

КАЧЕСТВО ТРОМБОЦИТНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ И ЭРИТРОЦИТНОЙ ВЗВЕСИ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ АФЕРЕЗА, ПРИ СОЧЕТАННОМ ДОНОРСТВЕ

А.В. Чечеткин, С.С. Бессмельцев, Е.А. Киселева, А.Д. Касьянов, В.В. Данильченко

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Россия, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16, тел./факс (812) 274-56-50 / (812) 717-25-50, e-mail: RNIINT@mail.ru, bloodscience@mail.ru

Резюме.

Цель работы – исследование качества аферезных концентратов тромбоцитов (КТ) и эритроцитной взвеси (ЭВ), полученных при сочетанном донорстве.

Материал и методы. Объектом исследования являлись КТ и ЭВ, полученные методом сочетанного афереза у регулярных доноров с использованием аппарата для цитафереза. Комплектование и обследование доноров проводили в соответствии с требованиями нормативных документов. Тромбоцитоэритроцитаферез (ТЭАф) проводили с использованием расходного набора закрытого типа с одноигольным доступом. В качестве антикоагулянта использовался раствор АСД-А. Обработку выделенных эритроцитов проводили в автоматическом режиме с использованием консервирующего раствора для хранения эритроцитов (SAGM).

Показатели качества ТК и ЭВ исследовали в соответствии с требованиями нормативных документов. Полученные данные о качестве КТ сравнивали с показателями, полученными при сочетанном донорстве тромбоцитов и плазмы и показателями при одноконпонентном аферезе тромбоцитов. Показатели качества ЭВ сравнивали с показателями ЭВ, приготовленных из дозы донорской крови.

Образцы компонентов тестировали рекомендованными методиками с помощью лабораторного оборудования, имеющих сертификат соответствия и зарегистрированных в Государственном Реестре медицинских изделий Росздравнадзора.

Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 2016 г.

Результаты. Показатели качества КТ, полученных при сочетанном донорстве тромбоцитов и эритроцитов, соответствовали показателям КТ, заготовленных другими методами. Показатели качества ЭВ, полученной при сочетанном донорстве тромбоцитов и эритроцитов соответствовали показателям ЭВ, приготовленной из дозы крови. Оба компонента соответствовали требованиям национальных и международных стандартов.

Заключение. Показатели качества терапевтических доз КТ и ЭВ, заготовленных методом автоматического афереза при сочетанном донорстве тромбоцитов и эритроцитов, соответствовали требованиям национальных и международных стандартов.

Ключевые слова: сочетанное донорство, аферез, концентрат тромбоцитов, эритроцитная взвесь, контроль качества.

THE QUALITY OF PLATELET CONCENTRATES AND ERYTHROCYTE SUSPENSIONS OBTAINED BY APHERESIS METHOD WITH A MULTICOMPONENT DONATION

A.V. Chechetkin, S.S. Bessmeltsev, E.A. Kiseleva, A.D. Kasyanov, V.V. Danilchenko

FSBI Russian research institute of hematology and blood transfusion

St. Petersburg, Russia

Summary.

The aim of the work was to study the quality of apheresis platelet concentrates (PC) and erythrocyte suspensions (ES) obtained by multicomponent donation.

Material and methods. The object of the study was PC and ES obtained by multicomponent apheresis in regular donors. Recruitment and examination of donors was carried out in accordance with the requirements of regulatory documents. Procedure was performed using a closed-type consumable kit with single-needle access. ACD-a solution was used as an anticoagulant. Treatment of isolated erythrocytes was carried out in automatic mode using a preservative solution for storage of erythrocytes (SAGM).

Quality indicators PC and ES investigated in accordance with the requirements of regulations. The obtained PC data were compared with those obtained in multicomponent platelet and plasma donation and those obtained in single-component platelet apheresis. Indicators of quality ES were compared with those of ES, prepared using the doses donated blood.

Samples of components were tested by the recommended methods with the help of laboratory equipment having the certificate of conformity and registered in the State Register of medical devices of Roszdravnadzor.

Statistical processing of the material was carried out using the package of statistical programs Microsoft Excel 2016.

Results. The quality indicators of PC obtained by combined platelet and erythrocyte donation corresponded to the indicators of PC harvested by other methods. Quality indicators

ES, obtained with the combined donation of platelets and erythrocytes corresponded to the indicators ES made from the dose of blood. Both components met the requirements of national and international standards.

Conclusion. Quality indicators of therapeutic doses of PC and ES prepared by automatic apheresis in multicomponent platelet and erythrocyte donation met the requirements of national and international standards.

Key words: multicomponent donation, apheresis, platelet concentrate, erythrocyte suspension, quality control.

