



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.9.2.005>
УДК 615.382(470.41)



Дворецкова М.А., Новик А.В.✉, Мятников А.С., Петровский А.В., Буко И.В.
Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских
биотехнологий, Минск, Беларусь

Высокоскоростное замораживание плазмы для повышения эффективности производства плазмы для медицинского применения в Республике Беларусь

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Новик А.В., Дворецкова М.А.; сбор и обработка данных – Дворецкова М.А., Мятников А.В., Петровский А.В., Буко И.В.; анализ и интерпретация данных – все авторы; подготовка рукописи – Новик А.В., Дворецкова М.А.; окончательное одобрение рукописи – Новик А.В.

Подана: 24.04.2023

Принята: 26.05.2023

Контакты: novik-all@yandex.by

Резюме

В организациях службы крови Республики Беларусь плазма производится из цельной донорской крови методом центрифугирования и методом афереза для удовлетворения потребностей пациентов в качественной и безопасной свежезамороженной плазме (СЗП), с целью производства лекарственных средств, медицинских изделий, реагентов и диагностических стандартов. Критерием показателя качества плазмы является активность в ней фактора свертывания крови VIII (фактора VIII), который сохраняется в регламентированных количествах в процессе заготовки и производства, карантинного контролируемого хранения, высокоскоростного замораживания и правильного размораживания для медицинского применения. В соответствии с требованиями производственной трансфузиологии замораживание плазмы проводится не более 60 минут.

Статья содержит результаты валидации замораживания различных объемов плазмы до температуры минус 30 °С и ниже внутри контейнера с плазмой с использованием быстрозамораживателя CSF61: время замораживания составило не более 20 минут. Статья имеет практико-ориентированный характер для специалистов в производственной трансфузиологии. Уменьшение времени замораживания плазмы повысит эффективность производства ее для медицинского применения и позволит сократить стоимость плазмы за счет снижения энергозатрат на производство дозы СЗП.

Ключевые слова: свежезамороженная плазма, фактор свертывания крови VIII, быстрозамораживатель плазмы

Dvaretskava M., Novik A., Myatnikov A., Petrovskij A., Buko I.
Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical
Biotechnologies, Minsk, Belarus

High-Speed Freezing of Plasma to Improve the Efficiency of Plasma Production for Medical Use in the Republic of Belarus

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – Novik A., Dvaretskava M.; data collection and processing – Dvaretskava M.; Myatnikov A., Petrovskij A., Buko I.; data analysis and interpretation – all authors; manuscript preparation – Novik A., Dvaretskava M.; final approval of the manuscript – Novik A.

Submitted: 24.04.2023

Accepted: 26.05.2023

Contacts: novik-all@yandex.by

Abstract

In the Belarusian Blood Services plasma is produced from whole donor blood by centrifugation and apheresis to satisfy the needs of patients in quality and safe fresh frozen plasma (FFP), for the production of drugs, medical devices, reagents and diagnostic standards. Criterion indicator of quality plasma is the activity in it of clotting factor VIII (FVIII), which is preserved in regulated amounts during preparation and production, quarantine controlled storage, high-speed freezing and correct thawing for medical use. In accordance with the requirements of Belarusian Blood Services freezing of plasma is carried out not more than 60 minutes. The article contains the results of validation of freezing various volumes of plasma to minus 30 °C and below in a plasma container using a CSF61 rapid freezer: the freezing time was no more than 20 minutes.

The article has a practice-oriented character for specialists of Blood Services. Reducing the time of freezing plasma will increase the efficiency of its production for medical use and will reduce the cost of plasma due to lower energy costs of producing a dose of FFP.

Keywords: fresh frozen plasma, blood coagulation factor VIII, rapid plasma freezer

■ ВВЕДЕНИЕ

Плазма крови человека – наиболее востребованный в мире компонент крови. Это обусловлено применением плазмы в клинической практике (ПК) и растущими потребностями в плазме для использования ее в качестве сырья с целью получения лекарственных средств, медицинских изделий, реагентов и диагностических стандартов (плазма для фракционирования).

