

SKELETISÜSTEEMI KUDEDE HANKIMISE JA KÄITLEMISE JUHEND

Sisukord

1. Sissejuhatus.....	2
2. Mõisted:	2
3. Skeletisüsteemi kudede doonori valik	3
4. Nõuded personalile	4
5. Doonorkoe hankimine	4
6. Doonorkoe pakendamine ja märgistamine hankimisel ja pärast töötlemist	5
7. Doonorkoe töötlemine	5
8. Tingimused doonorkoe töötlemisel enne lõplikku pakendamist	6
9. Doonorkoe dekontaminatsioon ja steriliseerimine	7
10. Doonorkoe mikrobioloogiline testimine	7
11. Doonorkoe märgistamine	8
12. Doonorkoe säilitamine	8
13. Doonorkoe hävitamine.....	9
14. Doonorkoe transport.....	10
15. Skeletisüsteemi kudede käitlemise ruumide puhtusnõuded.....	10
16. Skeletisüsteemi kudede töötlemiskeskonna õhu osakeste arv	11
17. Skeletisüsteemi kudede töötlemiskeskonna mikrobioloogiline puhtus	12
18. Skeletisüsteemi kudede töötlemisruumis kantav riietus.....	13
19. Skeletisüsteemi kudede töötlemise puhasruumide hooldus.....	13
20. Skeletisüsteemi kudede hankimise ja käitlemise kvaliteedisüsteem	14

1. Sissejuhatus

Käesoleva juhendi eesmärgiks on kirjeldada mõningaid skeletisüsteemi kudede doonori valimise ning kudede hankimise ja käitlemise nõudeid mõnevõrra täpsemalt kui seadustes ning aidata skeletisüsteemi kudede hankijat ja käitlejat kvaliteedisüsteemi täiustamisel. Juhend põhineb Eesti seadusel ja EDQM (European Directorate for the Quality of the Medicines) juhendil „Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application“ (viimane väljaanne).

Skeletisüsteemi kudede hankimisel ja käitlemisel on hankijal ja käitlejal kohustus järgida järgmiste kehtivate õigusaktide nõudeid ja juhiseid ning neis sätestatud käesolevas juhises valdavalt välja ei tooda:

- [„Rakkude, kudede ja elundite hankimise, käitlemise ja siirdamise seadus“](#) (RKESS)
- [„Rakkude, kudede ja elundite hankimise ja käitlemise eeskiri“](#) (Tervise- ja tööministri määrus nr 10)
- [„Raku-, koe- ja elundidoonori valimise kriteeriumid, rakkude, kudede või elundi annetamist välistavate asjaolude loetelu, doonorile ettenähtud kohustuslike laboratoorsete uuringute loetelu ning uuringute tegemise tingimused ja kord“](#) (Tervise- ja tööministri määrus nr 12)

2. Mõisted:

- 1) Valideerimine** – koordineeritud tegevus, mis tõestab, et protseduur, protsess, seade, materjal, tegevus või süsteem annab eesmärgi, mida ka tegelikult soovitakse saada. Nt transporditingimuste valideerimine tähendab seda, et kindlaks on tehtud transpordil lubatava kõrvalekalde ulatus – nt kui kaua säilib lämmastikunõus vajalik temperatuur, kui transport kestab ettenähtust kauem või ettenähtust erineval temperatuuril. Nt mikrobioloogilise puhtuse testimise meetodi valideerimine tähendab tõendamist, et meetod võimaldab koematerjalil oleva saastuse tuvastamist ja seda järjepidevalt. Valideerimine tähendab ka tõendamist, et tegevus on samaväärne või parem kui varem kasutatu.
- 2) Kvalifitseerimise** tähendus on valideerimisele analoogne, kuid seda kasutatakse kitsamalt seadmete kontekstis.
- 3) Koeühik** – eraldi pakendatud koetükk (nt kui ühe reieluupea töötlemise tulemuseks on seitse konteinerit luupuru, tähendab see seitset koeühikut).
- 4) Siirik** e transplantaat – siirdatav kude.