Введение

Обеспечение качества и безопасности донорской крови и ее компонентов является ключевой задачей учреждений службы крови [1]. Современное лечение онкогематологических заболеваний, пересадка стволовых клеток получают все более широкое внедрение, что обуславливает возрастающую потребность в донорских тромбоцитах и эритроцитах [2]. Соответственно, произошли существенные изменения в области заготовки донорских тромбоцитов и эритроцитосодержащих средств. Более 60% концентратов тромбоцитов в России готовится методом афереза [3, 4]. Однако проблема HLA-аллоиммунизации у гематологических пациентов – наиболее зависимых от трансфузий тромбоцитов больных, остается крайне неблагоприятным фактором, повышающим вероятность не контролируемого кровотечения. Существенное снижение HLA-аллоиммунизации при интенсивной трансфузионной терапии в гематологическом стационаре может быть достигнуто благодаря переходу при заготовке донорских КТ с метода дискретного на автоматический аферез [5].

По данным стандартов AABV (США) в единице аферезных КТ должно содержаться как минимум 3×10^{11} тромбоцитов [6, 7], требования стандартов Совета Европы и России – не менее 2×10^{11} [8].

Заготовка эритроцитов методом аппаратного афереза активно практикуется в США и Европе. В Европе у донора двух доз эритроцитов расчетный объем циркулирующей крови должен быть более > 4500 мл. Концентрация гемоглобина до донации должна быть > 140 г/л, а после донации – не менее 110 г/л. Интервал между донациями двух доз эритроцитов должен быть не менее 6 месяцев у женщин и 4 месяца – у мужчин. FDA США рекомендует интервал между донациями 2 доз эритроцитов не менее 16 недель. Минимальные уровни гемоглобина, гематокрита и массы тела донора должны быть определены в инструкции к аппарату для афереза [6].

Сочетанный автоматический аферез позволяет заготавливать от одного донора терапевтические дозы тромбоцитов, эритроцитов и плазмы, что, с точки зрения иммуногематологии, лимитирует антигенную нагрузку на организм реципиента и снижает вероятность его аллосенсибилизации к антигенам клеток крови [9].

Во время сбора, обработки и хранения клетки крови подвергаются значительным морфологическим и биохимическим изменениям. На их структуру и функциональное состояние влияет ряд факторов: особенности способа заготовки, состав раствора антикоагулянта, контакт с поверхностью гемоконтейнера для хранения, содержание лейкоцитов в компоненте, методика лейкоредукции. Метаболические и морфологические изменения эритроцитов и тромбоцитов ограничивают сроки хранения гемокомпонентов и могут снижать эффективность трансфузионной терапии [10].

В связи с этим проблема оценки качества компонентов крови, заготовленных методом сочетанного афереза, является весьма актуальной для организаций службы крови Российской Федерации [11, 12].

Цель работы – исследование качества аферезных тромбоцитных концентратов и эритроцитной взвеси (ЭВ), полученных при сочетанном донорстве.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись КТ и ЭВ, полученные методом автоматического афереза у регулярных доноров (мужчин) с использованием аппарата для цитафереза Haemonetics MCS+. Комплектование и обследование доноров проводили в соответствии с требованиями Приказа Минздрава РФ от 14.09.2001 г. № 364 [13].

Исходное содержание тромбоцитов в периферической крови у доноров было не ниже $200 \times 10^9/\text{л}$. При подборе доноров для сочетанного тромбоцитоэритроцитафереза (ТЭАф) руководствовались рекомендациями Совета Европы [7]. ТЭАф проводили с использованием расходного набора закрытого типа с одноигольным доступом. В качестве антикоагулянта использовался раствор ACD-A в соотношении 1:11. Длительность процедуры на аппарате «Haemonetics MCS+» составляла 37-71 мин., после окончания процедуры КТ подвергали лейкофильтрации с использованием фильтра LRF XL. Обработку выделенных эритроцитов проводили в автоматическом режиме с использованием консервирующего раствора для хранения эритроцитов (SAGM).

Наличие встроенного лейкоцитарного фильтра в линии тромбоцитов, давало возможность собирать тромбоциты с незначительной примесью лейкоцитов – менее 1×10^6 клеток, а интегрированный лейкоцитарный фильтр в линии эритроцитов позволял провести дополнительную фильтрацию компонента ЭВ.

Отбор образцов донорских тромбоцитов и эритроцитов осуществлялся в контейнеры-спутники в день донации. КТ помещали в перемешиватель для тромбоцитов AP-48 L и хранили при температуре от +20°C до +24°C в течение 5 суток; ЭВ помещали в холодильник для хранения крови SANYO MBR – 506D(H), (SANYO Electric Co.Ltd, Япония при температуре +2°C - +6°C на период до 42 дней.

