo de 1°C.

J.1.7.3.- Ha sido inspeccionada antes de su readmisión.

J.1.7.4.- Queda, al menos, un segmento unido a la bolsa.

J.2 .- PETICIONES URGENTES DE SANGRE.

J.2.1.- Las transfusiones deben ser prescritas y administradas por orden médica.

J.2.2.- Cuando un retraso en la transfusión ponga en peligro la vida del paciente, la sangre debe entregarse sin dilación siguiendo un protocolo diseñado para los casos de extrema urgencia.

J.2.3.- Los receptores con grupo ABO desconocido, deben recibir hematies grupo O.

J.2.4.- Los receptores en los que el grupo ABO haya sido estudiado pueden recibir sangre de su mismo grupo o ABO compatible.

J.2.5.- Se documentará por parte del médico solicitante que la situación es suficientemente urgente como para transfundir sin pruebas de compatibilidad.

J.2.6.- En la bolsa de sangre debe constar que las pruebas de compatibilidad no se han completado.

J.2.7.- Las pruebas de compatibilidad deben completarse en cuanto sea factible.

J.3 .- VIGILANCIA DE LA TRANSFUSIÓN.

J.3.1.- El paciente debe estar bajo observación durante la transfusión y un tiempo prudencial después de finalizar, a fin de detectar precozmente los posibles efectos adversos.

J.3.2.- Deben existir instrucciones de actuación frente a las reacciones adversas a la transfusión.

J.4 .- IDENTIFICACIÓN DEL RECEPTOR.

J.4.1.- Existirá una identificación positiva del receptor y de la bolsa en presencia del paciente y se comprobará que toda la información de la bolsa coincide con la esperada y que ésta es la destinada al receptor.

J.4.2.- La información pegada a la bolsa debe mantenerse, al menos, hasta que la transfusión haya terminado.

J.5 .- CONSIDERACIONES GENERALES DE LA TRANSFUSIÓN.

J.5.1.- Los componentes sanguíneos deben mantenerse bajo control y a una temperatura óptima hasta el momento de la transfusión. Se transfundirán con un sistema estéril, libre de pirógenos y que contenga un filtro adecuado a cada componente.

J.5.2.- La transfusión no debe prolongarse más de 6 horas.

J.5.3.- Protocolo de transfusión: Existirá un protocolo escrito sobre la administración de sangre y el funcionamiento del equipo de infusión.

J.5.3.5.- Calentamiento: Cuando esté indicado, el calentamiento de la sangre debe realizarse durante su paso a través del equipo de transfusión. El sistema de calentamiento debe estar provisto de un termómetro, idealmente con un sistema de alarma audible. La sangre no debe calentarse por encima de 42°C, y si así sucediera, será desechada.

J.5.3.6.- Adición de medicamentos o soluciones: Con la excepción del suero salino al 0.9%, no debe añadirse ningún medicamento a los componentes sanguíneos.

J.5.3.7.- Irradiación:

J.5.3.7.1.- Los pacientes con riesgo clínico de desarrollar una enfermedad del injerto contra huésped asociada a transfusión deben recibir componentes sanguíneos irradiados.

J.5.3.7.2.- Los criterios de irradiación se establecerán de acuerdo con Guías actualizadas periódicamente.

J.5.3.7.3.- El Banco de Sangre participará en el desarrollo y actualización de las Guías de indicaciones para la irradiación de componentes sanguíneos.

J.5.3.7.4.- La dosis debe ser entre 25-40 Gy.

J.5.3.7.5.- Los componentes sanguíneos serán identificados de forma permanente como "irradiados".

J.5.3.7.6.- Las unidades se irradiarán antes del día 14 postextracción.

J.5.3.7.7.- La fecha de caducidad para estas unidades será de 28 días desde la extracción.

J.5.3.7.8.- La sangre o componentes sanguíneos irradiados pueden emplearse sin perjuicio en pacientes distintos a los previstos inicialmente, aunque no exista indicación específica de irradiación.

J.5.3.8.- Citomegalovirus: Los componentes sanguíneos leucorreducidos que se emplean actualmente pueden transfundirse como alternativa a

los hematíes procedentes de donantes CMV negativo cuando el receptor (CMV negativo) requiere este tipo de componente sanguíneo.

J.6 .- CONSIDERACIONES ESPECIALES EN ALGUNOS COMPONENTES SANGUÍNEOS.

J.6.1.- Plasma Fresco Congelado: Se debe descongelar entre 30°C-37°C. Después de la completa descongelación debe transfundirse inmediatamente o conservarse entre 1°C-6°C. Cuando se administra como fuente de factores lábiles de coagulación, se transfundirá antes de transcurridas 24 horas.

J.6.2.- Crioprecipitado: Se descongelará entre 30°C-37°C. Si se usa como fuente de factor VIII debe transfundirse en las primeras 6 horas tras la descongelación.

J.6.3.- Granulocitos: No deben usarse en la transfusión filtros para reducción de leucocitos o filtros de microagregados muy finos.

K.- COMPLICACIONES DE LA TRANSFUSIÓN.**K.1.- DETECCIÓN, NOTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS.**

K.1.1.- Cada Banco de Sangre debe tener un sistema de detección, notificación y evaluación de los efectos adversos e inesperados de la transfusión. Este sistema estará diseñado de acuerdo con las instrucciones establecidas en el Programa Nacional y/o Autonómico de Hemovigilancia.

K.1.2.- Cuando exista sospecha de una reacción adversa a la transfusión, ésta debe notificarse inmediatamente al médico responsable del paciente y al servicio de transfusión. Todos los efectos adversos que pudieran estar relacionados con la transfusión deben ser registrados y examinados escrupulosamente de acuerdo con los procedimientos que cada servicio de transfusión tenga establecidos.

K.2.- COMPLICACIONES INMEDIATAS.

K.2.1.- Si hay signos o síntomas que sugieran una reacción transfusional hemolítica, debe interrumpirse la transfusión y proceder a:

K.2.1.1.- Examinar los registros para determinar si ha habido error en la identificación de la unidad o del receptor. Extracción de una nueva muestra para determinar la presencia de hemólisis y la prueba directa de la antiglobulina directa. Los resultados obtenidos se compararán con los obtenidos en el estudio pretransfusional.

K.2.1.2.- Cuando sea posible se recuperará la unidad, el equipo de transfusión y las soluciones intravenosas que estuvieran unidas al equipo.

K.2.1.3.- Existirán procedimientos escritos que indiquen en qué circunstancias se deben realizar otras pruebas.

K.2.1.4.- Se registrará el tipo de efecto adverso y los resultados del estudio en la ficha del receptor. Si el estudio es sugestivo de reacción hemolítica o contaminación bacteriana, se notificará lo antes posible.

K.2.2.- El manual de procedimientos incluirá, además, instrucciones para el estudio y tratamiento de otros efectos adversos inmediatos, tales como:

K.2.2.1.- Reacción febril no hemolítica.

K.2.2.2.- Reacciones alérgicas o anafilácticas.

K.2.2.3.- Edema pulmonar no cardiogénico.

K.2.2.4.- Reacción séptica.

K.2.2.5.- Sobrecarga circulatoria.

K.3.- COMPLICACIONES TARDÍAS.**K.3.1.- Reacciones antígeno-anticuerpo:**

K.3.1.1.- Si se sospecha una reacción hemolítica retardada, se deben realizar las pruebas encaminadas a determinar y confirmar la causa.

K.3.1.1.1.- Se registrará el efecto adverso y los resultados del estudio en la ficha del receptor.

K.3.1.1.2.- Se notificarán los resultados.

K.3.1.2.- Enfermedades infecciosas:

K.3.1.2.1.- Existirán procedimientos para la notificación, estudio e identificación de los donantes en los casos de sospecha de enfermedades infecciosas transmitidas por la transfusión.

K.3.1.2.2.- Habrá procedimientos para identificar a los receptores de sangre o componentes sanguíneos procedentes de donantes en los que se haya detectado una seroconversión.

L .- TRANSFUSIÓN AUTÓLOGA.**L.1 .- DONACIÓN CON PREDEPÓSITO**

L.1.1.- El médico puede solicitar la donación preoperatoria para la cirugía electiva en la que sea previsible una transfusión. En la petición indicará diagnóstico, número de unidades requeridas y fecha de intervención. La donación autóloga será autorizada por el Banco de Sangre de referencia.

L.1.2.- El paciente, o su representante legal, dará su consentimiento por escrito una vez informado del procedimiento y de los riesgos y beneficios que conlleva. La información al paciente incluirá referencia a las serologías virales, la posible transfusión de sangre homóloga adicional, y el desecho de la sangre que no utilice.

L.1.3.-Criterios de selección: En los casos en que la selección habitual de donantes no sea aplicable, existirán normas establecidas por el Banco de Sangre que estarán recogidas en el manual de procedimientos. Las desviaciones de estas normas deben ser aprobadas por los médicos prescriptor y del Banco de Sangre, respectivamente. Las normas incluirán:

L.1.3.1.- Volumen extraído en relación con el peso.

L.1.3.2.- No hay límite de edad.

L.1.3.3.- Hemoglobina no inferior a 100 g/l.

L.1.3.4.- La frecuencia de las extracciones la establecerá el Banco de Sangre. La última unidad se extraerá, siempre que sea posible, con un mínimo de 72 horas antes de la intervención.

L.1.4.- Determinaciones analíticas de las unidades:

L.1.4.1.- En cada donación autóloga se realizarán las pruebas exigidas para la donación homóloga.

L.1.4.2.- Sólo podrán utilizarse para transfusión las unidades procedentes de donantes en los que sean inequívocamente negativas las pruebas de cribado para agentes infecciosos transmisibles por transfusión.

L.1.5.- Almacenamiento. Se realizará en un lugar separado de las unidades de donación homóloga, cumpliendo los mismos requisitos exigidos para éstas.

L.1.6.- Etiquetado: Además de la información relativa a la extracción y conservación, debe constar en las etiquetas:

L.1.6.1.- "Sangre autóloga".

L.1.6.2.- Nombre del paciente, número de identificación, fecha de nacimiento y sexo.

L.1.6.3.- "Sólo para uso autólogo", "estrictamente reservado para:"

L.1.6.4.- Interpretación de las determinaciones analíticas realizadas a la unidad.

L.1.6.5.- Nombre del Banco de Sangre.

L.1.6.6.- Volumen y solución anticoagulante

L.1.6.7.- No transfundir si aspecto hemolizado o anormal.

L.1.6.8.- Transfundir con un filtro de 170-200 micras.

L.1.7.- Pruebas pretransfusionales:

L.1.7.1.- Obtención de una muestra identificada, realizando, al menos, ABO y Rh(D) de la bolsa y del receptor.

L.1.8.- No se deben derivar para uso homólogo.

L.1.9.- Existirá un sistema para impedir la transfusión de sangre homóloga a los pacientes que dispongan de sangre autóloga.

L.2.- OTRAS MODALIDADES DE DONACIÓN AUTÓLOGA

L.2.1.- Existen otras modalidades de autodonación perioperatoria: Hemodilución normovolémica, Recuperación intraoperatoria, Recuperación posoperatoria. Estas técnicas no permiten el almacenamiento de la sangre y habitualmente se realizan bajo la responsabilidad de anestesiólogos y/o cirujanos.

M .- PROFILAXIS CON INMUNOGLOBULINA ANTI-D.

M.1 .- Deberá efectuarse la tipificación del antígeno Rh(D) en todas las gestantes.

M.1.1.- Si el resultado inicial es negativo, se descartará que se trate de un antígeno D débil.

M.1.2.- Cuando alguna de las dos determinaciones sea positiva se considerará Rh(D) positivo.

M.1.3.- Si ambas determinaciones son negativas, se considerará Rh(D) negativo.

M.2 .- Las gestantes Rh(D) negativo no aoinmunizadas frente al antígeno Rh(D) deberán recibir inmunoglobulina anti-D profiláctica en caso de: aborto, tras exploraciones obstétricas invasivas, a las 28-32 semanas y después del parto, preferiblemente antes de transcurridas 72 horas.

M.2.1.- Si se demuestra de manera inequívoca que el feto es Rh(D) negativo, la administración profiláctica de inmunoglobulina anti-D es innecesaria.

M.3 .- Se dispondrá de procedimientos escritos respecto a la administración profiláctica de inmunoglobulina anti-D en los casos que interese evitar la inmunización de los pacientes Rh(D) negativo que hayan recibido componentes sanguíneos conteniendo hematies Rh(D) positivo.

N .- REGISTROS.**N.1 .- CONSIDERACIONES GENERALES:**

N.1.1.- Se dispondrá de un sistema de recogida de datos manual o informatizado, o una combinación de ambos.

N.1.2.- Existirán procedimientos escritos de los registros que se deben guardar y de cómo y hasta cuándo se deben mantener.

N.1.3.- Los registros deben resguardarse y protegerse para evitar el deterioro.

N.1.4.- Se deberá establecer y seguir un sistema de confidencialidad de datos.

N.1.5.- El sistema de recogida de datos debe hacer posible el seguimiento de una unidad de cualquier componente desde el origen al punto final, para que sea posible investigar cualquier reacción del receptor.

N.1.6.- Se deben archivar los resultados de las pruebas y sus interpretaciones.

N.1.7.- Existirá un método para identificar a las personas que intervienen en cada uno de los pasos de extracción, procesamiento, compatibilidad, distribución y transfusión.

N.2 .- SISTEMAS INFORMÁTICOS.

N.2.1.- Cuando se use un sistema informático se recomienda que exista la siguiente documentación:

N.2.1.1.- Desarrollo del programa si se ha hecho internamente.

N.2.1.2.- Designación numérica de las versiones.

N.2.1.3.- Validación de la funcionalidad del sistema.

N.2.1.4.- Instalación del sistema.

N.2.1.5.- Formación continuada del personal.

N.2.1.6.- Validación y monitorización de la integridad de los datos.

N.2.1.7.- Programa y procedimientos de mantenimiento y operaciones.

N.2.1.8.- Debe haber un sistema de revisión de datos antes de su aceptación final.

N.2.2.- Se dispondrá de un sistema alternativo que asegure la continuidad en caso de fallo del sistema.

N.3 .- TIEMPOS DE PERMANENCIA DE LOS REGISTROS:

N.3.1.- Indefinida:

N.3.1.1.- Registros de los donantes y de la sangre donada:

N.3.1.1.1.- Los datos demográficos, historia, examen físico, consentimiento e interpretación de las pruebas realizadas para aceptar al donante.

N.3.1.1.2.- Los datos de componentes recibidos de otros centros incluyendo identificación de la unidad e identificación del centro de extracción.

N.3.1.1.3.- Información relativa a la forma cómo han sido preparados los componentes.

N.3.1.1.4.- Destino final de cada unidad.

N.3.1.1.5.- Registro de donantes que han sido rechazados indefinidamente para protección del receptor, o sometidos a vigilancia.

N.3.1.2.- Registros de los pacientes: Consentimiento informado de la transfusión. Ficha transfusional.

N.3.2.- Al menos 5 años:

N.3.2.1.- Datos de los donantes y sangre donada:

N.3.2.1.1.- ABO y Rh(D).

N.3.2.1.2.- Discrepancias de grupo.

N.3.2.1.3.- Reacciones adversas a la donación.

N.3.2.1.4.- Registro de aféresis.

N.3.2.1.5.- Registro de la inspección de las unidades previa a su entrega.

N.3.2.2.- Datos de los pacientes:

N.3.2.2.1.- ABO y Rh(D).

N.3.2.2.2.- Problemas en el tipaje, anticuerpos irregulares y reacciones transfusionales.

N.3.2.2.3.- Interpretación de las pruebas de compatibilidad.

N.3.2.3.- Otros datos:

N.3.2.3.1.- Todos los procedimientos y manuales.

N.3.2.3.2.- Temperaturas de almacenamiento y resultados de la inspección de las unidades.

N.3.2.3.3.- Controles de calidad de los reactivos, componentes, equipamiento.

N.3.3.- Temporalmente: Datos de los donantes con exclusión temporal.

**2.- ESTANDARES DE TRANSPLANTE
DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS**

A. - UNIDADES DE EXTRACCIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS DE MÉDULA ÓSEA O DE SANGRE PERIFÉRICA.

A.1.- REQUISITOS GENERALES.

A.1.1.- La unidad de extracción de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) estará bajo la dirección de un médico especialista en Hematología y Hemoterapia, con experiencia demostrada en procedimientos de extracción, procesamiento, conservación y transfusión de CPH. Para solicitar la acreditación, tiene que haber realizado o supervisado como mínimo 10 extracciones.