3. Skeletisüsteemi kudede doonori valik

- 1) Info skeletisüsteemi kudede doonori valiku, doonorile ettenähtud kohustuslike uuringute ning elusdoonori nõusoleku, õiguste ja kohustuste kohta on toodud RKESS 3. peatükis ning määruses „Raku-, koe- ja elundidoonori valimise kriteeriumid, rakkude, kudede või elundi annetamist välistavate asjaolude loetelu, doonorile ettenähtud kohustuslike laboratoorsete uuringute loetelu ning uuringute tegemise tingimused ja kord“.
- 2) Skeletikudede doonoriteks võivad olla elus- või surnud doonorid. Elusdoonorite valimisega tegeleb doonorite valimise eest vastutav arst. Surnud doonorite valimise ja doonoritele tehtavate kohustuslike nakkusmarkerite analüüside eest vastutab Tartu Ülikooli Kliinikumi transplantatsioonikeskus.
- 3) Doonori nõusolek tuleb allkirjastada enne koe hankimist ning doonorile ettenähtud laboratoorsete uuringute tegemist.¹ Nõusoleku võtmine pärast operatsiooni on aktsepteeritav erakorraliste operatsioonide korral ja olukorras, kus patsient (ehk potentsiaalne doonor) on arusaadavalt stressis, kuid selline tegevusviis ei tohi saada tavapraktikaks.
- 4) Skeletisüsteemi kudede doonoritele rakenduvad spetsiifilised täiendavad välistamiskriteeriumid:
 - a) Difuusne sidekoehaigus
 - b) Metaboolne luuhaigus (väljendunud osteoporoos, osteopetroos, Paget'i tõbi jne)
 - c) Süsteemne pikaajaline kortikosteroidravi
 - d) Tsüaniidi või raskemetallide mürgistus
 - e) Lokaalne bakteriaalne, viirus- või seeninfektsioon
 - f) Kiiritusravi planeeritavas doonorpiirkonnas
 - g) Doonorpiirkonna trauma (murd, deformatsioon, nahakahjustus jne)
 - h) Alkoholism, alatoitumus
 - i) Iatrogenne, degeneratiivne või muud tüüpi koekahjustus, mis on tekkinud või avastatud koetransplantaadi hankimise käigus.
- 5) Skeletisüsteemi kudede doonori vanusepiirangud erinevate koetüüpide puhul on erinevad. Miinimumvanus doonorile on 6 aastat. Vanuselised ülempiirid:
 - a) Luukude:
 - i) luupuru – vanuselist ülempiiri ei ole
 - ii) pikad toruluud ja luude osad, mida kasutatakse toestamisel – kuni 55 aastat
 - b) Osteoartikulaarsed siirikud, kõhr ja meniskid – kuni 45 aastat
 - c) Kõõlused, sidemed ja *fascia lata* – kuni 65 aastat
- 6) Konkreetsel juhtumil võib pädeva isiku tehtud dokumenteeritud riskianalüüsi alusel doonori valiku kriteeriumidest kõrvale kalduda.

¹ EDQM Guide to the Quality and Safety of Tissues and Cells, peatükk 3.2.2.

4. Nõuded personalile

Et tagada hangitavate ja käideldavate kudede kvaliteet, peab hankijal ja käitlejal olema piisaval hulgal vajaliku ettevalmistuse ja pädevusega töötajaid. Nõuded skeletisüsteemi kudede hankija ja käitleja personalile on toodud „Rakkude, kudede ja elundite käitlemise eeskirja“ 2. jaos.

5. Doonorkoe hankimine

- 1) On soovituslik, et skeletisüsteemi kudede hankimise protseduuril surnud doonorilt oleks kaasatud kaks kuni maksimaalselt kolm inimest, et vähendada hankimise etapis kontaminatsiooni tõenäosust.
- 2) Doonorkoe eemaldab doonormaterjali hankimise eest vastutav ortopeed või tema poolt volitatud ning vastava koolituse saanud arst.
- 3) Hankimine peab toimuma operatsioonitoa tingimustes ja sobivate kaitsevahenditega (steriilne kaitseriietus, kindad, näomask, kaitseprillid). Samuti on oluline, et kudede hankimise iga etapi eest vastutaja (doonori ettevalmistamine, hankimine, mikrobioloogia proovi võtmine, koe pakendamine jne) ja tegevuste järjekord on eelnevalt kokku lepitud ning tööjuhendites kinnitatud.
- 4) Vältimaks mikrobioloogilist saastust koe hankimise etapis on soovituslik, et
 - a. personal liigub doonori ümber võimalikult vähe ning kudede samaaegsel hankimisel doonori erinevatest piirkondadest hangitakse kõik ühikud eraldi, kasutades uusi instrumentide komplekte ja ettevalmistatud tööala;
 - b. kudede pakendamise jaoks on ette nähtud omaette ala, mis on eraldi kudede eemaldamise alast ning kaetakse eraldi igale transplantaadile;
 - c. pärast kudede eemaldamist ühest piirkonnast vahetatakse kindaid, kitleid ja kirurgilisi instrumente ning jätkatakse uues piirkonnas.
- 5) Pärast iga koetüki eemaldamist võetakse sellelt mikrobioloogiline proov ja kõik materjali ühikud pakendatakse eraldi pakenditesse. Proovivõtmise meetodika peab olema kirjeldatud tööjuhendites; tuleb põhjendada, miks valiti just see meetod ning meetod peab olema valideeritud ja muutuste korral revalideeritud.
- 6) Soovitatav on kehtestada skeletisüsteemi kudede eemaldamise juhend, mis sätestab ka erinevate kudede hankimise järjekorra. Mitme koeühiku hankimisel liigutakse nn puhtamatelt piirkondadelt (jäsemed) potentsiaalselt saastunumate suunas (kõhuõõs).
- 7) Kõik hankimis- ja käitlemistoiimingud peavad olema dokumenteeritud. Hankimistegevusteks on doonori valimine, koe eemaldamine ning hangitud koe