Всего изучены показатели качества 17 образцов КТ и 17 образцов ЭВ донорской крови, полученных сочетанным аферезом у 15 доноров на аппарате Haemonetics MCS+. Показатели качества КТ и ЭВ исследовали в соответствии с требованиями нормативных документов [8].

Показатели качества КТ, заготовленных при сочетании донорстве тромбоцитов и эритроцитов, сравнивали с показателями ТК, полученных при сочетании донорстве тромбоцитов и плазмы [11], и аналогичными показателями ТК, заготовленных аферезом при однокомпонентном донорстве тромбоцитов.

Показатели качества ЭВ, полученных при сочетании донорстве тромбоцитов и эритроцитов, сравнивали с показателями ЭВ, приготовленных из дозы донорской крови.

Образцы компонентов тестировали с помощью гематологических анализаторов М 10 и М 20 Medonic M-Series (Bouble Medical AB, Швеция), КХ-21N (Sysmex, Япония) и анализатора газов крови ABL800 FLEX (Radiometer Medical ApS, Дания). Измерение уровня рН KN проводили с использованием системы STARTER 2100 (Ohaus Instruments, Китай). Величина гематокрита определялась на центрифуге Biofuge haemo (Heraeus Instruments, Германия). Определение свободного гемоглобина проводили на гемоглобинометре HemoCue Plasma/Low (HemoCue AB, Швеция) и аммиачным методом по Дервизу-Воробьеву в модификации с последующим определением оптической плотности на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Россия). Центрифугирование образцов проводили на центрифуге лабораторной многофункциональной «Эппендорф 5804» (Германия) и высокоскоростной миницентрифуге Microspin 12 (SIA Biosan, Латвия). Остаточное содержание лейкоцитов оценивали на аппарате «ADAM-rWBC» (NanoEn Tek Inc, Корея).

Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 2016 г.

Результаты и обсуждение

Показатели качества аферезных тромбоцитов и эритроцитов определены национальными и международными рекомендациями. Параметрами этих требований для тромбоцитов являются: стандартная доза, объем, рН, содержание лейкоцитов

(лейкоредукция). Так стандарты Американской ассоциации банков крови (AABB) требуют, чтобы в аферезных тромбоцитах содержалось как минимум $3,0 \times 10^{11}$ клеток в 90% забранных образцов, $pH > 6,2$, лейкоредукция $< 5 \times 10^6$, Совета Европы и России – $2,0 \times 10^{11}$ тромбоцитов, остаточное содержание лейкоцитов менее 1×10^6 в единице в 90% обследованных образцов, pH в конце срока годности не менее 6,4. Для аферезных эритроцитов гематокрит должен составлять от 0,65 до 0,75 (при использовании добавочного раствора от 0,5 до 0,7), содержание гемоглобина не менее 40 граммов в единице, остаточное содержание лейкоцитов менее 1×10^6 в единице (в 90% обследованных единиц) [6, 7, 8].

Качество и биологическая полноценность полученных компонентов могут зависеть от конфигурации и материала контейнера, типа фракционатора, модели фильтра, использования и видов добавочных растворов, сроков хранения.

В нашем исследовании показатели качества концентратов тромбоцитов и эритроцитной взвеси, заготовленных с помощью фракционатора Haemonetics MCS+ методом сочетанного донорства, соответствовали требованиям национальных и международных стандартов и показателям таких гемокомпонентов, заготовленных другими способами [7, 8]. Данные исследования представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Характеристика концентратов тромбоцитов, заготовленных на
Haemonetics MCS+ разными методами

Показатели	Сочетанное донорство тромбоцитов и эритроцитов (n=17)	Сочетанное донорство тромбоцитов и плазмы (n=30)	Однокомпонентное донорство тромбоцитов (n=25)
Объем тромбоцитного концентрата, мл	$253,6 \pm 11,0$ (193 - 304)	$255,0 \pm 6,1$ (220-280)	$241,0 \pm 6,6$ (200-300)
Количество заготовленных тромбоцитов, $\times 10^9$ / ед.	$253,6 \pm 6,3$ (270 - 370)	$316,7 \pm 6,9$ (300-370)	$311,0 \pm 4,8$ (300-360)
Остаточное содержание лейкоцитов, $\times 10^6$ / ед.	$0,31 \pm 0,07$ (0,07 – 0,74)	$0,36 \pm 0,22$ (0,06-0,98)	$0,37 \pm 0,15$ (0,07-0,65)
Уровень pH	$7,44 \pm 0,03$ (7,3 – 7,55)	$7,29 \pm 0,30$ (7,18-7,56)	$7,27 \pm 0,03$ (7,21-7,40)

Разница в количестве заготовленных клеток аппарате Haemonetics MCS+ при сочетанном и одноконпонентном донорстве обусловлена заданными параметрами и продиктована исходным содержанием клеток у донора. Все полученные КТ имели объем, соответствующий требованиям российских стандартов (не менее 40 мл на 60×10^9 тромбоцитов), и содержали надлежащее количество тромбоцитов в контейнере с аферезными КТ – не менее $2,0 \times 10^{11}$ клеток.