A.1.2.- Es responsabilidad del médico encargado de la unidad que se cumplan los estándares.

A.1.3.- Dispondrá de un manual de calidad en el que se describirá el sistema de calidad de la unidad y como ponerlo en práctica: los objetivos del servicio, organigrama, recursos humanos, materiales disponibles y actividad a desarrollar.

A.1.4.- Las unidades de extracción de CPH dispondrán de un espacio adecuado para la evaluación y el reconocimiento del donante que garantice la confidencialidad. Los locales de extracción cumplirán las condiciones de limpieza, confortabilidad y seguridad necesarias.

A.1.5.- La Unidad dispondrá de un número adecuado de personal formado para la realización de los procesos.

A.1.6.- Dispondrá de un Programa de Formación de Personal tanto para el personal que se inicia como de formación continuada, para poder garantizar el conocimiento y adiestramiento del personal en sus tareas.

A.1.7.- Dispondrá de un área asignada para el almacenamiento de equipos y reactivos utilizados en el procedimiento de extracción, así como para la realización de la extracción.

A.1.8.- Dispondrá de un Manual de Equipamiento, donde se registrarán todos los equipos y aparatos, localización, mantenimiento preventivo y correctivo.

A.1.9.- Se dispondrá de un Manual de Bioseguridad en el que se desarrollarán las medidas de protección necesarias para minimizar los riesgos del personal.

A.1.10.- La manipulación y desecho de material biocontaminante se realizará bajo estrictas condiciones de seguridad y según la legislación vigente.

A.1.11.- Todas las pruebas analíticas requeridas en la evaluación de un donante serán realizadas por un laboratorio acreditado o autorizado para la realización de las mismas.

A.1.12.- Se dispondrá de un Banco de Sangre acreditado que garantice la disponibilidad, durante las 24 horas del día, de componentes sanguíneos, incluyendo componentes leucorreducidos e irradiados.

A.1.13.- Dispondrá de médico anestesista para aquellos procedimientos que lo requieran y Unidad de Cuidados Críticos.

A.1.14.- La administración de factores de crecimiento se realizará bajo la supervisión de un médico con experiencia en su manejo.

A.1.15.- La colocación de catéter venoso central será realizada por un médico cualificado y con los medios clínicos adecuados. Se realizará un control radiográfico para verificar su correcto emplazamiento.

A.1.16.- Dispondrá de un Manual de Procedimientos, actualizado, en formato estandarizado, bien estructurado y pormenorizado, en el que estarán incluidos todos los pasos del proceso y todas las instrucciones en las que describirán de manera detallada todas las pruebas, técnicas y actividades que se realizan, y que permita al personal el desarrollo adecuado de sus funciones.

A.1.16.- La unidad de extracción de CPH dispondrá de un programa de calidad que será supervisado por la persona específicamente asignada para ello.

A.1.17.- Los donantes de CPH recibirán información por escrito y en lenguaje comprensible sobre el procedimiento de selección, extracción, riesgos y beneficios, y pruebas analíticas que se le realizan.

A.2.- SELECCIÓN DEL DONANTE

A.2.1.- Se dispondrá de procedimientos escritos que garanticen la seguridad del donante, durante y después de la extracción, y del receptor de CPH.

A.2.2.- Se dispondrá de un procedimiento en el que se recojan los criterios de donación, generales y específicos de cada tipo de donante de CPH.

A.2.3.- El donante de CPH será evaluado mediante una historia clínica, examen físico y pruebas complementarias. La evaluación será realizada por una persona cualificada e inmediatamente antes de cada procedimiento.

A.2.4.- La evaluación y examen del donante se realizará en un espacio adecuado.

A.2.5.- Historia medica:

A.2.5.1.- La historia clínica incluirá antecedentes de: vacunaciones, posible embarazo, riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas y transfusiones de componentes sanguíneos reciente.

A.2.5.2.- En los donantes de CPH de sangre periférica se valorará y documentará la necesidad de una vía venosa central y/o terapia de movilización.

A.2.6.- Las pruebas analíticas requeridas serán las siguientes:

A.2.6.1.- Hemograma completo: A los donantes de CPH de Sangre periférica se les realizará un hemograma 72 horas previas a la primera extracción y 24 horas antes de cada aféresis siguiente.

A.2.6.2.- Grupo ABO y Rh (D), escrutinio de anticuerpos irregulares eritrocitarios.

A.2.6.3.- Tipaje HLA-A, B, DR en donante alogénico por un laboratorio acreditado.

A.2.6.4.- Serología infecciosa: anti-VIH-1 y 2, HBsAg, anti-VHC, sífilis. En caso de donación internacional, si lo requiere, se garantizará la realización de estas pruebas: Ag- VIH -1, anti-HTLV I-II, anti-HBc y anti-CMV. Los resultados analíticos tendrán una vigencia máxima de 30 días antes de cada extracción.

A.2.7.- Ante cualquier hallazgo anormal: deberá notificarse al donante y documentarse la decisión de llevar a cabo el transplante, la metodología y las precauciones a seguir.

A.2.8.- En caso de un donante alogénico con HBsAg o presencia de Anti-VHC se pondrá en conocimiento de la O.N.T.

A.2.9.- No se aceptarán como donantes autólogos o alogénicos las personas con serología positiva confirmada para el VIH.

A.2.10.- El uso de un donante que no cumpla los criterios establecidos, requerirá que se registre la decisión documentada por parte del médico responsable de la unidad de CPH y del paciente, y el consentimiento informado del donante y del receptor.

A.2.11.- Antes de iniciar el tratamiento del receptor con terapia de altas dosis, estará realizada la historia clínica del donante, su examen físico y los resultados de las pruebas de laboratorio con su documentación apropiada.

A.3.- CONSENTIMIENTO DEL DONANTE.

A.3.1.- Antes de la donación se obtendrá por escrito el consentimiento informado del donante por un médico o personal sanitario autorizado.

A.3.2.- Al donante se le explicará, en términos que pueda entender, el procedimiento de extracción, riesgos y beneficios significativos, las pruebas analíticas a realizar para proteger su salud y la del receptor. El donante tendrá la oportunidad de preguntar y el derecho a revisar los resultados de dichas pruebas.

A.3.3.- En el caso de donante menor de edad, el consentimiento informado se obtendrá de los padres o tutor legal de acuerdo con la legislación vigente y se documentará.

A.3.4.- Si el nombre del donante se va a incluir en el registro de donantes de CPH, se obtendrá con anterioridad el consentimiento informado específico.

A.4.- EXTRACCIÓN DE CPH.

A.4.1.- La extracción de CPH se realizará de acuerdo a las instrucciones descritas en el manual de procedimientos.

A.4.2.- Antes de iniciar la extracción de CPH de médula o de sangre periférica, deberá existir una orden escrita del médico responsable del receptor a la unidad responsable de la extracción respecto a la secuencia temporal y dosis requerida y otros detalles del procedimiento de la extracción.

A.4.3.- Los métodos de extracción emplearán técnicas asépticas y utilizarán procedimientos validados en cuanto a la obtención de células progenitoras con aceptable viabilidad y recuperación.

A.4.4.- Todos los materiales y reactivos utilizados en la extracción serán estériles.

A.4.5.- Se registrarán los números de lote y fechas de caducidad de los reactivos y material empleado.

A.4.6.- Las células progenitoras, de médula o sangre periférica, se guardarán en envases transferibles aprobados para células humanas.

A.4.7.- Las células extraídas se guardarán en un contenedor estéril cerrado y correctamente identificado y con la siguiente información:

- Nombre del componente.

- Identificador único numérico o alfanumérico del componente que nos permita el seguimiento de cada extracción.
- Fecha y hora de extracción.
- Volumen aproximado del componente.
- Nombre y volumen del anticoagulante.
- Nombre y volumen de otros aditivos.
- Temperatura de almacenamiento.
- Identificación única del donante y del receptor si se conoce.
- Grupo ABO y Rh, si proviene de un donante alogénico.
- Los resultados de las pruebas de laboratorio del donante.

A.4.8.- Las células progenitoras extraídas no pueden ser sometidas a maniobras o procesos de irradiación o leucorreducción.

A.5.- REACCIONES ADVERSAS

A.5.1.- Cada unidad de extracción de CPH tendrá un sistema para la detección, evaluación, documentación y comunicación de errores, accidentes y reacciones adversas sospechadas.

A.5.2.- Las acciones correctoras se documentarán y se revisarán por el médico responsable de la unidad.

A.5.3.- La unidad de extracción dispondrá de un procedimiento escrito en el que se describe los pasos a realizar ante una reacción adversa inmediata o tardía.

A.5.4.- Todas las reacciones adversas desarrolladas en la extracción se evaluarán de inmediato y se registrarán.

A.5.5.- Los casos de sospecha de enfermedad infecciosa transmisible a un receptor se notificarán a la unidad de extracción/procesamiento de CPH.

A.6.- VALIDACIÓN

Se desarrollarán procedimientos para evaluación de la idoneidad del proceso de selección del donante extracción, aféresis, etiquetado, inserción de catéteres, etc.

A.7.- REQUISITOS DE CALIDAD

A.7.1.- Cada unidad de extracción de CPH establecerá un programa de control de calidad bajo la responsabilidad de una persona designada para ello. Sus funciones serán revisar y aprobar los procedimientos y velar por el cumplimiento de los estándares.

A.7.2.- La unidad mantendrá la documentación de todos los protocolos de investigación, los procedimientos realizados, la aprobación del comité de bioética, nuevos fármacos de investigación y cualquier resultado adverso.

B.- UNIDAD DE EXTRACCIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS DE SANGRE DE CORDÓN**B.1.- REQUISITOS GENERALES**

B.1.1.- La unidad de extracción de CPH de sangre de cordón estará bajo la dirección de un médico especialista en Hematología y Hemoterapia, con experiencia demostrada en procedimientos de extracción, procesamiento, conservación y transfusión de células de cordón.

B.1.2.- Para solicitar la acreditación, tiene que haber realizado o supervisado como mínimo 10 extracciones. Es responsabilidad del médico encargado de la unidad que se cumplan los estándares.

B.1.3.- La evaluación y reconocimiento se realizará en un espacio adecuado que garantice la confidencialidad. Los locales de extracción cumplirán las condiciones de limpieza, confortabilidad y seguridad necesarias.

B.1.4.- La Unidad dispondrá de personal suficiente y formado adecuadamente para la realización de los procesos.

B.1.5.- Dispondrá de un Programa de Formación de Personal, tanto para el personal nuevo como de formación continuada, para poder garantizar el conocimiento y adiestramiento del mismo en sus tareas.

B.1.6.- Dispondrá de un área asignada para el almacenamiento de equipos y reactivos utilizados en el procedimiento de extracción, así como para su realización.

B.1.7.- Dispondrá de un Manual de Bioseguridad en el que se recojan las medidas de protección necesarias para minimizar los riesgos del personal.

B.1.8.- La manipulación y desecho de residuos biológicos se realizará bajo estrictas condiciones de seguridad y de acuerdo a la legislación vigente.

B.1.9.- Todas las pruebas analíticas requeridas en la evaluación de un donante serán realizadas por un laboratorio acreditado o autorizado para la realización de las mismas.

B.1.10.- La unidad de Sangre de Cordón dispondrá de un Manual de Procedimientos, actualizado, en formato estandarizado y bien estructurado, en el que estarán incluidos todos los pasos del proceso y todas las instrucciones en las que describirán de manera detallada todas las pruebas, técnicas y actividades que se realizan, y que permiten al personal la realización adecuada de las funciones.

B.1.11.- Dispondrá de un Manual de Documentación en el que se establecen las normas de elaboración, revisión, aprobación, distribución y permanencia de los documentos.

B.1.12.- La unidad de sangre de cordón dispondrá de un Programa de Calidad que será supervisado por la persona específicamente asignada para ello.

B.1.13.- Los donantes de sangre de cordón recibirán información por escrito y en lenguaje comprensible sobre el procedimiento de selección, extracción, riesgos y beneficios, y pruebas analíticas que se le realizan.

B.1.14.- Dispondrá de un Manual de Calidad en el que se describirá el sistema de calidad de la unidad y como ponerlo en práctica: los objetivos del servicio, organigrama, recursos humanos, materiales disponibles y actividad a desarrollar.

B. 2.- SELECCIÓN DEL DONANTE

B.2.1.- La unidad de sangre de cordón dispondrá de procedimientos escritos que garanticen la seguridad del donante y del receptor de CPH.

B.2.2.- Dispondrá de un procedimiento en el que se recogen los criterios de donación de sangre de cordón.

B.2.3.- Se realizará una historia clínica personal y familiar de la madre y del padre biológico del posible donante de sangre de cordón, antes de las 48 horas de la extracción y se revisará antes de la infusión.

B.2.4.- Las pruebas analíticas requeridas incluirán las siguientes:

- Grupo ABO y Rh de los hematíes del recién nacido.
- Serología infecciosa: anti-VIH-1 y 2; HBsAg, anti VHC, y sífilis. En caso de donación internacional, si lo requiere, se garantizará la realización de estas pruebas: Ag VIH -1, anti-HTLV I-II, anti-HBc y anti-CMV. Estas pruebas se realizarán a la madre no antes de 30 días de la extracción o en 48 horas después de la extracción.

B.2.5.- La sangre de cordón obtenida de un recién nacido cuya madre sea positiva para algún resultado de serología infecciosa, no se utilizará para trasplante sin que haya una documentación de las razones por parte del médico del trasplante y el consentimiento informado de la madre y del receptor.

B.2.6.- No se aceptará sangre de cordón para trasplante de donante no emparentado, si existe historia familiar (madre, padre, o hermano) con enfermedad genética que pueda afectar al receptor.

B.3.- CONSENTIMIENTO DE LA DONACIÓN

B.3.1.- Antes de la donación o durante los 7 días posteriores al parto, se obtendrá por escrito el consentimiento informado del donante por un médico o personal sanitario autorizado.

B.3.2.- Se explicará al donante, en términos que pueda entender, el procedimiento de extracción, riesgos y beneficios significativos, las pruebas analíticas a realizar para proteger la salud del donante y del receptor. El donante tendrá la oportunidad de preguntar y el derecho a revisar los resultados de dichas pruebas.

B.4.- EXTRACCIÓN DE SANGRE DE CORDÓN

B.4.1.- La extracción se realizará de acuerdo a las instrucciones escritas del manual de procedimientos.

B.4.2.- Los métodos de extracción emplearán técnicas asépticas y utilizarán procedimientos validados en cuanto a la obtención de células progenitoras con aceptable viabilidad y recuperación.

B.4.3.- Todos los reactivos utilizados en la extracción serán estériles.

B.4.4.- Se registrarán los números de lote y fechas de caducidad de los reactivos y materiales empleados.

B.4.5.- Las células de cordón se extraerán en bolsas transferibles, estériles, aprobadas para células humanas.

B.4.6.- Las células extraídas se guardarán en un contenedor estéril correctamente identificado con la siguiente información:

- Nombre del componente: SANGRE DE CORDÓN HUMANA
- Identificador numérico o alfanumérico del componente.
- Fecha y hora de extracción
- Volumen de extracción
- Nombre y volumen del anticoagulante
- Nombre y volumen de otros aditivos
- Identificación única del donante

B.5.- REACCIONES ADVERSAS

Se aplicará lo expuesto en el punto A.5

B.6.-VALIDACIÓN

Se aplicará lo expuesto en el punto A.6

B.7.-REQUISITOS DE CALIDAD

Se aplicará lo expuesto en el punto A.7

C.- UNIDADES DE PROCESADO DE CPH DE MÉDULA ÓSEA, SANGRE PERIFÉRICA Y SANGRE DE CORDÓN.

C.1.-REQUISITOS GENERALES

C.1.1.- La unidad de procesamiento de CPH estará bajo la dirección de un médico especialista en Hematología y Hemoterapia con experiencia para el alcance de las actividades que se persiguen. Para solicitar la acreditación, tiene que haber realizado o supervisado como mínimo 10 procesamientos. Es responsabilidad del médico encargado de la unidad que se cumplan los estándares.

C.1.2.- Dispondrá de un manual de calidad en el que se describirá el sistema de calidad de la unidad y como ponerlo en práctica: los objetivos del servicio, organigrama, recursos humanos, materiales disponibles y actividad a desarrollar.

C.1.3.- Las unidades de procesamiento de CPH dispondrán de un espacio y diseño adecuado para los procedimientos pretendidos. Los locales cumplirán las condiciones de limpieza, confortabilidad y seguridad necesarias.