kodeerimine, pakendamine, märgistamine ning väljastamine käitlejale või siirdajale². Käitlemistoiiminguteks on koe kirjeldamine, kodeerimine, märgistamine, uurimine, säilitamine ja töötlemine ning käideldud koe pakendamine, märgistamine, ladustamine, vabastamine ja väljastamine siirdajale.

6. Doonorkoe pakendamine ja märgistamine hankimisel ja pärast töötlemist

- 1) Doonorkoe pakendamine pärast hankimist peab vastama hankija kehtestatud nõuetele.
- 2) Mitme doonorkoe tüki hankimise korral pakendatakse transplantaadid ühekaupa.
- 3) Pärast töötlemist pakendatakse doonorkude vähemalt kahekordsesse spetsiaalsesse steriilsesse pakendisse. Pakendid peavad olema vastavate säilitustingimuste jaoks valideeritud ja selle eesmärgiks on vältida pakendi võimalikust purunemisest tulenevat kudede saastumist. Tootja poolt valideeritud pakendeid eraldi valideerima ei pea.
- 4) Erinevatelt doonoritelt pärinevate kudede pakendamine ühte pakendisse pole lubatud, kuna sellisel juhul kaob doonorkoe jälgitavus.
- 5) Pakendid peavad olema märgistatud vastavalt doonorite ja doonorkoe kodeerimise juhendile, märgistus peab olema selge, loetav ja säilitus- ning ladustamistingimustes kustumatu.

7. Doonorkoe töötlemine

- 1) Nii elus- kui ka surnud doonori koematerjalilt tuleb mikrobioloogiline proov võtta esmalt vahetult pärast eemaldamist ning teist korda pärast töötlemist, kui kude läheb lõplikult pakendamisse. Selline mikrobioloogiline testimisviis võimaldab saada ülevaate nii hankimise kui ka töötlemise mikrobioloogilisest puhtusest.
- 2) Skeletisüsteemi kudede töötlemine tähendab pehmekoe eemaldamist ning koe kujundamist (freesimine, saagimine, purustamine jne), kasutades erinevaid luukoe töötlemise instrumente. Samuti võib vaja minna meetodeid luusisese vere, luuüdi ja rasva eemaldamiseks (füüsilised ja keemilised vahendid nagu nt alkohol, survepesu jne).
- 3) Skeletikoe töötlemisel on kasutusel ka luu demineralisatsioon luu kaltsiumisisalduse vähendamiseks, et suurendada skeletikoe siiriku osteoinduktiivseid omadusi.

²Vastavalt RKESSis esitatud definitsioonile võib hankimise protsess hõlmata ka väljastamist siirdajale, kuid see võimalus on äärmiselt erakorralisteks olukordadeks ega ole tavapärane praktika.

- 4) Samuti võib kasutada lüofiliseerimist – s.o koe veetustamist sublimatsiooni teel. Seejuures väheneb kudede mehaaniline tugevus.
- 5) Iga töötlemise protsess peab olema valideeritud siiriku tüübi põhiselt.