Существуют два общепризнанных метода заготовки плазмы:

- из цельной крови путем ее центрифугирования и стерильного отделения в замкнутой системе контейнеров;
- с помощью мануального или автоматического афереза.

Поскольку второй метод существенно дороже первого, плазма из цельной крови остается востребованной в индустрии фракционирования (до 40%) и находит все



более ограниченное применение в клинической практике (около 50%). Широкое внедрение автоматического афереза плазмы основано на его неоспоримых преимуществах: отсутствует риск перепутывания возвращаемых донору клеточных элементов крови; донор находится в комфортных условиях; возможен увеличенный объем заготовки плазмы от одного донора; низкое содержание цитрата натрия, лейкоцитов и тромбоцитов в плазме, что является одним из условий сохранения стабильности факторов свертывания крови [1, 2].

Перечисленные качества аферезной плазмы обеспечивают ее высокую эффективность и безопасность при применении в клинической практике и позволяют создавать запасы плазмы специального назначения для фракционирования.

Стандарты качества спецификаций ПК регламентированы нормативными правовыми документами, тогда как ее производство – стандартными операционными процедурами (СОП) с учетом технологических требований производителя аппаратов и комплектующих, дизайна набора контейнеров для заготовки крови и компонентов. Универсальное требование для получения ПК – это отбор безопасных доноров в плане переноса трансфузионно-трансмиссивных инфекций и иммунологической совместимости крови донора и реципиента.

Принципиально важное значение имеет сохранность в ПК факторов свертывания и белкового состава для поддержания коллоидно-осмотического давления крови и восполнения дефицита факторов свертывания. Утвержденная приказом Минздрава Республики Беларусь номенклатура компонентов крови включает базовые виды ПК в качестве корректоров гемостаза, а также спецификации плазмы для фракционирования (ПФ) в качестве сырья для производства постоянно расширяющейся линейки лекарственных средств, медицинских изделий, диагностических стандартов и реагентов [4].

Донорская плазма в больших объемах используется в производстве более 20 лекарственных средств для лечения угрожающих жизни пациентов заболеваний, связанных с кровотечениями или нарушениями гемостаза, иммунологическими конфликтами, инфекциями или проблемами, обусловленными дефицитом тех или иных компонентов плазмы. В последние годы в мире на более чем 80 предприятиях перерабатывается более 35 млн литров плазмы. При этом загруженность предприятий в коммерческом и некоммерческом секторах колеблется в пределах 80% и 66% соответственно. Количество плазмы, поставляемой для фракционирования, в разных странах в среднем составляет от 9 до 30 литров на 1000 жителей [2, 3]. Потребность в плазме-сырье постоянно возрастает, и, учитывая строительство нового современного предприятия по производству лекарственных средств из плазмы крови в настоящее время в стране, в ближайшие годы необходимо развивать заготовку плазмы-сырья с наименьшими затратами на ее производство.

Производство ПФ в службе крови республики нацелено на развитие отечественного производства лекарственных средств, медицинских изделий из плазмы крови для реализации Государственной программы действий Министерства здравоохранения Республики Беларусь по импортозамещению фармацевтической продукции.

В РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий производство ПФ осуществляется в соответствии с системой менеджмента качества и требованиями Належащей производственной практики.

К контролируемым параметрам, отвечающим за гемостатический потенциал плазмы, относится определение активности фактора VIII (фактора свертывания крови) как наиболее лабильного и содержания фибриногена. Активность фактора VIII для компонентов плазмы крови, заготовка которых включает этап патогенредукции, должна составлять не менее 50 МЕ/100 мл, при остальных способах заготовки – не менее 70 МЕ/100 мл [5].

Ключевым показателем, определяющим качество плазмы и позволяющим провести анализ эффективности процесса ее производства, является активность фактора VIII. Доказано влияние на основные показатели качества плазмы различий в технологии производства: от способа заготовки плазмы и вида антикоагулянта до выбора температурных режимов заморозки, хранения и транспортировки.