C.1.4.- La Unidad dispondrá de un número adecuado de personal formado para la realización de los procesos.

C.1.5.- Dispondrá de un Programa de Formación de Personal, para el que se inicia y de formación continuada, para poder garantizar el conocimiento y adiestramiento del personal en sus tareas.

C.1.6.- Dispondrá de un Manual de Equipamiento, donde estén registrados todos los equipos y aparatos, localización, estado actual y reparaciones realizadas. Los frigoríficos y congeladores que se utilicen para el almace-

naje de muestras, componentes de células progenitoras hematopoyéticas, componentes sanguíneos, tejidos humanos o reactivos, no se utilizarán para ningún otro propósito.

C.1.7.- Dispondrá de un Manual de Bioseguridad en el que se desarrollarán las medidas de protección necesarias para minimizar los riesgos del personal.

C.1.8.- La manipulación y desecho de material sanguíneo se realizará bajo estrictas condiciones de seguridad.

C.1.9.- La unidad de procesamiento de CPH dispondrá de un Manual de Procedimientos en el que se incluyen todos los aspectos del proceso y unas instrucciones en las que se describen de manera detallada todas las pruebas o técnicas que se realizan en la Unidad y que permiten a todo el personal realizar el trabajo.

C.1.10.- Dispondrá de un Manual de Procedimientos, actualizado, en formato estandarizado y bien estructurado, en el que estarán incluidos todos los pasos del proceso y todas las instrucciones en las que describirán de manera detallada todas las pruebas, técnicas y actividades que se realizan, y que permiten al personal la realización adecuada de las funciones.

C.1.11.- La unidad de procesamiento de CPH dispondrá de un programa de calidad que será supervisado por la persona específicamente asignada para ello.

C.2.- DEFINICIONES Y PRINCIPIOS GENERALES DE LOS COMPONENTES.

C.2.1.- Las CPH serán obtenidas de donantes que cumplan los criterios para la donación, de acuerdo con los estándares de extracción.

C.2.2.- Los componentes no manipulados son las CPH tal como se obtienen en el momento de la extracción y sin someterse a ninguna forma de manipulación.

C.2.3.- Los componentes mínimamente manipulados son las CPH que no han sido sometidas a procedimientos ex-vivo que eliminen selectivamente, enriquezcan, expandan o alteren funcionalmente a poblaciones celulares nucleadas específicas. La eliminación de leucocitos polimorfonucleares se considera como manipulación mínima.

C.2.4.- Las CPH manipuladas, se definen como aquellas que han sido sometidas a un procedimiento ex vivo de eliminación selectiva, enriquecimiento, expansión o alteración funcional de poblaciones celulares nucleadas específicas.

C.2.5.- Los métodos para el procesado emplearán técnicas asépticas y validadas para conseguir una viabilidad y recuperación de CPH aceptables.

C.2.6.- Se mantendrán y estarán disponibles hojas de trabajo detalladas para todos los procedimientos.

C.2.7.- Se especificarán los objetivos y resultados finales aceptables para cada procedimiento.

C.2.8.- Todos los instrumentos y equipos utilizados en el procesado, manipulación, y comprobación de la calidad de los productos CPH, estarán sujetos a limpieza, mantenimiento y calibración, programados regularmente.

C.2.9.- Se mantendrá un registro del número de lotes y fechas de caducidad de reactivos y materiales utilizados en el procesamiento.

C.3.- CRIOPRESERVACION Y CONTROL

C.3.1.- Existirán muestras alicuotadas del componente criopreservadas y almacenadas bajo las mismas condiciones que el componente para realizar las comprobaciones que se necesiten.

C.3.2.- En el manual de procedimientos de criopreservación se incluirán todos los aspectos e instrucciones del proceso, descritos de manera detallada y clara: el componente de CPH, la solución de crioprotección y su concentración final, la concentración de las células, el índice de enfriamiento, la temperatura final alcanzada de enfriamiento y la temperatura de almacenado.

C.3.3.- Los procedimientos de control de calidad describirán claramente las pruebas y procedimientos para medir, ensayar, o monitorizar las propiedades de los componentes celulares, esto es fundamental para la evaluación de su utilidad y seguridad. Los resultados de todas estas pruebas y procedimientos formarán parte del registro permanente del material procesado.

C.3.4.- Las pruebas analíticas requeridas serán realizadas por un laboratorio acreditado o autorizado para la realización de las mismas.

C.3.5.- Se realizará un conteo de células nucleadas para cualquier componente después de la extracción y después de cualquier procesado subsecuente.

C.3.6.- Las unidades de procesado celular monitorizarán y documentarán la contaminación microbiana de las CPH, después de la extracción, y durante el procesado. Los resultados de los cultivos microbiológicos serán revisados por el médico responsable de la unidad. Cualquier resultado positivo se informará de forma oportuna al médico del receptor.

C.3.7.- Se realizará el grupo ABO y Rh en una muestra de cada componente o en la sangre obtenida del donante en la extracción. Si hay análisis previos se compararán. Cualquier discrepancia se resolverá antes de enviar el componente.

C.3.8.- La documentación y revisión del tiempo de implante del injerto tras la infusión de CPH formará parte del control de calidad.

C.3.9.- Para los componentes manipulados por procedimientos de eliminación o procedimientos de selección positiva estará disponible una prueba relevante y validada, para comprobar la subpoblación objeto de la purga y/o selección positiva, antes y después del procedimiento.

C.3.10.- En el caso de componentes para administración alogénica que presenten incompatibilidad ABO, se reducirán al máximo los glóbulos rojos o el plasma.

C.4.- ETIQUETADO

C.4.1.-OPERACIONES DE ETIQUETADO

C.4.1.1.- Las operaciones de etiquetado se realizarán de manera adecuada para prevenir confusiones en la identificación de los componentes.

C.4.1.2.- La etiqueta resultante del procesado inicial o de la unidad de extracción, y todas las añadiduras a la etiqueta, se fijarán con firmeza al contenedor. Ésta etiqueta no puede estar oscurecida o alterada ni se despegará por unidades subsiguientes.

C.4.1.3.- A cada componente se le asignará un identificador único numérico o alfanumérico para relacionarlo con el donante, su registro mé-

dico y todos los registros que describan la manipulación y disposición final del componente.

C.4.1.4.- Las unidades de procesado pueden designar un identificador adicional o supletorio al adjudicado en la extracción, éste no tapaná ni substituirá al original. No puede haber más de un identificador supletorio visible en el contenedor del componente. Existirán registros, en los que se relacionen ambos identificadores de manera fehaciente para garantizar la trazabilidad del componente.

C.4.1.5.- Si el contenedor sólo puede llevar una etiqueta parcial, ésta deberá contener como mínimo el nombre propio del componente, el identificador del mismo y el nombre propio del receptor propuesto.

C.4.1.6.- Cuando se remitan o transfieran a otra unidad o para su infusión los contenedores con etiquetas parciales, toda la información correspondiente al etiquetado en la extracción y la del etiquetado al final del proceso se le adjuntarán en un paquete sellado o se le añadirá en una etiqueta atada de manera segura.

C.4.2.- ETIQUETADO AL FINAL DEL PROCESADO

Al final del procesado y antes de enviar a otra unidad de procesado o de trasplante, la etiqueta del contenedor del componente indicará la información recogida en las unidades de extracción, y la siguiente información adicional:

C.4.2.1.- El nombre y dirección de la unidad de extracción, que en caso de donantes no emparentados puede omitirse.

C.4.2.2.- El tipo de componente, cualquier modificación(es) apropiada(s) y la frase (o similar) "Identificar adecuadamente al Receptor propuesto y Componente o Unidad" y "Cuidado este Producto puede Transmitir Agentes Infecciosos".

C.4.2.3.- Tipo y volumen de cualquier aditivo añadido (anticoagulantes, soluciones electrolíticas, y/o crioprotectores)

C.4.2.4.- Los resultados más recientes de las pruebas infecciosas.

C.4.2.5.- Una etiqueta de peligro biológico si:

- Se confirma un test positivo para VIH-1.
- Un test para anti-VIH-2 es repetidamente reactivo.
- Se confirma un test positivo para AgsHB.
- Se confirma un test positivo para anti-VHC.
- Un test para anti-HBc es repetidamente reactivo.
- Un test para Ag VIH-1 es repetidamente reactivo.

C.4.2.6.- La fecha de caducidad, y si el periodo de caducidad es de 72 horas o menos, la hora de caducidad.

C.4.2.7.- Los métodos utilizados en la manipulación de las CPH, si procede, incluyendo pero no limitado a: depleción selectiva, selección positiva, expansión exvivo y manipulación genética.

C.4.2.8.- Temperatura de almacenamiento.

C.4.2.9.- Cada contenedor de células propuesto para uso autólogo tendrá marcado claramente "Para uso exclusivo autólogo".

C.4.2.10.- Cada contenedor de células propuesto para uso alogénico o singénico tendrá marcado claramente "Para uso exclusivo del receptor propuesto".

C.4.2.11.- Los componentes que se determine que no se pueden emplear para infusión, deberán llevar etiquetado claramente "No infusión" y en la etiqueta las razones para ello.

C.4.3.- ENVÍO DE COMPONENTES PARA INFUSION

C.4.3.1.- Todos los requisitos de etiquetado final y la siguiente información adicional:

- El nombre e identificador único del receptor propuesto.
- Los resultados de cualquier prueba de compatibilidad de eritrocitos realizada.

C.4.3.2.- Cuando se remitan o transfieran a otra unidad o para infusión los contenedores con etiquetas parciales se meterán en un paquete sellado con toda la información de las etiquetas no parciales o se le añadirá una etiqueta unida de forma segura.

C.4.3.3.- Se rellenará un formulario de infusión para cada componente a infundir. Una copia de este formulario se quedará en la historia del receptor tras la infusión del componente. Este formulario incluirá la misma información que conste en el componente, el momento del comienzo de la infusión y las identificaciones del equipo médico-sanitario implicado en la infusión.

C.4.3.4.- Cada componente enviado para infusión se inspeccionará por dos personas entrenadas justo antes de la infusión, comprobando la información y la integridad del contenedor del componente. El Director Médico del Laboratorio debe dar autorización específica para usarlo cuando el contenedor esté dañado y/o no se haya comprobado la información del receptor.

C.4.3.5.- Sólo se aceptará la devolución de componentes si se cumplen las siguientes condiciones:

- C.4.3.5.1.-** La integridad del contenedor primario no ha sido dañada después del envío del laboratorio.

C.4.3.5.2.- El componente ha sido mantenido después del envío en el rango de temperatura especificado, durante el almacenado y transporte.

C.4.3.6.- La documentación de los hechos que requieren una devolución, los resultados de la inspección sobre la devolución, y las acciones emprendidas subsecuentemente para garantizar la seguridad y viabilidad del componente, se mantendrán en el registro del laboratorio hasta el posible reenvío.

C.4.3.7.- Instrucciones para la administración:

C.4.3.7.1.- El laboratorio mantendrá, para cada tipo de componente, un documento actualizado conteniendo información sobre la utilización de las CPH, indicaciones, contraindicaciones, efectos colaterales y peligros, recomendaciones sobre dosis y administración que estará disponible para el equipo clínico al cuidado del receptor.

C.5.- ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS

C.5.1.- Las unidades que almacenan componentes CPH establecerán normas sobre la duración y condiciones de almacenado e indicaciones de eliminación. Las temperaturas de almacenado estarán definidas en el manual de procedimientos del laboratorio.

C.5.2.- Para componentes almacenados en nitrógeno líquido, se definirán y mantendrán procedimientos para minimizar el riesgo de contaminación microbiana cruzada de los componentes.

C.5.3.- Los productos que pueden perjudicar a los componentes CPH no se almacenarán en el mismo frigorífico o congelador.

C.5.4.- Los refrigeradores y congeladores donde se guardan los componentes tendrán un sistema de monitorización y registro continuo de la temperatura, al menos cada 4 horas.

C.5.5.- Los componentes conservados en nitrógeno líquido no necesitan monitorización continua de la temperatura.

C.5.6.- Los contenedores de nitrógeno líquido tendrán un mecanismo para garantizar que los niveles de nitrógeno se mantienen.

C.5.7.- Los aparatos de almacenado tendrán un sistema de alarma continuamente activo, con señales audibles que se pueda atender las 24 horas del día.

C.5.8.- La alarma se activará ante una temperatura o nivel de nitrógeno líquido que posibilite la recuperación de los componentes.

C.5.9.- Debe existir un protocolo de actuación escrito para casos de fallos de los aparatos de almacenado. Este protocolo se encontrará visible en el área donde éstos se encuentren.

C.5.10.- El funcionamiento del sistema de alarma se comprobará periódicamente.

C.5.11.- Se dispondrá de aparatos de almacenado adicionales a temperatura apropiada para guardar los componentes por si hubiera un fallo en el aparato primario.

C.5.12.- El sistema de control de inventario debe ser operativo y capaz por tanto de localizar cualquier componente y alicuotas de controles de calidad de los componentes, si están disponibles. Incluirá el nombre del donante, identificador único, fecha de extracción, aparato de almacenado,

localización del componente o alícuotas dentro del aparato, número de contenedores del componente, número de contenedores o alícuotas usadas y número de contenedores o alícuotas restantes.

C.5.13.- Existirá una normativa escrita para la eliminación de componentes.

C.5.14.- Existirá documentación escrita de la muerte del paciente o de que el componente ya no se requiere antes de descartar cualquier componente.

C.5.15.- Los registros de componentes eliminados, indicarán el componente descartado, fecha y métodos de eliminación.

C.5.16.- El director médico del laboratorio de la unidad de procesado consultando con el médico de trasplante del paciente debe aprobar la eliminación y los métodos de eliminación del componente. Si el paciente vive aún se precisará su consentimiento para la eliminación del componente que se obtuvo. Si lo deniega se le dará la oportunidad de enviar el componente a otra unidad.

C.6.- TRANSPORTE

C.6.1.- TRANSPORTE DE COMPONENTES NO CRIOPRESERVADOS ENTRE CENTROS

C.6.1.1.- Si es factible, el componente se colocará por lo menos en dos contenedores sellados.

C.6.1.2.- El contenedor primario deberá tener un acceso completamente aséptico y estará sellado de modo que se minimicen los riesgos de pérdida celular o contaminación microbiana. Estará etiquetado según lo especificado para "Etiquetado al final del proceso"

C.6.1.3.- Los contenedores de envío externo estarán aislados térmicamente, deberán ser de un material adecuado para soportar pérdidas de contenido, golpes, cambios de presión y otros incidentes comunes en el transporte, así como tener capacidad absorbente. Estarán etiquetados con:

- Se colocará una etiqueta: "Muestra médica" y "No Rayos X".
- Se colocará una etiqueta de peligro biológico si se requiere
- Nombre y dirección de la unidad receptora, y nombre del responsable en la unidad receptora.
- Nombre, dirección y número de teléfono de la unidad de envío y nombre del responsable del envío.

C.6.1.4.- Durante el transporte, se mantendrá la temperatura del componente a la temperatura de conservación especificada por el laboratorio de procesado.

C.6.1.5.- Los registros de transporte permitirán el seguimiento del componente desde el donante hasta el receptor, el personal responsable del envío la identidad del mensajero y cualquier retraso o problema ocurrido durante el transporte.

C.6.2.- TRANSPORTE DE COMPONENTES CRIOPRESERVADOS ENTRE CENTROS

C.6.2.1.- Los componentes criopreservados con una indicación de temperatura de conservación por debajo de -80°C se transportarán en un termo de nitrógeno líquido que contenga suficiente nitrógeno líquido absorbido para aguantar al menos 48 horas por encima del tiempo previsto de llegada a la unidad receptora.

C.6.2.2.- Los contenedores de envío externo estarán etiquetados como se ha especificado en el capítulo correspondiente.

C.6.2.3.- La unidad receptora verificará si hay material de enfriamiento (nitrógeno líquido absorbido o hielo seco) en el envase de envío y la temperatura de llegada. La unidad de envío incluirá un monitor de temperatura en el contenedor que deberá estar marcado de acuerdo con las regulaciones aplicables en relación con su uso para material congelado y el transporte de productos biológicos.

D.- REGISTROS DE LAS UNIDADES DE EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO DE CPH DE MÉDULA, SANGRE PERIFÉRICA Y SANGRE DE CORDÓN.

D1.- REQUISITOS GENERALES

D.1.1.- Se dispondrá de un sistema de recogida de datos manual o informática, o una combinación de ambos.