8. Tingimused doonorkoe töötlemisel enne lõplikku pakendamist

- 1) Iga eemaldatud doonorkoe tüki töötlemine toimub eraldi.
- 2) Iga doonorkoetüki töötlemiseks valmistatakse ette uute steriilsete materjalidega kaetud pind ning töötledjad kasutavad uusi steriilseid kindaid ja steriilseid instrumente ning uut steriilset kaitseriietust.
- 3) Nii hangitud doonorkude kui ka töödeldud kude pakitakse säilitamiseks vähemalt kahekordsesse steriilsesse valideeritud pakendisse. Sügavkülmas säilitamiseks kasutatavad pakendid peavad olema sügavkülma tingimuste jaoks valideeritud.
- 4) Juhul kui koe töötlemine toimub vähem kui 12 tundi pärast hankimist, võib kude enne töötlust hoida +2...+8 °C juures. Kui kude hoitakse enne töötlust dekontamineerivas lahuses, mille kasutamine on valideeritud, võib koe hoiustamise aega +2...+8 °C juures pikendada. Hoiustamise aeg peab olema valideeritud.
- 5) Kui doonormaterjali ei ole võimalik töödelda ettenähtud aja jooksul, tuleb doonorkudesid säilitada kontrollitud temperatuuril ≤ -15 °C. Kudede hoiustamise aeg sellel temperatuuril tuleb valideerida.
- 6) Sügavkülmutatud transplantaatide töötlemine peab toimuma tingimustes, kus on välistatud koematerjali täielik üles sulamine.
- 7) Juhul kui doonorkoe töötlemise käigus kude täielikult sulab või enne töötlemist temperatuuril ≤ -15 °C säilitatud doonorkude ei õnnestu mingil põhjusel valideeritud ajavahemikul töödelda, tuleb doonorkude hävitada ja toiming dokumenteerida.
- 8) Kuni analüüside lõplike vastuste saabumiseni tuleb pakendatud, kuid vabastamata doonorkude ladustada vabastatud koeühikutest eraldi vastavalt tähistatud alal.
- 9) Kui vabastatud koeühiku pakend avatakse eesmärgiga seda uuesti töödelda, tuleb enne koeühiku lõplikku pakendamist võtta materjalilt uued mikrobioloogilised analüüsid.

9. Doonorkoe dekontaminatsioon ja steriliseerimine

Dekontaminatsioon tähendab doonorkoe töötlemist, mille tulemusena väheneb doonorkoel nakkuslike patogeenide esinemise tõenäosus $1000 \times$ (kolm suurusjärku).

Steriliseerimine tähendab doonorkoe töötlemise puhul nakkuslike patogeenide (bakterid, seened, parasiidid, viirused) ja nende spooride hävitamist või inaktiveerimist, nii et tõenäosus doonorkoe saastatusele on teoreetiliselt $1/10^6$.

Rohkem levinud dekontaminatsioonimeetodid on **keemiline** (peratsetaat, jodofoorid, etanool), **antibiootiline** (nt Paolin, A et al 2017) ja **mehaaniline** (ultrahelitöötlus). Keemilise dekontamineerimise puhul peab info selle kohta olema kirjas siirikuga kaasas olevas dokumentatsioonis, kuna on võimalik, et siirikusse on jäänud dekontaminandi jääke.

Üheks võimalikuks steriliseerimismeetodiks on **kiiritamine**, mille soovituslik doos sõltub erinevatest teguritest. Samas tuleb arvestada, et kõrged kiiritusdoosid vähendavad skeletikoe biomehaanilisi omadusi ja kahjustavad luukoe valke. Dooside suuruste määramisel tuleb arvestada ka koe teoreetilist algset saastatust.

- 1) Steriliseerimine/dekontamineerimine ei ole nõutav, kui mikrobioloogiliste proovide vastused on negatiivsed ja töötlemine on toimunud kontrollitud tingimustes.
- 2) Vastavalt käitleja riskihindamisele tuleb mikrobioloogilise kontrolli positiivse vastuse korral kude hävitada või steriliseerida.
- 3) Kõik kasutatavad dekontaminatsiooni- ja steriliseerimismeetodid peavad olema käitleja poolt valideeritud nii efektiivsuse kui ka kudede biomehaaniliste omaduste säilitamise osas.