Важным этапом производства биологически полноценной плазмы является реализация высокоскоростного (шокового) процесса ее замораживания до температуры минус 30 °С и ниже не позднее 60 минут от начала замораживания [1, 6].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить время замораживания плазмы и доказать, что процесс пригоден, выполняется в рамках установленных параметров, протекает эффективно, с воспроизводимыми параметрами и приводит к ожидаемым результатам.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Согласно плану исследования в рамках системы менеджмента качества провели процесс замораживания плазмы различных объемов (не более 300 мл плазмы, заготовленной из единицы (дозы) крови цельной, и 600 мл плазмы, заготовленной методом автоматического афереза) с использованием быстрозамораживателя CSF61 (CSF61) в соответствии с Руководством по эксплуатации оборудования. Проанализировали графики измерения температуры внутри пакета-имитатора в зависимости от времени замораживания, полученные с флеш-карты CSF61.

Контроль качества СЗП был выполнен по параметру активность фактора VIII в дозе (единице) клоттинговым методом: в среднем (после замораживания и размораживания) не менее 70 МЕ фактора VIII на 100 мл. Отбор образцов СЗП проводился согласно требованиям действующих национальных нормативных правовых актов: 1 раз в 3 месяца 10 единиц (доз) в первом месяце хранения.

Результаты анализировали с использованием дескриптивных статистик и непараметрических методов обработки данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Statistica 10.0.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Замораживание для трех загрузок контейнеров с плазмой объемом не более 0,300 л (n=35) и трех загрузок контейнеров с плазмой объемом 0,600 л (n=22) проводилось в течение 60 минут под контролем процесса с использованием пакета-имитатора, оборудованного контрольным датчиком (контрольный контейнер). Время достижения температуры минус 30 °С внутри контрольного контейнера представлено на графиках измерения температуры внутри пакета-имитатора в зависимости от времени замораживания (рис. 1–6).



Пояснения к графикам: желтый цвет – температура нижней пластины, синий цвет – температура верхней пластины, зеленый цвет – температура внутри контрольного контейнера.

При анализе полученных графиков определено время достижения температуры минус 30 °С внутри контрольного контейнера, что представлено в табл. 1. Отклонений не выявлено.

Результаты, полученные в ходе исследования, представлены в табл. 2.

При оценке параметров замораживания исследуемые показатели не вышли за рамки допустимых пределов и соответствовали критериям приемлемости, определенным планом исследования.



Рис. 1. Данные измерения температуры внутри контрольного контейнера для плазмы объемами не более 0,300 л в 1-й загрузке
Fig. 1. Temperature measurement data inside the test container for plasma in volumes not exceeding 0.300 liters in 1 load

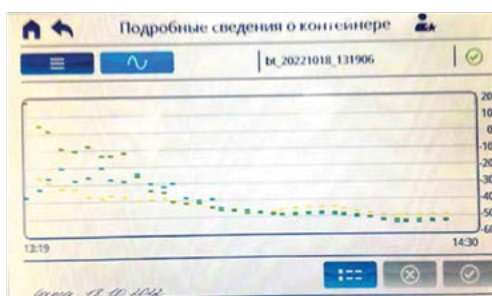


Рис. 2. Данные измерения температуры внутри контрольного контейнера для плазмы объемами не более 0,300 л во 2-й загрузке
Fig. 2. Temperature measurement data inside the test container for plasma in volumes not exceeding 0.300 liters in 2 load