D.1.2.- Existirán procedimientos escritos de los registros que se deben guardar, cómo, dónde y durante cuanto tiempo deben permanecer.

D.1.3.- Los registros se harán con cada paso de la extracción, procesado, comprobación, criopreservación, almacenamiento e infusión o eliminación de cada componente de modo que nos permitan un seguimiento con exactitud de todos los pasos del proceso.

D.1.4.- Los registros serán legibles e indelebles, identificarán a la persona directamente responsable de cada paso, incluirán la fecha (y hora cuando sea oportuno) y mostrarán los resultados de las pruebas así como su interpretación cuando sea apropiado.

D.1.5.- Estarán disponibles registros sobre el número de lote y fabricante de los medios y reactivos utilizados para la extracción y procesado de componentes específicos.

D.1.6.- Todos los registros y comunicaciones entre las unidades de extracción, procesado y trasplante y sus pacientes deberán tratarse como información confidencial y privilegiada.

D.1.7.- Si se usa un sistema de registro informático debe garantizar la autenticidad, integridad y confidencialidad de todos los registros.

D.1.8.- La unidad tendrá un sistema alternativo para garantizar la continuidad de las operaciones en el caso de fallo del sistema informático.

D.1.9.- Se establecerán procedimientos escritos para el acceso, comprobación y revisión del registro.

D.1.10.- Existirá un sistema de acceso limitado a personas autorizadas.

D.1.11.- El sistema de control de calidad incluirá una valoración de las funciones del programa para garantizar que los errores se detectan y se resuelven. Todas las modificaciones en el sistema deberán estar autorizadas, documentadas y validadas antes de su aplicación.

D.1.12.- El sistema informático garantizará que todo donante, unidad y paciente identificado son únicos.

D.1.13.- Cuando se use un sistema informático se debe disponer de los siguientes documentos:

D.1.13.1.- Desarrollo de sistemas si se realiza internamente.

D.1.13.2.- Designación numérica de las versiones.

D.1.13.3.- Validación de la funcionalidad del sistema, hardware, software y base de datos.

D.1.13.4.- Instalación del sistema.

D.1.13.5.- Formación continuada del personal.

D.1.13.6.- Valoración y monitorización de la integridad de los datos.

D.1.13.7.- Normas y procedimientos par el mantenimiento y operatividad del sistema.

D.2.- REGISTROS QUE DEBEN MANTENERSE

D.2.1.- Registros de donantes y pacientes:

D.2.1.1.- La selección del donante, incluyendo la historia clínica y el examen físico, y el consentimiento informado.

D.2.1.2.- Aplazamientos permanentes y temporales por causa de salud, incluyendo las razones concretas.

D.2.1.3.- Reacciones adversas del donante y receptor, registros, incluyendo resultados de todas las investigaciones y su seguimiento.

D.2.2.- Registros de extracción y procesamiento:

D.2.2.1.- Obtención y procesado de los componentes, incluyendo números de lotes y fechas de caducidad de los reactivos y medios utilizados, resultados e interpretación de todas las pruebas y sus repeticiones, personas responsables de los diferentes procesos.

D.2.2.2.- Proceso de etiquetado, incluyendo la identificación de las personas responsables.

D.2.2.3.- Documentación de los resultados de serología infecciosa del donante.

D.2.3.- Registros del almacenamiento y del envío para infusión:

D.2.3.1.- Distribución y disposición de los componentes como se convenga.

D.2.3.2.- Inspección visual de los componentes en fresco durante su almacenamiento y justo antes de la infusión.

D.2.3.3.- Temperatura de almacenamiento, incluyendo la gráfica registrada con las temperaturas.

D.2.3.4.- Reenvío, incluyendo registros del mantenimiento de la temperatura correcta, documentación de las causas del reenvío, resultados de la inspección en el regreso y acciones tomadas para garantizar la seguridad del componente y la viabilidad antes del reenvío.

D.2.4.- Registros de las pruebas de compatibilidad:

D.2.4.1.- Los resultados de todas las pruebas de compatibilidad, incluyendo la comprobación de la compatibilidad de hematíes del paciente, investigación e identificación de anticuerpos.

D.2.4.2.- Resultados de comprobación confirmatoria.

D.2.4.3.- Registros del control de calidad:

D.2.4.4.- Calibración y estandarización de los equipos.

D.2.4.5.- Revisión de los equipos y reactivos.

D.2.4.6.- Revisión periódica sobre técnicas asépticas.

D.2.4.7.- Revisión de la temperatura de los contenedores para envío.

D.2.4.8.- Resultados de la inspección y visitas de acreditación

D.2.5.- Registros Generales:

D.2.5.1.- De esterilización de los medios y reactivos preparados por la unidad, con fecha, período de caducidad, temperatura y método.

D.2.5.2.- Persona responsable del procesado y comprobación de las CPH.

D.2.5.3.- Errores y accidentes con las medidas correctoras tomadas.

D.2.5.4.- Mantenimiento de registros de los equipos y plantilla médica general.

D.2.5.5.- Medios y reactivos, incluyendo el fabricante o distribuidor, números de lote, fecha de recepción y de caducidad.

D.2.5.6.- Registro de los productos rechazados y de los reactivos usados en la extracción, procesado, comprobación, criopreservación y almacenamiento de los componentes.

D.3.- TIEMPO DE PERMANENCIA DE LOS REGISTROS**D.3.1.- Indefinidamente:**

D.3.1.1.- Distribución final o disposición de todos los componentes.

D.3.1.2.- Selección del donante incluyendo: historia clínica y examen físico, resultados de todas las pruebas analíticas realizadas. Para donantes de sangre de cordón: historia clínica de la madre y el padre biológico, si está disponible, y los resultados de los pruebas analíticas.

D.3.1.3.- Nombre completo del donante, dirección, edad, sexo y número de identificación único, así como la documentación del consentimiento informado. Para donantes de sangre de cordón: nombre completo de la madre, dirección, fecha del parto, nombre completo del niño, nombre completo del padre y dirección (si está disponible)

D.3.1.4.- Identidad de cualquier unidad implicada en la extracción, procesamiento, almacenamiento o transporte del componente

D.3.1.5.- Autorización del médico responsable de la unidad de extracción o de trasplante para la extracción y procesamiento de los componentes

D.3.1.6.- Registros relacionados con la extracción, procesamiento, almacenamiento, envío y transporte de los componentes.

D.3.1.7.- Registros del personal implicado en la extracción, procesamiento, almacenamiento o transporte de los componentes, incluyendo sus nombres, firmas, identificación.

D.3.1.8.- Información sobre las características del material empleado en la manipulación de los componentes como sería: anticuerpos, suero, citoquinas, toxinas, antibióticos, otros soportes químicos ó sólidos como bolitas magnéticas y columnas de inmunoafinidad, incluyendo los fabricantes y los números de lote de todos los reactivos utilizados.

D.3.1.9.- Caracterización de las manipulaciones genéticas incluyendo: función del gen insertado, su secuencia y secuencias cercanas del vector que se puedan introducir en las células y métodos de inserción del vector.

D.3.1.10.- Cualquier reacción adversa en el donante y/o receptor y su resultado, incluyendo resultados de todas las investigaciones realizadas.

D.3.1.11.- Registros de errores, accidentes y actuaciones correctivas en relación con la extracción, procesamiento, almacenamiento o infusión que ocurran dentro de la unidad.

D.3.1.12.- Todos los procedimientos y normas obsoletos.

D.3.2.- Registros que se mantendrán por lo menos 5 años:

D.3.2.1.- Gráficos de temperaturas y registros durante el almacenamiento, incluyendo el almacenamiento durante el transporte.

D.3.2.2.- Registros de control de calidad: calibración de los equipos, revisiones y controles de los equipos y reactivos; controles periódicos de la esterilidad; controles periódicos del equipo de transporte; resultados de comprobación de control de calidad, interpretaciones, y acciones correctivas para valores fuera de rango; y comprobación externa de la exactitud de los resultados.

D.3.2.3.- Formación del personal, de inicio y formación continuada, y evaluación periódica de la capacitación.

D.3.2.4.- Registros de mantenimiento de los equipos, incluyendo mantenimiento preventivo.

D.3.2.5.- Esterilización de los aparatos y reactivos.

D.3.2.6.- Disposición de reactivos y aparatos rechazados.

D.4.- REGISTROS EN EL CASO DE RESPONSABILIDAD COMPARTIDA

D.4.1.- Si dos o más unidades participan en la extracción, procesado o trasplante del componente, los registros de cada unidad deben mostrar con claridad el alcance de sus responsabilidades.

D.4.2.- Cada unidad participante enviará a la unidad final copia de todos los registros relacionados con la extracción y procesado y los datos concernientes a la seguridad, pureza y potencia del componente implicado.

3.- HISTOCOMPATIBILIDAD

A. - PRINCIPIOS GENERALES

A.1.- GARANTIA DE CALIDAD

A.1.1.- El laboratorio de Histocompatibilidad tiene que estar bajo la dirección de un titulado superior, con experiencia demostrada en inmunología.

A.1.2.- En el laboratorio de Histocompatibilidad existirá un Manual de Procedimientos donde se describan detalladamente todos aquellos procedimientos que se realicen. El personal, adecuadamente formado, llevará a cabo los procedimientos según lo establecido en este manual.

A.1.3.- Habrá un Manual de Equipamiento donde consten todos los datos correspondientes de los equipos y aparatos instalados en el laboratorio de Histocompatibilidad.

A.1.4.- El Laboratorio de Histocompatibilidad se someterá a controles de calidad internos y externos para asegurar que los reactivos, el equipamiento y los procedimientos utilizados cumplen su función.

A. 2.- ETIQUETADO E IDENTIFICACIÓN

A.2.1.- A la recepción de las muestras se verificará el correcto estado del recipiente, del etiquetado, confirmando la integridad y la correcta identificación y su concordancia con la petición.

A.2.2.- Las muestras obtenidas en el propio laboratorio tienen que ser etiquetadas de manera que se garantice la identificación positiva del individuo del que se han obtenido.

A. 3.- REGISTROS

Existirá un registro en papel o informático de los datos de los pacientes, de los donantes y de los resultados de los estudios realizados.

A. 4.- REACTIVOS

A.4.1.- Todos los reactivos tienen que estar adecuadamente etiquetados y almacenados siguiendo las instrucciones del fabricante para mantener la reactividad y especificidad.

A.4.2.- Los reactivos, soluciones, medios de cultivo, controles, calibradores y otros materiales han de estar etiquetados del siguiente modo:

- Identificación y cuando sea significativo título, fuerza o concentración
- Condiciones de almacenamiento
- Preparación y/o fecha de caducidad
- Cualquier otra información pertinente

A.4.3.- Para el almacenamiento de gran número de muestras idénticas se podrían aceptar abreviaturas en las muestras individuales si estas abreviaturas se explican en la parte externa del contenedor de almacenamiento.

A. 5.- TERMINOLOGÍA

A.5.1.- Tanto los alelos como los antígenos HLA se denominan de acuerdo con la nomenclatura más reciente publicada por el Comité de Nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

A.5.2.- Los antígenos o alelos nuevos todavía no aprobados por el Comité de la OMS han de tener una terminología local que no pueda confundirse

con la terminología de la OMS. Los fenotipos y genotipos tienen que estar expresados como se recomienda por la OMS tal y como se muestra en los ejemplos siguientes:

- Alelos aislados: HLA-B*07.
- Antígenos aislados: HLA-B7 (o B7 si HLA es obvio por el contexto)
- Tipaje Fenotípico del HLA. Asignación serológica: HLA-A2,30; B7,44; Cw5; DR1,4; DQ5, 7. Asignación de ADN: HLA-A*2,*30; B*07,*44; Cw*05,*16; DRB1*01,*04; DQB1*05,*0301.
- Tipaje Genotípico de HLA. Asignación serológica: HLA-A2, B44, Cw5, DR1, DQ5 / A 30, B7, Cw-, DR4, DQ7. Asignación de ADN: HLA-A*02, B*44, Cw*05, DRB1*01, DQB1*05 / A*30, B*07, Cw*16, DRB1*04, DQB1*0301.

A.5.3.- La designación del locus siempre tiene que ser incluida. Los antígenos amplios y los epitopos Bw4 deben ser informados entre paréntesis. Si sólo se encuentra un único antígeno o alelo por medio del tipaje serológico o de ADN, el fenotipo debe incluir el antígeno o alelo por duplicado sólo si la homocigosidad está comprobada por estudios familiares. Del mismo modo que un antígeno o alelo blanco sólo se puede asignar si está comprobado por estudios familiares.

B.-TIPAJE SEROLOGICO HLA CLASE I Y II

B.1.- GENERALIDADES

B.1.1.- CLASE I: Antígenos de los locus HLA-A, -B y -C:

El laboratorio tiene que ser capaz de tipar las especificidades HLA-A y -B que estén reconocidas oficialmente por la OMS.

El tipaje de los antígenos del locus HLA-C no es obligatorio.

B.1.2.- CLASE II: Antígenos HLA-DR, -DQ y -DP

El laboratorio tiene que ser capaz de tipar las especificidades HLA-DR que estén reconocidas oficialmente por la OMS.

El tipaje de los antígenos HLA-DQ y -DP no es obligatorio.

B.2.- REACTIVOS CONTROL

B.2.1.- Cada placa de tipaje tiene que contener al menos un anticuerpo como control positivo. Este control positivo debe haber mostrado previamente la capacidad de reaccionar con células que expresan antígenos de clase I y II.

B.2.2.- Los resultados del tipaje deben ser invalidados si el control positivo falla y no reacciona del modo esperado.

B.2.3.- Cada tipaje tiene que incluir al menos un suero control negativo. Este control negativo debería haber mostrado previamente carecer de anticuerpos reactivos leucocitarios.

B.2.4.- La viabilidad celular en el control negativo comprobada al final de la incubación, tiene que ser la suficiente para permitir la interpretación exac-

ta de los resultados. Para la mayoría de las técnicas la viabilidad debería ser superior al 80%.

B.2.5.- En las determinaciones en las cuales la viabilidad celular no sea necesaria, los resultados de los controles positivos y negativos tienen que ser suficientemente discriminatorios para permitir la interpretación exacta de los resultados.

B.2.6.- Tienen que existir procedimientos en el manual del laboratorio acerca de los fallos de los sueros control en las placas de tipajes o de prueba cruzada.

B.3.- CÉLULAS DIANA

No se requiere la separación de linfocitos B si se utiliza una técnica que distinga entre linfocitos T y B o en determinaciones en las cuales se utilicen anticuerpos con especificidades bien definidas que sólo definan moléculas de clase II.

B.4.- ASIGNACIÓN DE ANTÍGENOS

B.4.1.- Cada antígeno HLA-A, -B, -C debería ser definido, al menos, mediante dos sueros siempre y cuando ambos sean operativamente mono-específicos. Si se tiene que emplear suero poliespecífico se deberían utilizar al menos tres sueros con reactividad parcialmente no solapada para definir cada antígeno HLA-A, -B, y C.

B.4.2.- Cada anticuerpo monoclonal que se emplee para la asignación de aloantígenos tiene que utilizarse a una dilución y con una técnica en la cual se demuestre una especificidad comparable a la asignación de antígenos por medio de aloantisueros con un panel celular bien definido.

B.4.3.- Cada antígeno HLA clase II debería estar definido por al menos tres sueros siempre y cuando los tres sean operativamente mono-específicos. Si se tiene que utilizar suero poliespecífico, se tendrán que emplear al menos cinco sueros con reactividad parcialmente no solapada para definir cada antígeno de clase II.

B.4.4.- Los criterios para la asignación de antígenos tienen que estar descritos en el manual de laboratorio

B. 5.- CONTROL DE ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS

La especificidad de los antisueros empleados para tipificación debe estar suficientemente probada y documentada a través de los paneles de identificación y mediante comparación en paralelo con otros antisueros previamente evaluados con la misma especificidad. Las células de los paneles deberían incluir por lo menos un ejemplo de cada antígeno HLA que el laboratorio quiera definir.

B. 6.- SUEROS PARA TIPAJE

B.6.1.- Se recomienda que la especificidad de los sueros que se obtengan localmente sea confirmada por lo menos en otro laboratorio de Histocompatibilidad.

B.6.2.- Un suero para tipaje se validará sólo después de la confirmación de la especificidad. Las determinaciones de especificidad tienen que incluir un soporte de análisis estadístico.