10. Doonorkoe mikrobioloogiline testimine

- 1) Igalt doonorkoe tükilt tuleb koguda mikrobioloogilised proovid kahel korral:
 - a) Hankimise ajal/vahetult pärast eemaldamist, et hinnata karantiini jõudva doonorkoe ja selle hankimisprotseduuri kvaliteeti ja otsustada edasise käitlemise (sh dekontaminatsioon, sterilisatsioon) vajadus;
 - b) Vahetult enne doonorkoe lõplikku pakendamist (proov igalt eraldi pakendatavalt koetükilt ehk koeühikult), et hinnata töötlemisprotseduuri ja kinnitada siirikute mikrobioloogilist puhtust.
- 2) Sobivaima mooduse doonorkoe mikrobioloogilise puhtuse testimiseks peab käitleja valima lähtudes hankimismoodusest ja doonorkoe eripärast. Võetav mikrobioloogia proov peaks andma doonorkoe mikroobse saastuse seisundist võimalikult adekvaatse pildi. Võimalikud meetodid proovide kogumiseks on nt:

- a) Proov doonorkoe pinnalt steriilse vatipulgaga, millega tuleb üle käia kogu koetüki pind
 - b) Biopsia koetüki äärest või fraktsioon jahvatatud luupurust
 - c) Proov doonorkoe viimasest pesulahusest
- 3) Valitud meetod/meetodid peavad olema valideeritud. Kombineerida võib ka erinevaid proovi võtmise mooduseid, kuna ükski meetod ei anna koetüki mikroobsest saastusest 100%-list ülevaadet.
 - 4) Doonorkoe väljastamiseks peab mikrobioloogilise kontrolli tulemus olema pärast doonorkoe lõplikku töötlust negatiivne. Positiivse tulemuse puhul tuleb kude hävitada või vastavalt võimalustele ja riskihindamisele steriliseerida.
 - 5) Sõltuvalt saastuse põhjustanud mikroorganismist tuleb samalt doonorilt hangitud teiste skeletisüsteemi kudede osas läbi viia riskihindamine.
 - 6) Juhul kui doonorkoe lõplik pakendamine toimub kohe hankimisel, nii et kude enne pakendamist ei töödelda, võib piirduda hangitud koelt ühe mikrobioloogia proovi võtmisega.

11. Doonorkoe märgistamine

Nii hangitud ja esmaselt pakendatud kui ka pärast töötlemist lõplikult pakendatud skeletisüsteemi kude peab olema märgistatud nii, et tagatud on koe identifitseerimine ja jälgitavus. Kude sisaldava lõpliku pakendi märgisele kantav informatsioon on loetletud „Rakkude, kudede ja elundite hankimise ja käitlemise eeskirja“ lisa 2. Märgis peab olema selge, loetav ja säilitus- ja ladustamistingimustes kustumatu.

12. Doonorkoe säilitamine ja ladustamine

- 1) Skeletisüsteemi kudede säilitamiseks on erinevaid võimalusi, konkreetse meetodi määrab doonorkoe spetsiifika:
 - a. Sügavkülmutamine $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ või madalamal temperatuuril.
 - b. Krüopreservatsioon $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$... $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures (võimaldab täiendavate krüoprotektantide kasutamise abil mõningatel rakkudel ellu jääda).
 - c. Lüofiliseeritud kude võib säilitada toatemperatuuril.
 - d. Värskest säilitamine – juhul kui on vaja säilitada rakkude eluvõimelisus. Säilitustemperatuur peab olema vahemikus $+2\text{...}+8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Värskest säilitamise korral peab arvestama asjaoluga, et mikrobioloogilise analüüsi vastuste saabumine võtab aega ja võib edasi lükata koe vabastamise.