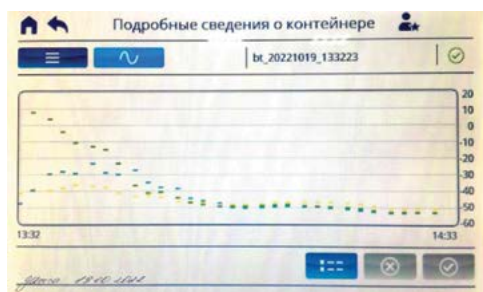


Рис. 3. Данные измерения температуры внутри контрольного контейнера для плазмы объемами не более 0,300 л в 3-й загрузке
Fig. 3. Temperature measurement data inside the test container for plasma in volumes not exceeding 0.300 liters in 3 load

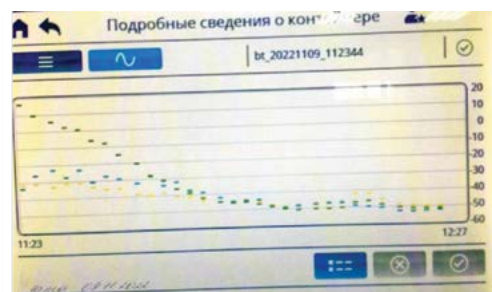


Рис. 4. Данные измерения температуры внутри контрольного контейнера для плазмы объемами 0,600 л в 1-й загрузке
Fig. 4. Temperature measurement data inside a test container for 0.600 l of plasma in 1 load



Рис. 5. Данные измерения температуры внутри контрольного контейнера для плазмы объемами 0,600 л во 2-й загрузке
Fig. 5. Temperature measurement data inside a test container for 0.600 l of plasma in 2 load

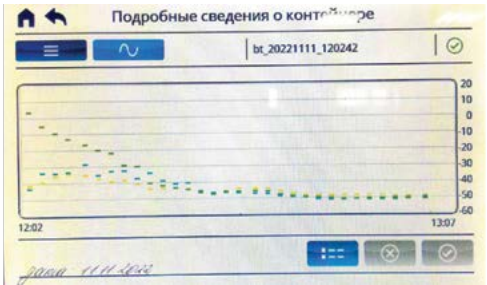


Рис. 6. Данные измерения температуры внутри контрольного контейнера для плазмы объемами 0,600 л в 3-й загрузке
Fig. 6. Temperature measurement data inside a test container for 0.600 l of plasma in 3 load

Таблица 1
Данные определения времени достижения температуры минус 30 °С внутри контрольного контейнера
Table 1
Data for determining the time of the achieving the temperature of minus 30 °C inside the control container

Дата загрузки	17.10.22	18.10.22	19.10.22	09.11.22	10.11.22	11.11.22	Средняя гармоническая
Время, мин.	13,5	17,0	15,5	20,0	20,0	16,5	16,8

Определили, что время достижения температуры минус 30 °С внутри контрольного контейнера составило не более 20 минут согласно полученным графикам измерения температуры внутри контрольного контейнера в зависимости от времени замораживания.

Сравнили значения контроля качества свежемороженой плазмы (СЗП) объемом не более 0,300 л (9 доз) и объемом 0,600 л (10 доз) по параметру средняя активность фактора VIII (табл. 3, 4, рис. 7, 8 (диаграммы)).

Средние значения уровня активности фактора VIII: для плазмы объемами не более 300 мл – 89,5 ME/100 мл, для плазмы объемом 600 мл – 103,3 ME/100 мл. Доверительный интервал для плазмы объемами не более 300 мл и плазмы объемом 600 мл составил 18,5 и 8,7 соответственно (P=0,95), что свидетельствует о более эффективном стандартизованном и прогнозируемом технологическом процессе производства СЗП, заготовленной с помощью аппаратов автоматической сепарации крови и замороженной с использованием CSF61. Эти же результаты проиллюстрированы на диаграмме (рис. 8).

Диаграмма (рис. 8) демонстрирует более стабильный и высокий уровень средней активности фактора VIII для аферезной плазмы в сравнении с плазмой из дозы цельной крови, что дает основание рекомендовать для предпочтительной заготовки плазмы метод автоматического афереза с целью переливания и фракционирования.