B.6.3.- La especificidad de los sueros individuales procedentes de otros laboratorios o de casas comerciales tiene que confirmarse para asegurar que revelan las mismas especificidades que en el laboratorio al que llegan.

B.6.4.- Cada lote de nuevas placas para tipaje tienen que ser evaluadas comprobándolas con por los menos cinco células diferentes de fenotipos conocidos que representen las especificidades principales o en paralelo con placas previamente evaluadas.

B. 7.- COMPLEMENTO

B.7.1.- Cada lote de complemento tiene que ser examinado para determinar que induce citotoxicidad en presencia del anticuerpo específico o que no existe citotoxicidad en ausencia del anticuerpo específico.

B.7.2.- El complemento tiene que ser conservado a temperatura apropiada.

B.7.3.- La prueba debería consistir en múltiples diluciones de complemento para asegurar que es activo por lo menos una dilución por debajo de la que se pretende utilizar.

B.7.4.- La prueba debería ser llevada a cabo por lo menos con dos anticuerpos los cuales deberían reaccionar con al menos dos células de prueba diferentes y no reaccionar por lo menos con una célula de prueba. Se deberían seleccionar un anticuerpo débil y fuerte para la prueba o utilizar diluciones seriadas de un único suero.

B.7.5.- El complemento se debería examinar por separado con cada tipo de célula diana ya que para un óptimo resultado podría requerirse diferentes diluciones o preparación.

C.- CULTIVO MIXTO DE LEUCOCITOS (CML)

C.1.- La viabilidad de la suspensión celular debe ser superior al 80%.

C.2.- El suero utilizado en el medio de cultivo tiene que carecer de anticuerpos citotóxicos, ser estéril y tiene que haber sido comprobada su capacidad para ser el soporte de la proliferación celular.

C.3.- Los CML tienen que incubarse durante el periodo de tiempo suficiente para la detección de una respuesta proliferativa máxima.

C.4.- El control negativo de cada célula respondedora tiene que consistir en células respondedoras estimuladas con células autólogas. La compatibilidad del CML no puede ser determinada si el conteo del control autólogo de la célula respondedora es excesivamente alto.

C.5.- El control positivo para cada célula respondedora tiene que consistir en:

- células respondedoras estimuladas por separado de 3 o más individuos no emparentados
- o células de dos individuos no emparentados y un "pool" de 3 o más individuos no emparentados.

C.6.- La compatibilidad del CML no puede ser determinada si las células comprobadas como respondedoras no responden adecuadamente a las células no emparentadas.

C.7.- En cada CML las células estimulantes tienen que ser capaces de estimular las células no relacionadas.

C.8.- Los métodos de incubación y etiquetado deben estar diseñados de manera que permitan discriminar con claridad las respuestas positivas de las negativas.

D.-ESCRUTINIO DE ANTICUERPOS

D. 1.- PRINCIPIOS GENERALES

D.1.1.- Para la detección de anticuerpos dirigidos contra antígenos HLA tiene que utilizarse un método linfocitotóxico complemento-dependiente, a no ser que el laboratorio haya realizado y documentado pruebas para validar que otra técnica identifica aloanticuerpos de antígenos HLA a un nivel de sensibilidad equivalente o superior al de la técnica citotóxica.

D.1.2.- Para la detección de anticuerpos contra antígenos de HLA clase II se tiene que utilizar una técnica que los distinga de los anticuerpos contra antígenos de HLA clase I.

D.1.3.- Los informes de los resultados del escrutinio de anticuerpos tienen que incluir la identificación de la técnica utilizada.

D. 2.- SUEROS

D.2.1.- La comprobación de los sueros se tiene que realizar a una concentración determinada como óptima para la detección de anticuerpos de antígenos HLA. Las diluciones tienen que estar documentadas.

D.2.2.- Los sueros de control negativo tienen que incluir un suero de uno o varios donantes humanos no aoinmunizados.

D.2.3.- Los sueros de control positivo deberían proceder de individuos fuertemente aoinmunizados y documentados previamente como reactivos frente a antígenos HLA. Los anticuerpos tienen que ser del isotipo apropiado para cada prueba.

D.2.4.- Cada prueba tiene que incluir controles positivos.

D.3. “CÉLULAS DE PANEL” (antígenos aislados unidos a un soporte tipo “placa”)

D.3.1.- Las células diana pueden ser células mononucleares de sangre periférica, ganglios linfáticos, bazo o líneas celulares.

D.3.2.- Para detectar anticuerpos específicos HLA clase II se pueden utilizar linfocitos B, células de leucemia linfática crónica o células B de líneas linfoblastoides.

D.3.3.- El panel de antígenos HLA tiene que incluir suficientes células de donantes para asegurar que son apropiadas para la población atendida y para la utilización de los datos.

D.3.4.- Para las determinaciones cuyo fin sea proporcionar información de la especificidad de un anticuerpo, se tiene que proporcionar documentación de los fenotipos de las HLA clase I y II de los donantes.

D.3.5.- Para identificar la especificidad de un anticuerpo con certeza, el laboratorio debería evaluar el suero con células adicionales que expresen y carezcan el antígeno problema y antígenos con reactividad cruzada.

D. 4.- TÉCNICAS DE ESCRUTINIO DE ANTICUERPOS

D.4.1.- Escrutinio de anticuerpos por **citometría de flujo**.

D.4.1.1.- Los laboratorios que realicen los escrutinios utilizando la citometría de flujo tienen que adherirse a los estándares que se citan posteriormente.

D.4.1.2.- Los sueros control negativos tienen que incluir un suero de uno o varios donantes humanos no alogunizados. Cada evaluación tiene que incluir al menos un control negativo.

D.4.1.3.- Los sueros control positivos deben proceder de individuos fuertemente alogunizados documentados como reactivos frente a antígenos HLA. Los anticuerpos tienen que ser del isotipo apropiado para cada prueba. Cada prueba tiene que incluir controles positivos.

D.4.1.4.- Tienen que existir métodos para controlar la unión inespecífica de los anticuerpos.

D.4.1.5.- Cada laboratorio tiene que documentar su propio punto de corte para definir los niveles significativos de reactividad.

D.4.1.6.- Cualquier cambio en la técnica, protocolo o instrumento requiere que se redefina el umbral de positividad para la reactividad.

D.4.2.- Escrutinio de anticuerpos utilizando **células diana**.

D.4.2.1.- Si se utilizan células mezcladas procedentes de múltiples individuos para la detección de anticuerpos, las células utilizadas tienen que cubrir la mayoría de las especificidades antigénicas. El laboratorio tiene que documentar los criterios para la definición de las especificidades principales y el número de individuos incluidos.

D.4.2.2.- Para la asignación de una especificidad, la composición del panel celular tiene que ser conforme a lo expuesto en el punto D3.

D.4.3. - Escrutinio de anticuerpos por **técnicas de ELISA**.

D.4.3.1.- Los laboratorios que utilicen técnicas de ELISA para el escrutinio de anticuerpos tiene que seguir los estándares del punto que se hace mención de esta técnica (ver más adelante).

D.4.3.2.- Los sueros control negativos tienen que incluir al menos un suero de un donante humano no aoinmunizado.

D.4.3.3.- Los sueros control positivos deberían proceder de una mezcla de individuos fuertemente aoinmunizados y documentar que reaccionan con antígenos HLA.

D.4.3.4.- Los anticuerpos tienen que ser del isotipo apropiado para cada prueba.

D.4.3.5.- Se tiene que incluir en el sistema de evaluación una reacción control que carezca del antígeno HLA.

D.4.3.6.- Los sueros tienen que ser comprobados a una concentración determinada que sea la óptima para la detección del anticuerpo frente a los antígenos HLA. La dilución tiene que estar documentada.

D.4.3.7.- El panel de los antígenos HLA tiene que cumplir los estándares del punto D3.

D.4.3.8.- Los antígenos obtenidos de una mezcla de células pueden ser utilizados para la detección de anticuerpos. Tienen que utilizarse células de un número suficiente de individuos para cubrir las principales especificidades antigénicas. El número de individuos tiene que estar documentado.

D.4.3.9.- Para las pruebas que pretendan proporcionar información de la especificidad de un anticuerpo, el fabricante tiene que proporcionar la

documentación de los fenotipos HLA clase I y II de los donantes de células de panel.

D.4.4.- Escrutinio de anticuerpos utilizando **micropartículas diana**.

D.4.4.1.- Si se utilizan micropartículas recubiertas con antígenos HLA clase I y II para la detección de anticuerpos anti-HLA en el suero, los antígenos que recubren las micropartículas tienen que ser obtenidos de un número suficiente de individuos que permitan abarcar las principales especificidades antigénicas.

D.4.4.2.- El número de individuos y las especificidades antigénicas tienen que ser documentadas.

D.4.4.3.- Se tiene que comparar un histograma de la evaluación de los sueros con sueros control positivo y negativo comprobados de la misma manera.

D.4.4.4.- Para la asignación de una especificidad utilizando paneles de micropartículas recubiertas de antígenos HLA, el fabricante tiene que proporcionar documentación especificando los antígenos HLA en cada micropartícula y un análisis de la distribución de los antígenos HLA en el panel en uso.

E.- PRUEBAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN TRANSPLANTE RENAL Y DE PÁNCREAS

E.1.- Si se realizan trasplantes de donantes de cadáver, tiene que haber personal disponible durante las 24 horas al día, los siete días de la semana para realizar las pruebas de histocompatibilidad, interpretar los resultados y aconsejar a los equipos clínicos de trasplante.

E.2.- ESTUDIOS EN EL DONANTE

E.2.1.- Donación procedente de familiares vivos

E.2.1.1.- Todos los familiares disponibles más cercanos deberían ser tipados para la asignación del haplotipo exacto.

E.2.1.2.- Si el receptor tiene anticuerpos linfocitotóxicos HLA clase I o ha podido sensibilizarse recientemente, las pruebas cruzadas finales previas al trasplante deberían realizarse con una muestra de suero del receptor obtenida en las 48 horas previas al trasplante. De otro modo, se podría utilizar un suero obtenido en los tres meses previos.

E.2.2.- Donación procedente de cadáver

Los donantes pueden ser tipados utilizando linfocitos procedentes de nódulos linfoides, bazo o sangre periférica.

E. 3.- ESTUDIOS EN EL CANDIDATO RECEPTOR

E.3.1.- Escrutinio de anticuerpos

E.3.1.1.- Los laboratorios han de tener preparada su política documentada para la comprobación de la sensibilización de cada paciente en la evaluación inicial de dicho paciente.

E.3.1.2.- Los laboratorios han de tener un programa para hacer escrutinios periódicos de muestras de sueros de cada paciente para la detección de anticuerpos contra antígenos HLA.

E.3.1.3.- Los laboratorios deberían mantener un fichero de cada paciente con los acontecimientos potencialmente sensibilizantes. Se deberían recoger y almacenar muestras de sueros después de cada uno de estos acontecimientos para un posible escrutinio de anticuerpos posterior.

E.3.1.4.- La especificidad de los anticuerpos HLA detectados deberían definirse y almacenarse.

E.3.1.5.- Se debería realizar estudios para distinguir anticuerpos contra antígenos HLA de anticuerpos con otras especificidades.

E.3.2.- Pruebas de compatibilidad.

E.3.2.1.- Las pruebas de compatibilidad tienen que ser realizadas prospectivamente.

E.3.2.2.- La prueba de compatibilidad para la detección de anticuerpos HLA específicos tiene que realizarse mediante técnicas equivalentes en sensibilidad al escrutinio. Se pueden utilizar aquellas técnicas que tengan un aumento de sensibilidad respecto a la prueba de microlinfocitotoxicidad, tales como la incubación prolongada, el lavado o la potenciación con antiglobulina o la citometría de flujo.

E.3.2.3.- Las pruebas de compatibilidad tienen que ser realizadas con linfocitos sin separar de los potenciales donantes o con linfocitos enrique-

cidos T. Las pruebas de compatibilidad B se han de realizar si es requerido por el programa de trasplante en cuestión.

E.3.2.4.- Para la prueba de compatibilidad linfocitotóxica, se ha de incluir en cada bandeja un control positivo específico HLA para la actividad del complemento y un control negativo para la viabilidad de los linfocitos del donante.

E.3.2.5.- Si las pruebas cruzadas se realizan después del tratamiento del suero del paciente con DTT, se han de incluir controles IgG e IgM positivos y negativos.

E.3.2.6.- Los sueros tienen que ser comprobados a la dilución óptima de cada prueba.

E.3.2.7.- Para las pruebas de compatibilidad por linfocitotoxicidad, los sueros han de ser comprobados sin diluir y deberían comprobarse a una o más diluciones.

E.3.2.8.- Los sueros que se obtengan 14 días tras un acontecimiento potencialmente sensibilizante deberían incluirse en la prueba cruzada final.

E.3.2.9.- Si el receptor tiene anticuerpos linfocitotóxicos HLA clase I, las pruebas cruzadas finales realizadas previamente al trasplante deberían realizarse con una muestra de suero del receptor obtenida durante las 48 horas previas al trasplante. De otro modo, se podría utilizar un suero obtenido en los tres meses previos.

E.3.2.10.- Las muestras de suero utilizadas para la prueba de compatibilidad deberían ser almacenadas congeladas para su uso posterior.

E.3.2.11.- Es obligatorio el tipaje prospectivo de los antígenos HLA-A, B y DR en el donante y receptor. El tipaje de los antígenos HLA-C, DQ y DP del donante y receptor es opcional.

F.- PRUEBAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN TRASPLANTE DE OTROS ÓRGANOS SÓLIDOS

F.1.- En los casos en los que el paciente se encuentre en un alto riesgo de rechazo alógeno (p.ej. pacientes con historia previa de rechazo, pacientes con niveles altos de anticuerpos HLA clase II), los donantes y receptores deberían tiparse, cuando sea posible, para los antígenos HLA-A, B y DR.

F.2.- Se deberían realizar escrutinios, cuando sea posible, de la presencia de aloanticuerpos HLA-A, B y DR en los pacientes con alto riesgo de rechazo alógeno.

F.3.- PRUEBAS CRUZADAS

F.3.1.- Cuando sea posible, debería realizarse prospectivamente la prueba cruzada con los sueros procedentes de pacientes de alto riesgo de rechazo alógeno.

F.3.2.- La prueba de compatibilidad para la detección de anticuerpos HLA específicos tiene que realizarse mediante técnicas equivalente en sensibilidad al escrutinio. Se pueden utilizar aquellas técnicas que tengan un aumento de sensibilidad respecto a la prueba de microlinfocitotoxicidad, tales como la incubación prolongada, el lavado o la potenciación con antiglobulina o la citometría de flujo.

F.3.3.- Si el receptor tiene anticuerpos linfocitotóxicos HLA clase I o ha sufrido un acontecimiento potencialmente sensibilizante reciente, las pruebas cruzadas finales realizadas previamente al trasplante deberían realizarse con una muestra de suero del receptor obtenida durante las 48 horas

previas al trasplante. De otro modo, se podría utilizar un suero obtenido en los tres meses previos.

F.3.4.- Si el paciente recibe una transfusión sanguínea, rechaza o se le extirpa un tejido alogénico o tiene cualquier otro tipo de acontecimiento potencialmente sensibilizante, debe ser utilizada una muestra de suero obtenida al menos 14 días postsensibilización en la prueba de compatibilidad final.

F.3.5.- Cuando sea posible, los tejidos y órganos (exceptuando el riñón) para receptores en alto riesgo de rechazo alogénico deberían proceder de donantes negativos en la prueba cruzada (prueba cruzada con linfocitos no separados o células T enriquecidas menos del 20%).

G.- PRUEBAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN EL TRANSPLANTE DE MÉDULA ÓSEA Y CÉLULAS MADRE PLURIPOTENCIALES.

G.1.- TEST DE HISTOCOMPATIBILIDAD DE DONANTES EMPARENTADOS.

G.1.1.- Determinación de "haplotipos":

Se debe realizar el tipaje de los antígenos HLA de clase I y II de todos los familiares de primer y segundo grado posibles para determinar la herencia de los haplotipos.

G.1.2.- Donantes idénticos:

G.1.2.1.- El tipaje HLA de los donantes familiares para determinar su identidad debe incluir las técnicas adecuadas para establecer definitivamente la identidad por "ascendencia".

G.1.2.2.- El tipaje ampliado de clase I y clase II debería realizarse con las técnicas adecuadas dentro del protocolo de trasplante vigente para la selección óptima de los donantes (con métodos de biología molecular ó métodos de aumento, como CML).