- 2) Enne töötlemist võib doonorkude ajutiselt säilitada monitooritud temperatuuril +2...+8 °C kuni 12 h. Kui kude hoitakse enne töötlust dekontamineerivas lahuses, mille kasutamine on valideeritud, võib koe hoiustamise aega +2...+8 °C juures pikendada. Hoiustamise aeg peab olema valideeritud.
- 3) Juhul kui doonorkoe töötlemist ei ole võimalik selle aja jooksul teha, tuleb doonorkudesid säilitada külmikus monitooritud temperatuuril ≤ -15 °C. Kudede hoidmise aeg sellel temperatuuril tuleb valideerida.
- 4) Töödeldud ja pakendatud, kuid vabastamata külmutatud doonorkude ladustatakse -80 °C või madalamal temperatuuril. Maksimaalne säilitamise aeg tuleb valideerida. Kui kõikide analüüside vastused on kontrollitud ning siirik vastab kehtestatud nõuetele, võib pakendatud transplantaadi ümber paigutada pikaajaliseks ladustamiseks mõeldud külmikusse (monitooritud, vastavalt märgistatud). Seejuures ei tohi siirikut vahepeal üles sulatada ning selle pakend ei tohi puruneda.
- 5) Skeletisüsteemi kudede säilivusaeg sõltub pakendamisest ning säilitusmeetodist ning need (k.a muudatused säilitamise ja ladustamise tingimustes) tuleb valideerida.
- 6) Koe ümberpakendamine võib toimuda ainult töötlemisruumides. Selle käigus tuleb võtta siirikult uus mikrobioloogiline külv ja kasutada uusi steriilseid pakendeid.
- 7) Ümberpakkimise või ümbertöötlemise käigus ei pikene siiriku algselt määratud säilivustähtaeg.
- 8) Siirdamiseks väljastatud koeühikut uuesti pakendada ei tohi.
- 9) Ladustatava doonorkoe liigutamine võib toimuda ainult kõrgemalt temperatuurilt madalamale. Kui mingil põhjusel on sügavkülmutatud doonorkude viidud kõrgemale temperatuurile, siis võib doonorkoe käitleja poolt valideeritud aja jooksul siirdada. Vastasel juhul tuleb see hävitada, kuid uuesti tagasi madalamale temperatuurile viia ei tohi.

13. Doonorkoe hävitamine

Skeletisüsteemi kudede käitlejal peab olema dokumenteerimise süsteem kasutamiseks kõlbmatu doonorkoe hävitamiseks. Selles peab kajastuma kasutamiseks kõlbmatu doonorkoe hävitamise põhjus, kuupäev ja moodus. Samuti peab kõlbmatu doonorkoe hävitamise süsteem vastama nakkusohtliku materjali kahjutustamise nõuetele ning riiklikele ja asutusesisestele nõuetele.

14. Doonorkoe transport

- 1) Skeletisüsteemi koe siirikute transpordil peavad koe säilitustingimused väljastamisest kuni siirdajani jõudmiseni olema ettenähtud piirides. Seega sõltuvad transporditingimused säilitusviisist. Transpordiks vajalikud säilitustingimused ning maksimaalne transpordiaeg peavad olema valideeritud.
- 2) ≤ -80 °C hoiustatud kudesid tuleb transportida kuival jääl. Sama maja piires vahetult enne siirdamist toimuva kudede transpordi puhul ei ole kuival jääl transportimine vajalik.
- 3) Temperatuuril -140 °C... -196 °C hoiustatud kudede transport peab toimuma vedelas lämmastikus või selle aurudes.
- 4) Kui siirikut on transporditud kuival jääl, ei tohi seda pärast transporti vedela lämmastiku või selle auru keskkonda paigutada. Seda võib teha vaid siis, kui eelnevalt on selline tegevus valideeritud.
- 5) Üles sulanud siirikuid ei tohi uuesti külmutada.
- 6) Kudede transpordil tuleb tagada pakendi terviklikkus.
- 7) Doonorkude antakse siirdajatele üle koos vastava sertifikaadiga. Juba siirdamiseks väljastatud doonorkude enam käitleja juurde ladustamiseks tagasi ei võeta, v. a juhul kui käitleja dokumenteeritud riskihindamise põhjal on tagatud materjali ohutus.

15. Skeletisüsteemi kudede käitlemise ruumide puhtusnõuded

Skeletisüsteemi kudede hankimise ja käitlemise ruumid peavad olema tähistatud ning neisse võib olla ligipääs vaid selleks kirjalikult volitatud isikutel. Ruumid peavad võimaldama erinevas töötlemisjärgus (töötlemata, töötlemiseks vabastatud, uurimisele suunatud, siirdamiseks vabastatud, tagasi kutsutud või hävitamisele suunatud) doonorkoe korrektse (eraldatud) hoiustamise, mis välistab nende segiajamise ja ristsaastumise. Skeletisüsteemi kudede käitlemise ruumides tuleb tagada regulaarne temperatuuri ja õhuniiskuse monitoorimine ning ruumide koristamine.

16. Skeletisüsteemi kudede töötlemiskeskonna õhu osakeste arv

Õhus lenduvate osakeste hulga ja mikrobioloogilise puhtuse järgi jagatakse puhasruumid vastavalt Euroopa Majanduspiirkonnas kehtestatud heale tootmistavale klassidesse A kuni D (tabel 1, tabel 2).

