



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.9.3.002>



Новик А.В.✉, Романчук И.А., Федуро Н.А., Карпенко Ф.Н.

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

Безопасная и эффективная заготовка тромбоцитов методом интенсивного автоматического афереза в Республике Беларусь

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Новик А.В., Романчук И.А.; сбор и обработка данных – Романчук И.А., Новик А.В., Федуро Н.А.; анализ и интерпретация данных – все авторы; подготовка рукописи – Новик А.В., Романчук И.А., Карпенко Ф.Н.; окончательное одобрение рукописи – Новик А.В.

Подана: 12.06.2023

Принята: 21.07.2023

Контакты: novik-all@yandex.by

Резюме

Заготовка лечебных доз тромбоцитов от минимального числа доноров актуальна в настоящее время в связи с возрастающей потребностью в тромбоцитах при проведении высокотехнологичных оперативных вмешательств в кардиохирургии, травматологии и ортопедии, трансплантологии, для лечения пациентов онкогематологического профиля с геморрагическим синдромом при тромбоцитопении. Необходимость селекции доноров, максимального и эффективного использования кадровых доноров с повторным привлечением к интенсивному аферезу тромбоцитов и увеличением кратности процедур позволяет получить заявленное количество безопасных и качественных тромбоцитов с обоснованными затратами центров трансфузиологии республики, имеющих достаточно оборудования для афереза. Сохранение здоровья донорского контингента является приоритетом при проведении интенсивного афереза, что обеспечивается персонифицированным подходом к получению возможного количества тромбоцитов от каждого донора.

Ключевые слова: донор, донация, интенсивный автоматический аферез тромбоцитов, стандартная доза тромбоцитов

Novik A., Romanchuk I., Fedura N., Karpenko F.
Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical
Biotechnologies, Minsk, Belarus

Safe and Effective Platelet Preparation by Intensive Automatic Apheresis in the Republic of Belarus

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – Novik A., Romanchuk I.; data collection and processing – Romanchuk I., Novik A., Fedura N.; data analysis and interpretation – all authors; manuscript preparation – Novik A., Romanchuk I., Karpenko F.; final approval of the manuscript – Novik A.

Submitted: 12.06.2023

Accepted: 21.07.2023

Contacts: novik-all@yandex.by

Abstract

The collection of therapeutic doses of platelets from a minimal number of donors is currently actual due to the increasing demand for platelets during high-tech surgical interventions in cardiac surgery, traumatology and orthopedics, transplantology, for the treatment of patients of oncohematological profile with hemorrhagic syndrome in thrombocytopenia. The need for donor selection, maximum and efficient use of regular donors with repeated involvement in intensive platelet apheresis and increased multiplicity of procedures allows to obtain the claimed number of safe and quality platelets with reasonable costs of transfusiology centers of the republic, having enough equipment for apheresis. Maintaining the health of the donor population is a priority in intensive apheresis, which is ensured by a personalized approach to get the possible number of platelets from each donor.

Keywords: donor, donation, intensive automatic platelet apheresis, standard platelet dose

■ ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время получение тромбоцитов в терапевтических дозах от одного донора возможно только с использованием аферезной технологии на автоматических сепараторах клеток крови [1]. Поэтому в большинстве высокоразвитых стран безусловное предпочтение отдается заготовке тромбоцитов методом автоматического афереза (далее – аферезные тромбоциты) [2].

Существенные преимущества тромбоцитов, заготовленных на сепараторах клеток крови, состоят в возможности получения от одного донора нескольких доз тромбоцитов. Хранение тромбоцитов до 5 дней (до 7 дней при использовании добавочного раствора) и разделение двойной дозы тромбоцитов на два контейнера при необходимости создают возможность для пролонгированной трансфузионной поддержки пациента с осуществлением принципа «один донор – один реципиент» [3]. Аферезные тромбоциты содержат минимальную примесь лейкоцитов, при которой не требуется дополнительная фильтрация, обладают повышенной приживаемостью,



меньшей бактериальной контаминацией по сравнению с тромбоцитами, заготовленными другими методами [4]. Это позволяет повысить эффективность и безопасность трансфузионной терапии тромбоцитами, снизить частоту аллоиммунизации пациентов, уменьшить посттрансфузионные осложнения [5, 6].

Ежегодно в Республике Беларусь потребность в тромбоцитах растет на 5–7%. При этом доля аферезных тромбоцитов увеличилась с 55% в 2013 г. до 95% в 2022 г. Так, в 2013 г. заготовлено и перелито в клиниках 81 323 дозы тромбоцитов, а в 2021 г. – 111 793 дозы, в 2022 г. – 115 426 доз (115 тысяч доз тромбоцитов (или около 28 тысяч стандартных доз)) при минимальном списании (0,72%). В 75% донаций в республике заготавливается одна стандартная доза тромбоцитов (4 дозы). В дальнейшем в большинстве донаций планируется заготовка двух стандартных доз тромбоцитов от одного донора ($\geq 4,0 \times 10^{11}$ клеток тромбоцитов, или 8 доз).