G.1.3.- Donantes no idénticos:

G.1.3.1.- El tipaje HLA de los donantes familiares que no sean HLA idénticos tiene que incluir los métodos adecuados de tipaje para clase I y II por técnicas de biología molecular al nivel que se considere apropiado con el protocolo de trasplante vigente y la selección de donante óptima.

G.1.3.2.- Otras pruebas, como el CML, deberán realizarse de acuerdo con el protocolo de trasplante vigente para la selección óptima de los donantes.

G.1.4.- Selección final de un donante familiar:

G.1.4.1.- Se deberá repetir el tipaje HLA a partir de nueva muestra tanto del receptor como de los donantes.

G.1.5.- Laboratorios de referencia:

G.1.5.1.- Aquellos laboratorios que no posean técnicas de biología molecular para la determinación del tipaje HLA tendrán que establecer acuerdos con un laboratorio acreditado que posea las técnicas descritas.

G.1.5.2.- Este laboratorio de referencia deberá ser capaz de la realización del tipaje HLA de clase I y II mediante técnicas de biología molecular con un nivel de resolución de 4 dígitos.

G.1.5.3.- Se deberá informar de todas las alternativas/posibilidades en los casos de ambigüedad.

G.2.- TEST DE HISTOCOMPATIBILIDAD DE DONANTES “NO EMPARENTADOS”**G.2.1.- Registros de donantes voluntarios de progenitores hematopoyéticos.**

G.2.1.1.- Los donantes voluntarios, tras ser informados por algún médico responsable del programa de trasplante de médula ósea, deberán firmar el consentimiento informado, acorde con la legislación vigente, antes de la extracción sanguínea para la realización del tipaje y antes de ser incluido en el listado de donantes potenciales.

G.2.1.2.- El tipaje de los donantes debe realizarse con métodos serológicos o con técnicas de biología molecular con un nivel de resolución de al menos 2 dígitos.

G.2.2.- Selección de donantes no emparentados para el trasplante de progenitores hematopoyéticos.

G.2.2.1.- El tipaje de los antígenos HLA de clase I y II de los donantes no emparentados tiene que incluir metodología de biología molecular al menos al nivel adecuado dentro del protocolo de trasplante vigente para la selección óptima de los donantes.

G.2.2.2.- La ampliación de las pruebas (tales como la realización de CML bidireccional o la frecuencia de los precursores de linfocitos T) se deberán realizar acorde con el protocolo de trasplante vigente para la selección óptima de los donantes.

G.2.3.- Tipaje definitivo:

G.2.3.1.- Los laboratorios responsables del tipaje final de los donantes no emparentados seleccionados para el trasplante de progenitores hematopoyéticos tienen que ser capaces de determinar el tipaje de los antígenos de HLA de clase I y II del donante y del receptor mediante técnicas de biología molecular con un nivel de resolución de 4 dígitos.

G.2.3.2.- Se tendrá que informar obligatoriamente de todas las alternativas o posibilidades en los casos de ambigüedad.

G.2.4.- Selección final:

Para la selección final de un donante no emparentado, tanto el tipaje HLA del donante como del receptor, deberá repetirse utilizando una nueva muestra de cada individuo para su confirmación.

H.- PRUEBAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN LA TRANSFUSIÓN DE PLAQUETAS Y GRANULOCITOS.

H.1.- TIPAJE HLA

H.1.1.- Se deberá determinar el tipaje de los antígenos HLA de clase I (A y B) de los pacientes.

H.1.2.- Los donantes deberán cumplir los requisitos acorde con la legislación vigente.

H.2.- PRUEBA CRUZADA

H.2.1.- La realización de pruebas cruzadas linfocitarias son opcionales.

H.2.2.- Para la realización de las pruebas cruzadas son preferibles técnicas que utilicen granulocitos o plaquetas del donante.

I.- ASOCIACIÓN DEL TIPAJE HLA CON ENFERMEDADES

I. 1.- TIPAJE COMPLETO DE LOS ANTÍGENOS DE HLA

Es una opción apropiada. El tipaje puede además estar limitado en todos los productos a un único o a un limitado número de loci del HLA.

I. 2. DETERMINACIÓN DE UN ÚNICO ANTÍGENO (EJ HLA-B27)

I.2.1.- Se tienen que evaluar las celdas o pocillos de control en cada lote.

I.2.2.- Las celdas o pocillos de control tienen que incluir al menos:

- dos células que expresen el antígeno específico de forma comprobada y fehaciente.
- dos células para cada antígeno con reacción cruzada, las cuales se puedan confundir con el antígeno específico.
- dos células que carezcan de los antígenos específicos y de reacción cruzada.

I.2.4.- Los sueros de control tienen que ser comprobados en el momento del tipaje.

I.2.5.- Los sueros de control tienen que incluir un control positivo y otro negativo.

I.2.6.- Los sueros de control deberían además incluir dos sueros para cada antígeno los cuales presenten reacción cruzada con el antígeno específico (si estuviera disponible).

I.2.7.- Los sueros para definir cada antígeno deberán reunir los requisitos generales como corresponda.

J.- ESTUDIOS DE PATERNIDAD

J. 1.- CUALIFICACIÓN Y CAPACITACIÓN

J.1.1.- Los estudios de paternidad tienen que estar restringidos a aquellos laboratorios que reúnan los requisitos técnicos y de personal cualificado correspondiente.

J.1.2.- La competencia del personal técnico en relación con los estudios de paternidad debe ser responsabilidad del Director.

J.1.3.- El Director y el personal técnico tienen que participar en programas de educación continuada relativos al campo de los estudios de paternidad.

J.1.4.- Un miembro cualificado debe estar disponible para declarar como perito (testimonio legal) en el caso que sea necesario o requerido por la autoridad.

J. 2.- DOCUMENTACIÓN

J.2.1.- Los laboratorios que utilicen otras determinaciones genéticas además del tipaje HLA tienen que estar documentados y acreditados en dichos sistemas o métodos técnicos.

J.2.2.- Un laboratorio acreditado puede necesitar la colaboración de otro laboratorio para la realización de los estudios genéticos para sistemas no disponibles en el laboratorio principal. En tal caso, tanto el laboratorio subcontratado como la parte del estudio por el cual se responsabiliza tienen que ser notificados en el informe.

J. 3.- IDENTIFICACIÓN DEL SUJETO

J.3.1.- Se tienen que tomar las medidas oportunas para registrar la identificación verificable de los sujetos en el momento de la extracción de las muestras sanguíneas.

J.3.2.- En caso de la recepción de las muestras de un lugar externo al laboratorio se verificará el correcto estado del recipiente, del etiquetado, confirmando la integridad y la correcta identificación positiva, tras mutuo acuerdo de las partes.

J.3.3.- Entre las medidas para la identificación se recomienda incluir la realización de fotografías, toma de huellas dactilares y la comprobación de la identidad con documentos oficiales que conlleven una fotografía del sujeto.

J.3.4.- Se tiene que registrar en el momento del estudio toda la información identificativa posible, no sólo limitarse al nombre, parentesco, grupo étnico, lugar y fecha de extracción de las muestras.

J.3.5.- Toda la información de cada individuo estudiado tiene que ser verificada y refrendada por medio de la firma del individuo o el tutor legal.

J.3.6.- Se tiene que registrar la fecha de nacimiento del niño/a así como la historia transfusional reciente (tres últimos meses) de cada individuo estudiado.

J. 4.- IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

J.4.1.- Cada tubo tiene que ser etiquetado inmediatamente antes de la obtención de la muestra de manera que se garantice la identificación positiva del individuo del que se ha obtenido.

J.4.2.- La etiqueta debe incluir el nombre completo del sujeto, la fecha de extracción y las iniciales de la persona que ha realizado su extracción.

J.4.3.- El nombre completo de la persona que ha realizado la extracción tiene que incluirse y guardarse de forma indefinida en los registros.

J. 5.- TIPAJES HLA REQUERIDOS PARA LOS ESTUDIOS DE PATERNIDAD

J.5.1.- Cada determinación tiene que realizarse en dos placas diferentes o sets de placas, que contengan como mínimo un suero monoespecífico o dos polispecíficos definidos para cada locus HLA-A y HLA-B analizado.

J.5.2.- Los sueros definidos para una especificidad particular deberán proceder de donantes diferentes.

J.5.3.- Las placas tienen que ser leídas e interpretadas independientemente.

J. 6.- ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

J.6.1.- Los análisis asistidos por programas computarizados tienen que ser revisados, verificados y firmados por el responsable antes de su emisión.

J.6.2.- Se tiene que documentar el programa computarizado utilizado para el análisis estadístico.

J.6.3.- Si sólo se realizasen cálculos de forma manual, éstos se tienen que realizar por duplicado.

J.6.4.- Las frecuencias genéticas y haplotípicas del HLA se deberán obtener de estudios poblacionales de tamaño adecuado.

J. 7.- INFORME

J.7.1.- Los informes tienen que ser emitidos solamente por personal autorizado.

J.7.2.- En los informes tiene que constar la siguiente información:

- El nombre de cada individuo estudiado y su relación con el niño.
- El origen étnico asignado por el laboratorio a la madre y al supuesto padre para el cálculo.
- El fenotipo establecido para cada individuo en cada sistema genético examinado.
- Una declaración si se puede o no excluir al supuesto padre.

J.7.3.- Cuando no haya exclusión, el informe tiene que contener además:

- El índice de paternidad individual para cada sistema genético informado, el índice de paternidad acumulado y la probabilidad de la paternidad expresado como un porcentaje. Se tiene que enunciar la probabilidad previa utilizada para el cálculo de la probabilidad de paternidad.
- Son opcionales otras expresiones matemáticas o verbales. Si fuesen incluidas, tales expresiones se deberán definir y explicar.
- Si los resultados no fuesen concluyentes, se tiene que incluir una explicación de la naturaleza del problema.
- La firma del director del laboratorio.

K.- ANÁLISIS DE ÁCIDO NUCLEICO APLICADO A ESTUDIOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD

K.1.- EXTRACCIÓN DEL ADN

K.1.1.- El ADN se tiene que purificar por un método estándar que haya sido descrito en la literatura científica y validado en el laboratorio.

K.1.2.- Si el ADN no es utilizado inmediatamente después de su purificación, se almacenará de forma que garantice su integridad.

K.2.- AMPLIFICACIÓN

K.2.1.- Existirán barreras para prevenir la contaminación del ADN. La preamplificación se realizará en una zona que excluya el ADN ya amplificado. Además se recomienda el uso de filtros de aire estático o cabinas de flujo de seguridad biológica de clase II. Se pueden utilizar procedimientos bioquímicos para inactivar los productos amplificados.

K.2.2.- Entre otras precauciones físicas del área de preamplificación se incluyen el uso de trajes de laboratorio, guantes y material desechable. Se tiene que realizar con frecuencia limpieza con ácido o lejía diluida o tratamiento con radiación ultravioleta de las superficies de trabajo.

K.2.3.- Para los procedimientos de preamplificación es obligatorio la utilización de equipos exclusivos.

K.2.4.- Se requiere el uso de pipetas exclusivas. Se recomienda el uso de pipetas con puntas con filtro incorporado o desechables.

K.2.5.- Los termocicladores tienen que mantener de forma precisa y reproducible la temperatura adecuada de las muestras. Esta temperatura se tiene que verificar periódicamente.

K.2.6.- Todos los reactivos utilizados en la amplificación tienen que dispensarse en alícuotas para uso individual o pueden ser dispensados en alícuotas para uso múltiple si se documenta que están libres de contaminación en cada uno de los usos. Cuando se combinen reactivos para formar mezcla maestra, se recomienda que uno de los componentes críticos no esté en la alícuota (p.ej. el magnesio).

K.2.7.- Los reactivos, tales como los enzimas o los agentes químicos, tienen que almacenarse y utilizarse en las condiciones recomendadas por el fabricante (p.ej. la temperatura de almacenamiento, la concentración, tampón...). Los reactivos utilizados para la amplificación no pueden ser expuestos a las áreas de trabajo de postamplificación.

K.2.8.- En caso de utilización de "kits" comerciales tiene que documentarse su origen, el número de lote, la fecha de caducidad y las condiciones de almacenamiento. Cada laboratorio se responsabiliza de la precisión del tipaje. Los reactivos procedentes de diferentes lotes de "kits" no pueden mezclarse.

K.2.9.- Los cebadores tienen que almacenarse bajo las condiciones que aseguren su especificidad y sensibilidad.

K.2.10.- Se tiene que poner especial atención en el contenido de los productos amplificados cuando se utilicen dos pasos consecutivos de amplificación logarítmica. (p.ej. separación física, monitorización de la contaminación del flujo de trabajo).

K.2.11.- Si se realiza una segunda amplificación de la misma muestra, tiene que

hacerse en un lugar separado físicamente del área de trabajo de preamplificación. Se requiere el uso de pipetas exclusivas para cada área de trabajo.

K.2.12.- Los moldes de ADN no pueden ser expuestos a las áreas de trabajo de la postamplificación.

K.2.13.- En la amplificación, se puede utilizar el ADN de cualquier célula nucleada o el ARN de cualquier célula que exprese los antígenos del HLA. Pero si se utiliza el ARN tienen que incluirse los controles positivos adecuados de la transcripción inversa.

K.2.14.- Los ácidos nucleicos tienen que prepararse y almacenarse de forma que no se artefacte ni se inhiba la reacción de amplificación.

K.2.15.- Se tiene que determinar la especificidad y la secuencia de los cebadores.

K.2.16.- Se ha de demostrar que las condiciones que puedan influir en la especificidad o en la cantidad del producto amplificado son las satisfactorias para cada set de cebadores.

K.2.17.- Se deberá utilizar el material de referencia para evaluar y reconfirmar la especificidad y la cantidad del producto para cada lote de cebadores periódicamente.

K.2.18.- Se tiene que monitorizar la contaminación del ácido nucleico. Los controles tendrán que comprobarse utilizando el método de rutina para la determinación del tipaje de HLA.

K.2.19.- Se tendrán que incluir controles negativos (sin ácido nucleico) en cada análisis de amplificación. Otro control negativo puede incluir el estudio de tubos abiertos en el área de trabajo.

K.2.20.- Se ajustará el número de ciclos de amplificación para obtener cantidad suficiente de producto de amplificación y que no haya amplificación de más de 10 moléculas de ADN contaminante.

K.2.21.- Se tienen que realizar análisis de rutina de cepillado de las áreas de trabajo de preamplificación, y tomar medidas para prevenir futuras contaminaciones.

K.2.22.- Se tiene que monitorizar la cantidad de los productos de amplificación específicos.

K.2.23.- Tienen que especificarse los criterios de aceptación y de rechazo de los análisis de amplificación.

K.2.24.- Si la presencia de un producto amplificado se utiliza como resultado final, los controles se tienen que incluir para detectar los fallos de amplificación en cada mezcla de amplificación. La especificidad de la amplificación se tiene que monitorizar periódicamente.

K.2.25.- Se tienen que monitorizar las variaciones en la cantidad del producto amplificado y se debe especificar el rango aceptable para la cantidad del producto obtenido.

K.3.- SONDAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS E HIBRIDACIÓN CON ADN AMPLIFICADO

K.3.1.- Se tiene que definir la especificidad y la secuencia objetivo.

K.3.2.- Las sondas se tienen que almacenar bajo las condiciones adecuadas para mantener la especificidad y sensibilidad.

K.3.3.- Las sondas se tienen que utilizar bajo las condiciones determinadas empíricamente en las que alcanzan la especificidad predefinida que tiene

que mantenerse para cada lote de sondas. Se tiene que evaluar cada lote de sondas para su especificidad y cantidad de producto.

K.3.4.- La hibridación tiene que llevarse a cabo bajo las condiciones empíricamente determinadas para alcanzar la especificidad definida.

K.3.5.- La especificidad de la hibridación se debería confirmar utilizando controles positivos y negativos con cada sonda.

K.3.6.- Los controles deberían ser capaces de detectar hibridación cruzada con secuencias próximamente relacionadas.

K.3.7.- La reutilización de ácidos nucleicos (sondas o amplificado de DNA) unidas a soportes sólidos sólo se tiene que llevar a cabo después de demostrar que las señales previas ya no son detectables.

K.3.8.- La reutilización de ácidos nucleicos en soluciones (sondas o amplificado de DNA) sólo tiene que llevarse a cabo con controles incluidos para asegurar que no se ha alterado la sensibilidad y la especificidad del ensayo.

K.3.9.- Se tienen que monitorizar los incubadores y los baños de agua para precisar y asegurar la temperatura de mantenimiento cada vez que el ensayo se lleve a cabo.