Таблица 2

Результаты процесса замораживания плазмы с использованием быстрозамораживателя CSF61

Table 2

Results of the plasma freezing process using the CSF61 rapid freezer

Показатель	Критерии приемлемости	Дата замораживания						Соответствие критерию приемлемости (да «+», нет «-»)
		17.10.22	18.10.22	19.10.22	09.11.22	10.11.22	11.11.22	
Температура окружающей среды, °С	10–32	19,3	19,2	19,2	24,8	24,9	24,8	+
Относительная влажность, %	Не более 70	27,9	33,1	34,1	30,2	30,0	29,9	+
Контроль состояния оборудования	Наличие электропитания в сети; целостность электрошнуров, электророзеток и вилок; отсутствие повреждений корпуса	Проведен. Замечаний нет	Проведен. Замечаний нет	Проведен. Замечаний нет	Проведен. Замечаний нет	Проведен. Замечаний нет	Проведен. Замечаний нет	+
Температура предварительного охлаждения верхней пластины, °С	Не выше минус 40	–40,7	–41,3	–43,7	–41,9	–43,0	–42,4	+
Температура предварительного охлаждения нижней пластины, °С	Не выше минус 40	–45,1	–43,5	–51,2	–40,0	–42,1	–42,8	+
Температура при закладке контейнеров верхней пластины, °С	Не выше минус 30	–38,2	–39,9	–41,5	–41,5	–42,6	–45,1	+
Температура при закладке контейнеров нижней пластины, °С	Не выше минус 30	–37,0	–41,6	–49,3	–38,7	–40,7	–48,4	+
Загрузка контейнеров с плазмой	350 мл – не более 15 контейнеров, 1000 мл – не более 10 контейнеров	350 мл – 10 шт.	350 мл – 14 шт.	350 мл – 11 шт.	1000 мл – 8 шт.	1000 мл – 8 шт.	1000 мл – 6 шт.	+
Толщина контейнера с плазмой, мм	Не менее 12	Не менее 12	Не менее 12	Не менее 12	Не менее 12	Не менее 12	Не менее 12	+
Время замораживания, мин.	Не более 60	60	60	60	60	60	60	+
Температура при изъятии контейнеров верхней пластины, °С	Не выше минус 30	–48,6	–51,8	–52,7	–52,1	–52,6	–51,2	+
Температура при изъятии контейнеров нижней пластины, °С	Не выше минус 30	–54,7	–56,1	–55,1	–55,0	–55,7	–52,4	+
Температура в середине контейнера, °С	Не выше минус 30	–53,5	–55,0	–55,0	–53,6	–53,7	–53,3	+

Таблица 3
Результаты средней активности фактора VIII в дозах СЗП объемом не более 300 мл
Table 3
Results of average factor VIII activity in FFP doses of not more than 300 ml

№ п/п	Марка контейнера	Значение показателя (МЕ/100 мл)
1	1787120	103,3
2	4204158	135
3	2759393	59,1
4	4204167	120
5	3407050	73
6	4204165	90
7	1787153	60
8	1788173	82,8
9	1787168	82,3

Таблица 4
Результаты средней активности фактора VIII в дозах СЗП объемом 600 мл
Table 4
Results of average factor VIII activity in 600 mL doses of FFP

№ п/п	Марка контейнера	Значение показателя (МЕ/100 мл)
1	2757168	90
2	2757162	110
3	3412100	110
4	1797800	90
5	1797802	100
6	2757199	98
7	2757197	100
8	1797821	110
9	1797822	95
10	1797827	130