- 1) Kui puudub võimalus siiriku terminaalseks steriliseerimiseks, peab kudede töötlus toimuma tingimustes, kus õhu puhtus vastab Euroopa Majanduspiirkonnas kehtestatud hea tootmistava (GMP) A-klassi nõuetele. A-klassi nõuded näevad muuhulgas ette ka tööolekus puhasruumi õhu osakeste hulga pideva monitoorimise. Taustkeskkonna õhu puhtus peab olema skeletisüsteemi kudede jaoks sobiv ja vastama GMP D-klassi nõuetele. Sellised tingimused tagavad kudede käitlemiseks aseptilise keskkonna.
- 2) Kuna skeletisüsteemi kudede töötlemine võib sisaldada etappe, mille käigus paiskub õhku rohkem osakesi, kui on puhtusklasside järgi lubatud (nt saagimine), tuleb selle asjaoluga arvestada töötlemisruumide õhu puhtuse kriitiliste parameetrite kindlaks määramisel ning töötlemisruumi õhu puhtuse klassifitseerimisel. Juhul kui tehniliselt pole võimalik kudede töötlemist GMP A-klassi nõuetele vastavas keskkonnas läbi viia, võib töötlemine toimuda vastavalt käitleja riskihindamisele tingimustes, kus õhu ja keskkonna puhtuse kontrollimine lähtub samasugustest põhimõtetest nagu puhasruumide puhul.
- 3) A–D klassi puhasruumi kvalifitseerimine (osakeste hulga määramine, õhuvoolu kiirus, rõhkude vahe) peab toimuma vastavalt käitleja riskihindamiskavale, kuid mitte harvem kui kord aastas. Õhu puhtuse mõõtmise kavandamisel võib juhinduda ka ISO 14644 standardist (sobiva arvu mõõtmispunktide ja analüüsitava õhu hulga määramine, õhus olevate osakeste määramine), kuid tuleb tähelepanu pöörata, et jälgitavad parameetrid ja tulemused oleks vastavad ka EU GMP nõuetele.

Tabel 1. Õhu osakeste maksimaalne arv EU GMP puhtusklasside järgi

	Õhu osakeste arv			
	puhkeolekus		tööolekus	
	≥ 0,5 µm	≥ 5 µm	≥ 0,5 µm	≥ 5 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352000	2900
C	352000	2900	3520000	29000
D	3520000	29000	määramata	määramata

17. Skeletisüsteemi kudede töötlemiskeskonna mikrobioloogiline puhtus

Töötlemisruumide õhu mikrobioloogilise puhtuse monitooring peab toimuma regulaarselt ning monitooringu sagedus tuleb kindlaks määrata riskihindamise tulemusena. Õhu puhtusklasside hindamisel tuleb juhinduda Euroopa Liidu hea tootmistava lisas 1 toodud mikroobsele saastusele kehtestatud keskmistest piirväärtustest (tabel 2, veerud 2 ja 3). Kontaktpindade mikrobioloogilise puhtuse hindamine on soovituslik ning lisaks kindaproovile ja kontaktplaatidele võib proovi võtmiseks kasutada ka vatipulki.

Tabel 2. EU GMP lisa 1 poolt soovitatud keskmised piirid mikroobsele saastusele. CFU – kolooniaid moodustav ühik (ingl *colony forming unit*)

Puhtusklass	Proov õhust (CFU/m ³)	90 mm plaadid (CFU/plaat/4 h)	55 mm kontaktplaadid (CFU/plaat)	Kindaproov (CFU/kinnas)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

- 1) Töötlemisruumide, k.a A-puhtusklassiga töötlemisruumi mikrobioloogilise puhtuse monitoorimiskavas peab olema toodud info järgmiste vahendite ja protseduuride kohta:
 - a. Proovide võtmise plaan ja graafik
 - b. Proovide võtmise meetodid ja vahendid
 - c. Proovide kultiveerimise sötmed ja inkubatsioonitingimused
 - d. Analüüside tulemused ja nende interpreteerimine
 - e. Tegevuskava ettenähtust kõrvalekalduvate tulemuste korral
 - f. Vajadusel kehtestada ka mikroobse saastuse hoiatuspiirid

- 2) Käitleja peab läbi viima dokumenteeritud riskihindamise ja võib riskihindamise alusel kehtestada eespool kirjeldatutest erinevad normid avatud süsteemis toimuva kudede töötlemise keskkonna mikrobioloogilisele puhtusele, kui esineb kas või üks järgmistest asjaoludest:
 - a. kasutatakse valideeritud mikrobioloogilist inaktiveerimist või valideeritud lõplikku steriliseerimist;
 - b. tehniliselt ei ole võimalik töötlemise etappi läbi viia Euroopa Majanduspiirkonnas kehtestatud hea tootmistava (Good Manufacturing Practice) A-klassi nõuetele vastavas keskkonnas.