Применение компонентов крови, обедненных лейкоцитами, позволяет снизить частоту трансфузионно-опосредованной иммуномодуляции, аллоиммунизации к HLA антигенам класса I, развитие фебрильных посттрансфузионных негемолитических реакций, а также уменьшить риск передачи таких клинически значимых инфекционных агентов, как цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр и других [14].

Таблица 2

Характеристика эритроцитной взвеси, заготовленной на Haemonetics MCS

Показатели	Сочетанное донорство тромбоцитов и эритроцитов (n=17)	Эритроцитная взвесь из дозы крови (n=23)
Гемоглобин, г / ед	$47,2 \pm 1,1$ (42,7 – 53,5)	$55,3 \pm 0,83$ (45,9 – 65,6)
Гематокрит, л / л	$0,58 \pm 0,01$ (0,54 – 0,61)	$0,56 \pm 0,01$ (0,47 – 0,61)
Остаточное содержание лейкоцитов, $\times 10^6$ / ед	$0,26 \pm 0,06$ (0,09 – 0,59)	$0,28 \pm 0,02$ (0,05 – 0,60)
Гемолиз, % в конце срока годности	$0,22 \pm 0,07$ (0,05 – 0,70)	$0,34 \pm 0,04$ * (0,12 – 0,70)

*- $p < 0,05$

Значения критериев качества в ЭВ, заготовленной методом сочетанного донорства и из дозы крови значимо не отличались за исключением гемолиза в конце срока годности ($p < 0,05$).

При клиническом использовании аферезных КТ и ЭВ, полученных методом сочетанного донорства, не было отмечено посттрансфузионных осложнений и реакций.

Заключение

Показатели качества терапевтических доз концентрата тромбоцитов и эритроцитной взвеси, заготовленных у одного донора методом сочетанного афереза с помощью аппарата Haemonetics MCS+ соответствовали требованиям национальных и международных стандартов.

Качество трансфузионных средств является первостепенным в обеспечении эффективности трансфузий и профилактике большинства тяжелых посттрансфузионных

реакций. Значимые факторы качества концентрата тромбоцитов и эритроцитной взвеси, полученных методом афереза у одного донора: организация сочетанного донорства тромбоцитов и эритроцитов, методика заготовки гемокомпонентов на фракционаторе крови, адекватные условия транспортировки и хранения гемокомпонентов.

Состояние организма донора вносит значительный вклад в качество гемокомпонентов, соответственно необходимо расширять исследования влияния сочетанного донорства тромбоцитов и эритроцитов на здоровье донора и показатели качества заготовленных гемокомпонентов.

Список литературы

1. Уйба В.В., Эйхлер О.В., Чечеткин А.В., Данильченко В.В. Развитие безвозмездного добровольного донорства крови и ее компонентов в Российской Федерации. Мед. экстремальных ситуаций. 2017; 1: 8-13.
2. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В., Троицкая В.В., Гаврилина О.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых лимфобластных лейкозов взрослых (редакция 2018 г.). Гематология и трансфузиология. 2018; 1-S2 (63): 5-52.
3. Chechetkin A., Danilchenko V. Collection of blood components by apheresis in the Russian Federation. Vox Sang.; 2017; 112 (1): 117-118.
4. Данильченко В.В., Чечеткин А.В., Григорьян М.Ш. и соавт. Динамика обеспечения эритроцитосодержащими компонентами крови, свежезамороженной плазмой и тромбоцитными концентратами лечебных организаций Российской Федерации в 2017-2018 годах. Трансфузиология. 2019; 2 (20). Приложение 1. – С. 19-20.
5. Бутина Е.В., Шерстнев Ф.С., Максимов О.Д., Зайцева Г.Ф., Попонина Е.А., Йовдий А.В., Парамонов И.В. Технические и организационные аспекты профилактики HLA-аллоиммунизации и рефрактерности к трансфузиям тромбоцитов у гематологических больных. Трансфузиология. 2018; 4: 59-65.
6. American Association of Blood Banks. Technical manual. Bethesda, MD: AABB Publications; 2002.
7. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation N.R(95)15, 16th edition. Council of Europe, 2010.
8. Правила заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов. Утверждены постановлением Правительства Российской Федерации № 797 от 22 июня 2019 г. – Режим доступа:

http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_328029/ (Дата обращения: 12 июля 2019 г.).