K.3.10.- Se deberá establecer la especificidad y la sensibilidad del marcaje y del método de detección, y ser reproducibles.

K.3.11.- Se mantendrá la especificidad y la sensibilidad para cada lote de reactivos (p.e. anticuerpos, sondas, moléculas indicadoras).

K.3.12.- Las enzimas se almacenarán bajo las condiciones recomendadas por el fabricante para asegurar la correcta actividad.

K.3.13.- Se deberá confirmar la actividad enzimática de cada lote previamente a su utilización.

K.3.14.- Para el análisis de los resultados, se tienen que especificar los límites aceptables de la intensidad de las señales para los resultados positivos y negativos. Si éstas no se obtienen, se requerirán acciones correctoras.

K.3.15.- Se tiene que especificar el método de asignación de los alelos.

K.3.16.- Se recomiendan dos interpretaciones independientes de los datos primarios.

K. 4.- TIPAJE BASADO EN LA SECUENCIACIÓN DE ADN

K.4.1.- Se seguirán los estándares para la preparación de los productos de amplificación.

K.4.2.- Los productos de amplificación tienen que poseer la suficiente especificidad, pureza, cantidad y calidad para proporcionar unos datos de la secuenciación primaria interpretables.

K.4.3.- El método para la preparación de la secuenciación de los productos de amplificación tiene que generar de forma segura secuencias de longitud apropiada que estén libres de inhibidores de las reacciones subsecuentes, libres de contaminantes y no alterar la exactitud de la secuencia final.

K.4.4.- Los reactivos utilizados en la preparación de la secuenciación de los productos de amplificación tienen que ser utilizados bajo las condiciones recomendadas por el fabricante.

K.4.5.- El funcionamiento apropiado de cada lote tiene que ser documentado antes de la emisión de resultados .

K.4.6.- Cuando se utilicen cebadores de amplificación, se tiene que documentar la especificidad y los polimorfismos de la secuencia deseada.

K.4.7.- Los cebadores tienen que ser utilizados bajo las condiciones determinadas empíricamente que obtengan la especificidad definida de la amplificación.

K.4.8.- Cada lote de cebadores deberá ser analizado utilizando material de referencia bajo las condiciones de rutina y reconfirmado periódicamente.

K.4.9.- Las condiciones para la extensión de los cebadores tiene que ser las apropiadas por los moldes de ADN .

K.4.10.- La especificidad y sensibilidad de los métodos de detección y marcado se tienen que documentar en el laboratorio antes de la emisión de los resultados.

K.4.11.- Se documentará el funcionamiento satisfactorio de cada uno de los lotes de reactivos.

K.4.12.- Los reactivos tienen que ser almacenados bajo las condiciones que permitan un óptimo funcionamiento.

K. 4.13.- Para la electroforesis, el laboratorio establecerá los criterios de aceptación de cada gel.

K.4.14.- Se documentará el correcto funcionamiento de cada lote de reactivos que influyan en la calidad y la exactitud de los datos de secuenciación

K.4.15.- Se establecerán las condiciones aceptables de la electroforesis y se registrarán para cada carrera.

K.4.16.- Los reactivos se almacenarán bajo condiciones que permitan una conservación óptima.

K.4.17.- En la asignación de los nucleótidos y alelos, se establecerán los criterios para la aceptación de los datos primarios. La validación puede incluir la secuenciación de muestras representativas de los polimorfismos que sean encontrados frecuentemente en la población para detectar artefactos secuencia-específicos de secuencia. Durante la validación se recomienda la secuenciación de ambas cadenas de al menos un polimorfismo representativo. Las características de la secuencia específica establecidas deben ser documentadas.

K.4.18.- Las asignaciones rutinarias de las secuencias tienen que estar basadas en el análisis de los datos de las secuencias a partir de las cadenas complementarias, excepto que se documente que el método de secuenciación es suficientemente exacto en la asignación de las secuencias a partir de una sola cadena de ADN. Si las asignaciones se basan de forma rutinaria en los datos aportados a partir de una sola cadena de ADN, se recomienda su confirmación periódica con las cadenas complementarias. Si la asignación de las bases nucleótidas con frecuencia son difíciles de interpretar, se recomienda la secuenciación rutinaria de ambas cadenas de ADN. Si una secuenciación sugiere un nuevo alelo o una rara combinación de alelos, se tiene que determinar la secuencia de ambas cadenas.

K.4.19.- Se tiene que establecer una método sólido científica y técnicamente para la interpretación, aceptación o rechazo de las secuenciación de regiones que sean difíciles de interpretar.

K.4.20.- Se recomiendan dos interpretaciones independientes de los datos primarios para resolver las dudas de las posiciones de las bases nucleicas.

K.4.21.- Si se utilizan sistemas automáticos y programas informáticos para la asignación de nucleótidos tienen que ser validados

K.4.22.- Los alelos y loci de HLA tienen que ser definidos para cada combinación de cebadores/producto de amplificación.

K.4.23.- Cada secuencia desconocida tiene que ser comparada con las secuencias de todos los alelos que hayan sido reconocido por el Comité de Nomenclatura de la OMS y cuya secuencia de nucleótidos esté disponible.

K.4.24.- Las bases de datos de las secuencias tienen que ser exactas y conformes con la Nomenclatura de la OMS.

K.4.25.- Las combinaciones ambiguas de alelos tienen que ser definidas para cada combinación de cebadores/molde de ADN.

K.4.26.- La metodología tiene que asegurar que las secuencias obtenidas por los cebadores no estén consideradas en la asignación de los alelos.

K.4.27.- Se recomiendan dos asignaciones de los alelos cuándo éstas se realicen manualmente.

K.4.28.- El laboratorio tiene que mantener los registros que definan las bases de datos utilizadas para la interpretación de los datos primarios que se actualizará periódicamente. Si una determinada secuencia fuera ambigua el informe tiene que indicar todas las posibles combinaciones alélicas.

K. 5.- TIPAJE UTILIZANDO AMPLIFICACIÓN ESPECIFICA DE SECUENCIA

K.5.1.- Se tiene que definir la especificidad de la combinación de cada cebador.

K.5.2.- Cada reacción de amplificación tiene que incluir procedimientos para detectar fallos técnicos.

K.5.3.- En cada determinación de amplificación se utilizarán controles para la detección de contaminación con productos previamente amplificados.

K.5.4.- Los cebadores tienen que ser utilizados bajo condiciones determinadas empíricamente que consigan la especificidad definida por los ADN diana utilizados en las determinaciones de rutina.

K.5.5.- Cada set de cebadores tiene que ser analizado para la sensibilidad de la amplificación y para la cantidad del producto utilizando material de referencia bajo las óptimas condiciones. La frecuencia del análisis de cada set de cebadores tiene que asegurar que todos los pares de cebadores tienen la sensibilidad y la especificidad de amplificación apropiada. La especificidad y la sensibilidad tienen que ser obtenidas con muestras heterocigotas.

K.5.6.- Al realizar la electroforesis, se incluirán controles de amplificación de ADN negativos y positivos.

K.5.7.- Se tienen que incluir en cada gel marcadores que incluyan bandas electroforéticas cuyos tamaños abarquen todo el rango de tamaños de los fragmentos que se espera obtener.

K.5.8.- La cantidad de ADN para cada calle no tiene que alterar la velocidad de la migración de la muestra con respecto a la migración de los controles.

K.5.9.- Se tienen que determinar las condiciones óptimas de la electrofo-

resis para cada locus, y establecer los rangos aceptables.

K.5.10.- El laboratorio tiene que establecer los criterios para aceptar cada gel.

K.5.11.- La tinción para la detección/visualización de los fragmentos de ácidos nucleicos, tiene que ser utilizada de acuerdo con las instrucciones del fabricante, alguna referencia publicada o las condiciones optimizadas empíricamente.

K.5.12.- Si se utilizan cebadores marcados para detectar fragmentos de ADN amplificados, la especificidad y la sensibilidad del marcado y del método de detección tienen que ser conocidos y reproducibles.

K.5.13.- Se tienen que especificar los límites aceptables de la intensidad de la señal.

K.5.14.- La especificidad y la sensibilidad del método de detección tienen que estar documentadas y ser reproducibles.

K.5.15.- Para el análisis de resultados, se especificarán los límites cuantitativos aceptables de la intensidad de la señal para los resultados negativos y positivos. Si no fuesen alcanzados, se requeriría alguna acción correctora.

K.5.16.- Se tiene que describir el método para la asignación de los alelos.

K.5.17.- Se recomiendan dos interpretaciones independientes de los datos primarios.

K. 6.- ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO DE LOS FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN (RFLP)

K.6.1.- Los loci HLA y sus alelos o variantes tienen que ser definidos por cada tipo de RFLP.

K.6.2.- Las enzimas se tienen que almacenar y utilizar bajo las condiciones recomendadas por el fabricante para asegurar una actividad enzimática correcta. El funcionamiento apropiado de cada lote de enzimas tiene que ser documentado.

K.6.3.- Cuando se digiera ADN amplificado, hay que hacerlo junto a un control que produzca fragmentos de tamaño conocido, y tienen que ser además digeridos en paralelo para monitorizar la completa digestión.

K.6.4.- Se tienen que aplicar todos los estándares relevantes de la sección K.5 relativos a la electroforesis.

K.6.5.- Se tienen que aplicar todos los estándares relevantes de la sección K.5 relativos a la detección de fragmentos de ácidos nucleicos.

K.6.7.- Se tienen que aplicar todos los estándares relevantes de la sección K. 5 para el análisis de resultados.

K. 7.- OTROS MÉTODOS

K.7.1.- Si se utilizan métodos alternativos para el tipaje HLA, los procedimientos serán validados y los controles utilizados serán suficientes para asegurar la asignación de los tipajes.

K.7.2.- Los sistemas automatizados y los programas computarizados tienen que ser validados previamente a su utilización y analizada rutinariamente su exactitud y la reproducibilidad de las manipulaciones.

L.- CITOMETRÍA DE FLUJO

L.1.- Estos estándares se aplican a la citometría de flujo para la determinación o tipaje de los antígenos HLA, incluido el tipaje B27.

L.2.- ESTANDARIZACIÓN Y CALIBRACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS

L.2.1.- Una óptica estándar, formada por partículas de látex o por otras partículas, tiene que comportarse de tal manera que asegure el enfoque apropiado y la alineación de todas las lentes en la trayectoria de la fuente de luz y los detectores de la señal emitida (granularidad y fluorescencia).

L.2.2.- El citómetro de flujo tiene que ser limpiado periódicamente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

L.2.3.- El citómetro de flujo tiene que ser revisado periódicamente siguiendo las recomendaciones exactas del fabricante. Se tienen que registrar todos los datos de las revisiones, así como los posibles fallos y comentarios.

L.2.4.- Debería pasarse a diario una fluorescencia estándar de cada fluorocromo para asegurar una amplificación adecuada de las señales fluorescentes.

L.2.5.- Esta fluorescencia estándar puede ser incorporada a las partículas utilizadas para la estandarización óptica o puede ser otra partícula o una preparación de células fijadas.

L.2.6.- La fluorescencia estándar tiene que ser comprobada al principio de cada sesión diaria y tras cada operación de mantenimiento o de ajuste.

L.2.7.- Existirá un control diario de los resultados de la estandarización.

L.2.8.- En el caso que no se consiga una correcta separación de fluorescencia, se establecerán medidas correctoras.

L.2.9.- Si se realizan análisis usando dos o más fluorocromos simultáneamente, existirá un procedimiento de compensación apropiado para el eliminar el solapamiento con los otros detectores de fluorescencia.

L.2.10.- Los instrumentos basados en tecnología láser deben tener un registro del amperaje y la potencia del láser cada vez que se realice un procedimiento.

L.3.- TÉCNICAS DE PRUEBAS CRUZADAS BASADAS EN CITOMETRÍA DE FLUJO

L.3.1.- Se recomienda utilizar más de una fluorescencia. Sin embargo, si se utiliza una técnica con un sólo color, tiene que documentarse la pureza de la población celular aislada y ésta deberá ser de suficiente pureza para definir la población de análisis.

L.3.2.- La unión de la inmunoglobulina humana tiene que ser evaluada con una fracción F(ab') IgG específica anti-humana marcada con un fluorocromo dirigida contra la fracción Fc de la cadena pesada.

L.3.3.- Se tiene que verificar la especificidad de los anticuerpos monoclonales con la documentación suministrada por el fabricante o publicada o con controles de calidad internos documentados.

L.3.4.- Los reactivos se tienen que almacenar siguiendo las instrucciones del fabricante o de acuerdo con las condiciones verificadas por análisis o controles locales documentados.

L.3.5.- Los anticuerpos monoclonales, que hayan sido reconstituidos a partir de polvo liofilizado para su almacenamiento a 4°C, tienen que ser centrifugados, de acuerdo con las instrucciones suministradas por el fabricante o con procedimientos localmente documentados, para la retirada de los microagregados previamente a su utilización.

L.3.6.- Cada laboratorio tiene que establecer su propio protocolo de prueba cruzada, estandarizando y optimizando todos los reactivos utilizados, los tiempos de incubación y las temperaturas.

L.3.7.- Cada laboratorio tiene que establecer su propio nivel de corte para la interpretación de las pruebas cruzadas positivas, de acuerdo con la media de las interpretaciones, con la media de las lecturas de fluorescencia o con el número de moléculas marcadas con fluorescencia.

L.3.8.- Ante cualquier cambio en la instrumentación o en el protocolo se requiere la repetición de la caracterización del nivel de corte para la prueba cruzada positiva.

L.4.- DETERMINACIÓN DEL HLA POR CITOMETRÍA DE FLUJO (P.EJ- HLA B27)

L.4.1.- La terminología utilizada tiene que estar definida o ser acorde con la nomenclatura recomendada por la más reciente publicación del Comité de Nomenclatura de la OMS.

L.4.2.- El método utilizado para la preparación celular garantizará la obtención de preparaciones apropiadas de células viables.

L.4.3.- Se tiene que registrar la viabilidad de la preparación celular y tiene que ser superior al mínimo establecido por el laboratorio.

L.4.4.- Se tiene que comprobar cada preparación celular para cada determinación con un control negativo. Este control estará constituido por anticuerpos monoclonales de la misma especie y subclase que serán preparados y purificados de la misma manera que los monoclonales utilizados para el fenotipaje.

L.4.5.- En los marcajes secundarios, se utilizará como control negativo un anticuerpo primario inespecífico y el mismo anticuerpo secundario que se utiliza con la muestra.

L.4.6.- En los marcajes directos, se utilizará como control negativo un anticuerpo inespecífico marcado con el mismo fluorocromo que la muestra.

L.4.7.- Las células y los controles, hayan sido o no fijados previamente, se analizarán dentro de un periodo de tiempo en que el laboratorio haya demostrado que no sufren alteraciones.

L.4.8.- La especificidad de los anticuerpos monoclonales se tiene que verificar por medio de determinaciones con células de control adecuadas que hayan sido preparadas y comprobadas por el mismo método empleado en el laboratorio para la realización de las determinaciones.

L.4.9.- Las células de control tienen que ser analizados para cada nuevo lote de anticuerpos monoclonales.

L.4.10.- En las células de control se incluirán:

- al menos cinco células que expresen el antígeno específico de forma contrastada.
- al menos dos células que expresen antígenos con reacción cruzada que puedan ser confundidos con el antígeno específico.

- al menos dos células que carezcan del antígeno específico y de antígenos con reacción cruzada.

L.4.11.- Las cantidades de reactivos utilizados para cada determinación analítica tienen que ser calculadas por el fabricante o partir de datos publicados, y si fuera posible debería verificarse localmente por procedimientos de titulación apropiados.

L.4.12.- Los reactivos tienen que ser almacenados siguiendo las instrucciones del fabricante o de acuerdo a las condiciones para mantener la estabilidad verificadas y documentadas por el propio laboratorio.

L.4.13.- Los anticuerpos monoclonales, que hayan sido reconstituidos a partir de polvo liofilizado para su almacenamiento a 4°C, tienen que ser centrifugados siguiendo las instrucciones del fabricante o de acuerdo a condiciones verificadas y documentadas para retirar los microagregados previos a su utilización.

L.4.14.- La reactividad mínima para la definición de una reacción positiva tiene que ser establecida por el propio laboratorio.

L.4.15.- Cada lote de determinaciones tiene que incluir una muestra de una célula conocida que exprese el antígeno a estudiar como control positivo.