18. Skeletisüsteemi kudede töötlemisruumis kantav riietus

- 1) Tagamaks puhasruumide vastavust nõuetele, peab puhasruumidesse sisenemine toimuma käitleja poolt valideeritud ja kehtestatud kindlate reeglite järgi. EDQM Guide toob välja tavaolukorras puhasruumide riietusnõuded:
 - a) Puhasruumides ei kanta käekelli, ehteid, jumestust
 - b) Üleriideid ei hoita puhasruumidega külgnevates riietusruumides
 - c) Riietuse käiseotsad ja püksisääred peavad olema jäsemele liibuvad

- 2) EDQM Guide toob välja, et D puhtusklassiga ruumides peab riietus vastama järgmistele tingimustele:
 - a) Peakate (juuksed peavad kaetud olema)
 - b) mask habeme/vuntside korral
 - c) üldine kaitseriietus
 - d) puhtad jalanõud või jalatsikatted
 - e) kinnaste olemasolu sõltuvalt protsessist

- 3) C puhtusklassiga ruumides peab riietus vastama järgmistele tingimustele:
 - a) peakate (juuksed peavad kaetud olema)
 - b) mask, mis peab katma täielikult ka habeme/vuntsid
 - c) ühe- või kaheosaline pükstega kaitseriietus
 - d) puhtad jalanõud või jalatsikatted
 - e) steriilsed puudrita kindad

- 4) Juhul kui töötlemisruum on A/B puhtusklassiga, peab puhasruumi riietus vastama järgmistele nõuetele:
 - a) Steriilne kaitseriietus, mis ei levita kiude ja mis peab kinni kehalt lenduvad osakesed
 - b) Kapuuts, mis on riietuse kaelusega ühendatud ja mis katab täielikult juuksed
 - c) Steriilne ühekordne näomask, mis peab katma täielikult ka habeme/vuntsid
 - d) Steriilsed või desinfitseeritavad (autoklaavitavad) jalanõud, kuhu on võimalik panna ka püksisääred
 - e) Steriilsed puudrita kindad

19. Skeletisüsteemi kudede töötlemise puhasruumide hooldus

- 1) Puhasruumide puhastamise sagedus ja meetodid peavad olema valideeritud ja kõik puhastusprotseduurid peavad olema dokumenteeritud.
- 2) Puhastuse peab läbi viima personal, kes on saanud väljaõppe läbiviidavate protseduuride, puhasruumide keskkonna ja riietumise kohta.
- 3) Spore hävitavate puhastusvahendite kasutamine on oluline. Samas on teada, et nende toime pindadele on reeglina tugev. Seetõttu on sporisidide kasutamine

soovituslik regulaarse ajaperioodi järel ja vahelduvalt teiste sagedasemaks kasutuseks sobivamate desinfektsioonivahenditega.

- 4) A ja B puhtusklassiga ruumides kasutatavad desinfektandid ja detergendid peavad olema steriilsed.

20. Skeletisüsteemi kudede hankimise ja käitlemise kvaliteedisüsteem

- 1) Kõik kõrvalekalded kehtestatud tööprotseduuridest ning kvaliteedinõuetest tuleb registreerida.
- 2) Kõiki kõrvalekaldeid tuleb uurida ning uurimise tulemused dokumenteerida. Vajadusel tuleb rakendada parandavaid meetmeid.
- 3) Kui kõrvalekalde korral on tegemist biovalvsusjuhtumiga (raske kõrvalekalle või kõrvaltoime), teavitab hankimise eest vastutav või pädev isik sellest vastavalt kehtivatele õigusaktidele ravimiametit.
- 4) Raske kõrvaltoime või kõrvalekalde avastamisel tuleb see registreerida ning läbi viia uurimine. Raske kõrvaltoime või kõrvalekalde teavitus ja uurimise aruanne tuleb esitada ravimiametile.
- 5) Uurimine tuleb dokumenteerida ja vastavalt saadud tulemusele valida sobivad parandusmeetmed ja neid rakendada.
- 6) Iga-aastaselt tuleb täita raskete kõrvaltoimete ja kõrvalekallete aastaaruanne ning esitada see ravimiametile.