9. Минеева Н.В., Гавровская С.В., Кробинец И.И. и соавт. Частота выявления антиэритроцитарных, антилейкоцитарных, антитромбоцитарных аллоантител у больных гематологическими заболеваниями. Онкогематология; 2013; 3: 60-68.

10. Circular of Information for the use of human blood and blood components. USA: AABB, ABC, ARC. 2009: 40.

11. Чечеткин А.В., Киселева Е.А., Касьянов А.Д., Данильченко В.В. Оценка качества тромбоцитных концентратов и плазмы, полученных методом афереза, при сочетанном донорстве. Medline.ru. 2017; 18 : 272-289.

12. Касьянов А.Д., Чечеткин А.В., Голованова И.С. и соавт. Анализ соответствия гематологических методов исследования при контроле качества эритроцитосодержащих компонентов крови // Трансфузиология. 2019; 2 (20). Приложение 1.– С. 37-38.

13. Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов. Приказ МЗ РФ от 14.09.2001 № 364. – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_33916/ (Дата обращения: 19 июля 2019 г.).

14. Ju W., Ricci M., Shariatmadar S. et al. Microparticles in stored red blood cells as potential mediators of transfusion complications. Transfusion. 2011; 51: 886–893.

References

1. Uyba VV, Eichler OV, Chechetkin AV, Danilchenko VV Development of gratuitous voluntary blood donation and its components in the Russian Federation. Honey. extreme situations. 2017; 1: 8-13 (in Russian).

2. Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Afanasyev B.V., Troitskaya V.V., Gavrulina O.A. et al. Clinical recommendations for the diagnosis and treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults (2018 edition). Hematology and transfusiology. 2018; 1-S2 (63): 5-52 (in Russian).

3. Chechetkin A., Danilchenko V. Collection of blood components by apheresis in the Russian Federation. Vox Sang.; 2017; 112 (1): 117-118.

4. Danilchenko V.V., Chechetkin A.V., Grigoryan M.Sh. et al. The dynamics of providing red blood cells, freshly frozen plasma and platelet concentrates from medical organizations of the Russian Federation in 2017-2018. Transfusiology. 2019; 2 (20); Suppl. 1.: 19-20 (in Russian).

5. Butina E.V., Sherstnev F.S., Maksimov O.D., Zaitseva G.F., PoPONina E.A., Yovdiy A.V., Paramonov I.V. Technical and organizational aspects of the prevention of HLA alloimmunization and refractory to platelet transfusions in hematological patients. *Transfusiology*. 2018; 4: 59-65 (in Russian).
6. American Assotiation of Blood Banks. Technical manual. Bethesda, MD: AABB Publications; 2002.
7. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation N.R(95)15, 16th edition. Council of Europe, 2010.
8. Rules for the collection, storage, transportation and clinical use of donated blood and its components. Approved by the Government of the Russian Federation No. 797 dated June 22, 2019 - Access mode: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_328029/ (Date of access: July 12, 2019) (in Russian).
9. Mineeva N.V., Gavrovskaya S.V., Krobinets I.I. et al. The frequency of detection of anti-erythrocyte, anti-leukocyte, antiplatelet alloantibodies in patients with hematological diseases. *Oncohematology*; 2013; 3: 60-68 (in Russian).
10. Circular of Information for the use of human blood and blood components. USA: AABB, ABC, ARC. 2009: 40.
11. Chechetkin A.V., Kiseleva E.A., Kasyanov A.D., Danilchenko V.V. Quality assessment of platelet concentrates and plasma obtained by apheresis, with combined donation. *Medline.ru*. 2017; 18: 272-289 (in Russian).
12. Kasyanov A.D., Chechetkin A.V., Golovanova I.S. et al. Correspondence analysis of hematological research methods in monitoring the quality of erythrocyte-containing blood components // *Transfusiology*. 2019; 2 (20), Suppl.: 37-38 (in Russian).
13. On approval of the procedure for medical examination of a blood donor and its components. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of September 14, 2001 No. 364. - Access mode: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_33916/ (Date of access: July 19, 2019) (in Russian).
14. Jy W., Ricci M., Shariatmadar S. et al. Microparticles in stored red blood cells as potential mediators of transfusion complications. *Transfusion*. 2011; 51: 886–893.