L.4.16.- Existirá un protocolo escrito que explique como se determina la presencia o ausencia de un determinado antígeno, si se conoce o se determina que los anticuerpos monoclonales utilizados reaccionan con otros antígenos diferentes al especificado.

M.- ELISA (ENSAYO DE INMUNO ABSORCIÓN LIGADO A ACTIVIDAD ENZIMÁTICA)

M.1.- CALIBRACIÓN-ESTANDARIZACIÓN DEL INSTRUMENTAL

M.1.1.- La fuente de luz tiene que producir la longitud de onda e intensidad de luz requeridas para la realización de la prueba.

M.1.2.- Se verificará y documentará el movimiento preciso de la placa.

M.1.3.- Se tienen que realizar calibraciones periódicas del instrumental de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

M.1.4.- Las pipetas se calibrarán periódicamente. Se documentarán las calibraciones.

M.1.5.- Los dispositivos de lavado de las microplacas se tienen que revisar periódicamente. Se documentarán las revisiones.

M.2.- TÉCNICAS DE ELISA

M.2.1.- Si se utilizan kits comerciales, se tienen que seguir las instrucciones del fabricante excepto que el laboratorio haya realizado y documentado las técnicas para justificar alguna desviación o modificación.

M.2.2.- Los reactivos se tienen que almacenar a la temperatura y durante el tiempo especificado por el fabricante.

M.2.3.- Cada prueba tiene que contener un control positivo, un control negativo y control de los reactivos. Se tienen que documentar la dilución de los reactivos y de las muestras.

M.2.4.- La identificación de las muestras y la orientación apropiada de las placas se tienen que mantener a lo largo del procedimiento.

M.2.5.- Se registrarán los números de los lotes y los valores de densidad óptica de los reactivos de referencia y los controles utilizados para cada análisis. Estos valores tienen que entrar entre los límites aceptables para que el análisis pueda ser validado.

M.2.6.- Se registrará el número y volumen de los lavados para cada análisis.

M.2.7.- Los nuevos lotes de reactivos se tienen que validar, por comparación con un lote conocido, que tenga un buen funcionamiento o probarlos con muestras con reactividad conocida.

4. BANCO DE TEJIDOS.

A.- DEFINICIONES

A.1.- CÉLULAS: las células individuales o una colección de células cuando no estén unidas por ninguna forma de tejido conjuntivo.

A.2.- TEJIDO: todas las partes constituyentes del cuerpo humano formado por células.

A.3.- DONANTE: un individuo vivo o fallecido, incluidos nonatos, que sea la fuente de células o tejidos.

A.4.- ÓRGANO: una parte diferenciada y vital del cuerpo humano, formada por diferentes tejidos, que mantiene su estructura, vascularización y capacidad para desarrollar funciones fisiológicas con un nivel de autonomía importante.

A.5.- OBTENCIÓN: un proceso por el que se consiguen el tejido o las células donados.

A.6.- PROCESAMIENTO: todas las operaciones que implica la preparación, manipulación, preservación y empaquetado de los tejidos y las células destinados a trasplantes.

A.7.- PRESERVACIÓN: la utilización de agentes químicos, alteraciones de las condiciones medioambientales u otros medios durante el procesamiento a fin de impedir o retrasar el deterioro biológico o físico de las células o los tejidos.

A.8.- CUARENTENA: la situación del tejido extraído, las células o el material de empaquetado, o del tejido aislado físicamente o por otros medios efectivos, mientras se espera una decisión sobre la autorización o el rechazo.

A.9.- DISTRIBUCIÓN: el transporte y la entrega de tejidos o células para su almacenamiento, procesamiento o utilización en receptores.

A.10.- TRASPLANTE: el proceso de reconstitución de una función mediante la transferencia de células o tejidos equivalentes a un receptor.

A.11.- ACONTECIMIENTO ADVERSO GRAVE: cualquier acontecimiento desfavorable vinculado con la obtención, verificación, procesamiento, almacenamiento y distribución de tejidos y células que pueda conducir a la transmisión de una enfermedad transmisible o la muerte del paciente, o que sea potencialmente mortal, que produzca discapacidad o invalidez, que haga necesaria la hospitalización o su prolongación, o que conlleve morbilidad o la prolongue.

A.12.- REACCIÓN ADVERSA GRAVE: una respuesta inesperada del donante o del receptor, incluida una enfermedad transmisible, asociada a la obtención o el trasplante de tejidos y células que conduzca a la muerte, que sea potencialmente mortal, que produzca discapacidad o invalidez, que haga necesaria la hospitalización o su prolongación, o que conlleve morbilidad o la prolongue.

A.13.- BANCO DE TEJIDOS: el establecimiento, público o privado, responsable de las actividades de procesamiento, preservación, almacenamiento y distribución de los tejidos y las células. También puede ser responsable de la obtención de los tejidos y las células.

A.14.- CENTRO DE TEJIDOS: un banco de tejidos o centro de asistencia sanitaria que posea un equipo de obtención de tejidos.

A.15.- EQUIPO DE OBTENCIÓN DE TEJIDOS: los profesionales de asistencia sanitaria que participen en alguna de las actividades necesarias para la obtención de tejidos y células.

A.16.- USO ALOGÉNICO: las células o los tejidos trasplantados de una persona a otra.

A.17.- USO AUTÓLOGO: las células o los tejidos extraídos y trasplantados a la misma persona.

B.- EXTRACCIÓN DE TEJIDOS HUMANOS.

B.1 .- Las relaciones y distribución de responsabilidades entre los Bancos de Tejidos, Centros Hospitalarios de extracción y trasplante, y Organismos Reguladores de los Trasplantes, estarán debidamente documentadas.

B.2 .- Los Centros Sanitarios deberán estar autorizados para las distintas actividades por los organismos institucionales con competencias en la materia, tal como recoge el Real Decreto 411/1996.

B.3 .- Existirá un procedimiento escrito para garantizar la trazabilidad de los tejidos durante todo el proceso.

B.4 .- Existirá un sistema de gestión de la calidad en todo el proceso.

B.5 .- La selección de donantes para cada tejido, estará regida por la normativa legal vigente en esta materia, donde se determina la idoneidad del donante, edad, tiempo de demora para la extracción del tejido que garantice la conservación de sus funciones biológicas, así como las técnicas apropiadas a cada tipo de tejido que aseguren su utilización clínica.

B.6 .- Deben respetarse los principios de voluntariedad, altruismo, ausencia de ánimo de lucro, anonimato, confidencialidad y respeto a la dignidad del donante.

B.7 .- Para la obtención de tejidos de un donante vivo mayor de edad es imprescindible un consentimiento informado que deberá formalizarse por escrito y ser firmado por el donante y por el médico. La autorización permanecerá registrada en la historia clínica del donante.

B.8 .- Los menores de edad pueden ser donantes de residuos quirúrgicos, progenitores hematopoyéticos y médula ósea (estos dos últimos casos sólo si existe relación genética entre donante y receptor).

B.9 .- La extracción de tejidos de personas fallecidas podrá realizarse en caso de que no hubieran dejado constancia expresa de su oposición.

C.- PROCESAMIENTO Y ALMACENAMIENTO.

C.1 .- Las actividades de procesamiento, conservación, almacenamiento, control de calidad, distribución y transporte de tejidos humanos sólo se podrán realizar en aquellos Bancos de Tejidos que hayan sido autorizados por el órgano competente de la Comunidad Autónoma correspondiente.

C.2 .- Los Bancos de Tejidos deberán disponer de organización y funcionamiento adecuado asegurando una disponibilidad suficiente para la recepción y distribución de tejidos.

C.3 .- Los Bancos de Tejidos deberán disponer de instalaciones y material adecuado.

C.4 .- Los Bancos de Tejidos deberán disponer de protocolos para cada uno de los procedimientos y mantener un archivo documental que garantice la trazabilidad.

C.5 .- Los Bancos de Tejidos deberán realizar controles de calidad adecuados para cada tejido.

C.6 .- Debe mantenerse una seroteca durante un periodo mínimo de 5 años contados a partir del momento de la utilización del último injerto de un donante.

C.7 .- Se dispondrá de un registro donde constarán los donantes, los tejidos y las implantaciones realizadas. Dicho registro se atenderá a lo dispuesto sobre confidencialidad de datos.

C.8 .- Existirá un procedimiento de condiciones de embalaje, transporte, muestras, identificación y documentación (incluido resultados complementarios) adjunta de los tejidos a recepcionar.

C.9 .- Existirá un procedimiento de revisión y su correspondiente registro de los tejidos a su llegada al Banco de Tejidos.

C.10 .- Existirá un procedimiento para la recepción de tejidos que no se ajusten a las condiciones habituales.

C.11 .- El procesamiento y almacenamiento deben realizarse conforme a procedimientos escritos debidamente validados. No entrarán en contacto directo entre sí tejidos de distintos donantes durante los procesos de manipulación, preservación y almacenamiento, adoptándose medidas para impedir el riesgo de contaminaciones por esta causa.

C.12 .- Se deben efectuar los estudios correspondientes (bacteriológicos, bioquímicos, anatomopatológicos, radiológicos, etc.) de fragmentos de tejidos antes y después de su manipulación, y de los líquidos utilizados para los lavados y soluciones de congelación.

C.13 .- Si se utiliza algún método de esterilización, éste debe garantizar la integridad biológica y bioquímica del injerto.

C.14 .- El tejido será conservado y almacenado utilizando técnicas actualizadas y científicamente reconocidas, bien sea en isoterмия, en fresco (2°C-8°C), congeladas (-30°C a -196°C) o liofilizadas.

C.15 .- Las neveras, congeladores y tanques de nitrógeno líquido que se usen para almacenamiento deberán tener registros de temperatura, alarmas y mecanismos de emergencia que garanticen el mantenimiento de la temperatura óptima.

C.16 .- Caducidad: dependerá del tipo de tejido y del modo de conservación utilizado y se establecerá para cada tejido la fecha de caducidad a partir de la cual no será considerado de utilidad clínica.

C.17 .- Como norma general los criterios más utilizados son:

- refrigerado entre 2-8°C: 14 días (este periodo puede variar según el tipo de tejido)
- conservados entre -20°C y -40°C: 6 meses
- conservados entre -40°C y -80°C: hasta 5 años
- conservados a temperaturas inferiores a -80°C: caducidad indefinida
- liofilizados y en vacío: caducidad indefinida

D.- ETIQUETADO.

D.1.- Antes de la distribución de un tejido se verificarán, documentalmente, la validación de la donación de acuerdo con los criterios establecidos, los registros de manipulación, conservación y almacenamiento, y el correcto estado del recipiente y del etiquetado, confirmando la integridad y la correcta identificación. Deberá incluir de forma clara:

D.1.1 .- Nombre y tipo de tejido.

D.1.2 .- Nombre y dirección del Banco de Tejidos.

D.1.3 .- Código del tejido, y número de lote en su caso.

D.1.4 .- Fecha de caducidad.

D.1.5 .- Condiciones recomendadas de almacenamiento.

D.1.6 .- Procedimiento de esterilización, en su caso.

D.1.7 .- Composición de solución conservante y en su defecto, indicar "sin solución preservadora". En el momento de la entrega se tendrá en cuenta si el tejido ha sido lavado y por tanto se ha retirado la posible solución conservante. En este caso se deberá modificar la etiqueta inicial.

D.1.8 .- Características del tejido (tamaño, volumen, peso, dimensiones, celularidad, etc.)

D.1.9 .- Controles biológicos realizados (microbiológicos...)

D.1.10 .- Radiología y anatomía patológica, si se requiere

D.1.11 .- Presencia reseñable de agentes o soluciones residuales.

D.1.12 .- Datos referentes a su descongelación y uso.

E.- DISTRIBUCIÓN, TRANSPORTE Y UTILIZACIÓN.

E.1 .- La distribución de tejidos quedará restringida a Centros Hospitalarios o a otros Bancos de Tejidos, debidamente autorizados para ello.

E.2 .- Existirá un procedimiento para la recepción de peticiones, autorización de la distribución, documentación que se adjunta y entrega del tejido para su transporte con sus correspondientes registros.

E.3 .- Existirá un procedimiento donde se especifiquen las características y condiciones del embalaje y de transporte para mantener las propiedades requeridas de los tejidos.

E.4 .- Para la distribución deben utilizarse contenedores que garanticen el mantenimiento de la cadena del frío y la integridad de los recipientes que contengan los injertos.

E.5 .- Etiquetado exterior del embalaje para transporte. Deberá contener, al menos, la siguiente información:

- Identificación del banco de tejidos de origen y persona de contacto.
- Identificación del centro sanitario de destino y persona de contacto.
- Declaración de que el envase contiene células/tejidos humanos.
- Condiciones de transporte recomendadas
- Instrucciones de seguridad, incluido un teléfono de contacto, a seguir en caso de accidente o incidente.
- Día y hora de salida del Banco de Tejidos.

F.- REACCIONES ADVERSAS.

El Banco de Tejidos dispondrá de un sistema para recoger, notificar, transmitir, gestionar, revisar y tomar medidas correctoras de las reacciones y acontecimientos adversos acaecidos por los tejidos bajo su responsabilidad.

G.- INFORMACIÓN A LOS USUARIOS.

G.1.- Todos los tejidos deben ir acompañados de instrucciones referentes a su almacenamiento y uso, así como de las posibles manipulaciones especiales en el caso de que se requieran.

G.2.- Si se han descongelado, deben ser utilizados dentro de las 24 horas siguientes a su descongelación y mantenidos a 4°C durante este periodo.

G.3.- Deben constar referencias sobre:

G.3.1.- La responsabilidad del Centro Sanitario receptor respecto a la conservación de los registros necesarios que permitan garantizar la trazabilidad del tejido

G.3.2.- Condiciones de almacenamiento hasta su utilización.

G.3.3.- Modo de reconstitución, si procede.

G.3.4.- Presencia de sustancias que puedan ser mal toleradas .

G.3.5.- Que el tejido debe utilizarse en el paciente indicado.

G.3.6.- Indicaciones y contraindicaciones para su uso.

H.- IMPLANTACIÓN DE TEJIDOS HUMANOS

H.1 .- Sólo se podrá efectuar en centros autorizados por los organismos institucionales con competencias en la materia.

H.2 .- Se requiere consentimiento previo y escrito del receptor o sus representantes legales. Este documento incluirá:

- Nombre del centro sanitario.
- Fecha de autorización.
- Nombre del receptor.
- Firma del médico que realizará el implante.
- Firma del médico que informó.
- Firma del receptor o sus representantes.

H.3 .- En la historia clínica del paciente se archivará el consentimiento informado y los datos necesarios que permitan identificar el tejido humano, el banco de procedencia y el donante.

I.-REGISTROS.

I.1 .- El registro de datos será confidencial, y deberán mantenerse por tiempo indefinido todos los datos referentes a la donación, manipulación, almacenamiento y distribución. Se deberá garantizar la trazabilidad en cualquiera de las fases en que se encuentre un determinado tejido.

I.2 .- Deben contener la información de todos los tejidos extraídos, tanto en lo referente al donante como al receptor. Esta información debe incluir:

I.2.1.- Datos del donante:

I.2.1.1.- Identidad, sexo y edad.

I.2.1.2.- Historia clínica.

I.2.1.3.- Causa del fallecimiento.

I.2.1.4.- Grupo sanguíneo ABO y HLA (si se requiere).

I.2.1.5.- Protocolo de extracción y antibióticos empleados.

I.2.1.6.- Resultados analíticos.

I.2.1.7.- Procedencia y responsable de la extracción.

I.2.1.8.- En los donantes vivos deberá constar el consentimiento informado.

I.2.2.- Datos del receptor:

I.2.2.1.- Identidad, sexo y edad.

I.2.2.2.- Centro implantador.

I.2.3.- Datos del tejido:

I.2.3.1.- Identificación del tejido y fecha de su utilización.

I.2.3.2.- Reacciones adversas al mismo.

I.2.3.3.- Consentimiento informado

I.2.3.4.- Tipo de tejido, tamaño, peso, longitud, superficie, etc.

I.2.3.5.- Tipo de procesamiento y temperatura de almacenamiento.

I.2.3.6.- Controles biológicos realizados: microbiológicos, pruebas funcionales, etc.

I.2.3.7.- Tiempo de almacenamiento, datos referentes a su descongelación y uso.

I.2.3.8.- Radiología y anatomía patológica si se requiere.

I.3 .- Todos estos registros se mantendrán indefinidamente para poder identificar el centro extractor, donante, tejido, receptor y centro implantador.