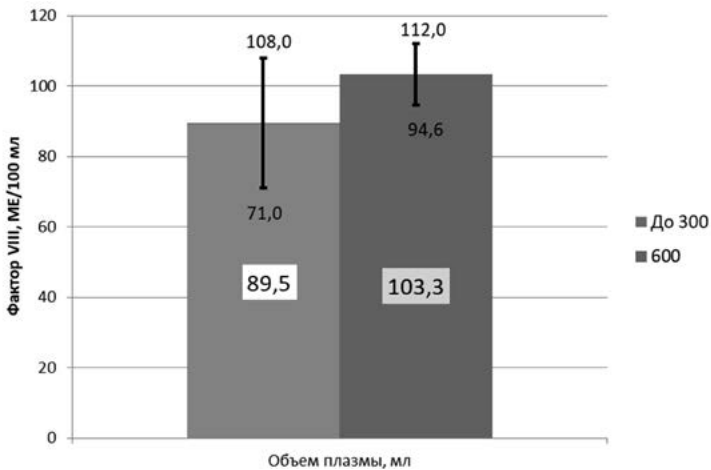


Рис. 7. Диаграмма средних значений активности фактора VIII в дозах СЗП объемом не более 300 мл и 600 мл и соответствующих доверительных интервалов, МЕ/100 мл (P=0,95)
Fig. 7. Diagram of average factor VIII activity in FFP doses of not more than 300 mL and 600 mL and corresponding confidence intervals, IU/100 mL (P=0.95)

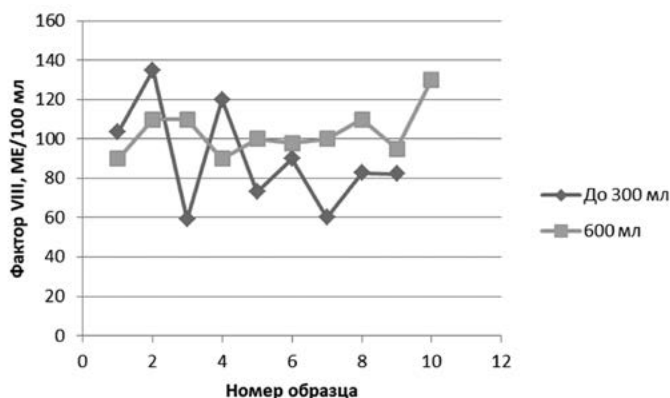


Рис. 8. Распределение средней активности фактора VIII в плазме объемами не более 300 мл и 600 мл

Fig. 8. Distribution of average factor VIII activity in plasma volumes of not more than 300 ml and 600 ml

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно рекомендовать производителям плазмы как для переливания, так и для фракционирования уменьшить время замораживания плазмы с использованием быстрозамораживателя CSF61, что позволит увеличить производительность оборудования, сократить энергозатраты на работу оборудования, оптимизировать процесс замораживания с целью повышения эффективности производства СЗП.

Заготовка плазмы автоматическим аферезом актуальна и предпочтительна для предприятий – производителей лекарственных средств из плазмы крови в сравнении с плазмой, полученной методом центрифугирования, в связи с максимальным сохранением в ней коагуляционного фактора VIII.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. European Directorate for the Quality of Medicine & HealthCare (EDQM). *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood. Recommendation No. R (95) 15, 20th Edition*. 2020:165, 169–187, 2502254.
2. Shirsat Mrunal. Implementation of plasma fractionation in biological medicines production. *The Journal of Oriental Research Madras*. 2022;MMXXI-XCII-XIV:2699–2705. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/366714018>
3. Rahimian Aliasghar, Aminian Mahdi. *Fractionation of human plasma for production of plasma derived albumin and intravenous injectable immunoglobulins (IVIg)*. 13th International Congress of Medical Laboratory and Clinic, Iran. 2022.
4. *The Order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus of April 6, 2018 N 323 "On approval of the Nomenclature of blood, its components collected from donors or produced by various methods from the blood of donors and intended for medical care and other purposes"*.
5. *The Order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus of April 6, 2018 N 325 "On approval of the List of safety and quality requirements for blood, its components collected from donors or produced by different methods from donor blood and intended for medical care and other purposes"*.
6. *The Decision of the Ministry of Health of the Republic of Belarus of May 19, 2011 N 38 "On the approval of the Instruction on the order of blood transfusion organizations to produce, process, store, sell blood and its components on the territory of the Republic of Belarus"*.