Предлагаемый метод автоматического афереза предусматривает возможность донации двух и более стандартных доз тромбоцитов ($\geq 4,0 \times 10^{11}$ клеток тромбоцитов, или 8 и более доз), что предполагает переработку не более 4 литров или около 70–90% объема циркулирующей крови и возврата в кровеносное русло донора плазмы, эритроцитов, лейкоцитов.

С увеличением потребности в трансфузиях тромбоцитов повышается риск передачи гемотрансмиссивных инфекций и посттрансфузионных осложнений. Увеличение расходов на трансфузионную поддержку делает актуальной проблему рационального ограничения трансфузий тромбоцитов. Доказано, что затраты на переливания тромбоцитов могут быть снижены за счет оптимизации трансфузионной тактики [7]. Принципиальное значение имеет заготовка лечебных доз тромбоцитов от минимального числа доноров – увеличение количества получаемых стандартных доз тромбоцитов от одного донора [8]. Этот подход направлен на уменьшение сенсибилизации пациентов к антигенам тромбоцитов, лейкоцитов и предупреждение развития резистентности к трансфузиям тромбоцитов, снижение количества посттрансфузионных осложнений и риска посттрансфузионного инфицирования HBV, HCV, ВИЧ и других нетестируемых инфекций.

Установлено, что терапевтической дозой тромбоцитов является переливание не менее $50\text{--}70 \times 10^9$ тромбоцитов на каждые 10 кг массы тела или $200\text{--}250 \times 10^9$ на 1 м^2 поверхности тела. Для каждого конкретного пациента необходимое количество тромбоцитов может быть подобрано индивидуально с учетом того, что потребность в переливаемых тромбоцитах увеличивается на 40–80% при ДВС-синдроме, инфекционных осложнениях, сепсисе, гипертермии, спленомегалии, массивных кровотечениях из желудочно-кишечного тракта [9, 10].

Современными аппаратами для сбора тромбоцитов, позволяющими заготавливать высококачественные тромбоциты в терапевтических дозах от одного донора, отвечающие стандартам и требованиям Совета Европы, являются: Trima Accel (Terumo BCT, США), MCS+ (Haemonetics, США), AmiCORE (Fresenius, Германия), Amicus (Baxter, США), COBE Spectra (Caridian BCT, США), COM.TEC (Fresenius, Германия) [11–16]. Современные сепараторы клеток крови имеют автоматизированные протоколы сбора тромбоцитов, контролируемые микропроцессором, с обеспечением высокой степени безопасности доноров. В каждой программе параметры процедуры адаптируются к индивидуальным особенностям донора.

В последние десятилетия не прекращается дискуссия о преимуществах и недостатках тромбоцитов, заготовленных различными технологиями [17]. Выбор метода заготовки тромбоцитов должен учитывать их целевое клиническое использование. При этом одним из важнейших факторов обеспечения безопасности и снижения риска передачи гемотрансмиссивных инфекций является внедрение автоматических аферезных технологий при заготовке тромбоцитов [18].

В организациях переливания крови городского, областного и республиканского уровней в республике имеется более 50 сепараторов клеток крови различных производителей, имеющих свои технологические особенности, прежде всего объемы обрабатываемой в цикле крови. Городской центр трансфузиологии г. Минска, РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Центр) заготавливают тромбоциты преимущественно с использованием автоматических сепараторов крови.

Однако в Республике Беларусь отсутствуют протоколы и алгоритмы заготовки двух и более стандартных доз тромбоцитов от одного донора в режиме, безопасном для его здоровья. Динамичное и успешное развитие медицинского оборудования позволило разработать метод интенсивного автоматического афереза тромбоцитов – максимально безопасного и комфортного для донора, отвечающего современным клиническим потребностям: максимально эффективная доза, минимальное содержание лейкоцитов, максимальное исключение микробной контаминации.

Согласно критериям рекрутинга доноров двух и более стандартных доз тромбоцитов в соответствии с действующей Инструкцией о порядке заготовки тромбоцитов методом автоматического афереза [19] получение тромбоцитов от минимального количества доноров на сепараторах клеток крови в дозах, необходимых для купирования геморрагического синдрома, снижает экономические затраты за счет снижения числа доноров, уменьшения проблем с их поиском, сокращения затрат на обследование доноров и увеличения эффективности использования оборудования [20].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать алгоритм заготовки и критерии качества двух и более стандартных доз тромбоцитов (в количестве $\geq 4,0 \times 10^{11}$ клеток тромбоцитов от одного донора) методом интенсивного автоматического афереза. За одну стандартную дозу принято число тромбоцитов, заготовленных от одного донора за одну процедуру донации, в количестве не менее $2,0 \times 10^{11}$ клеток согласно рекомендациям Европейского директора по качеству лекарственных средств и здравоохранения [1].

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Заготовка тромбоцитов методом автоматического афереза проводилась в соответствии с действующей нормативной документацией в Республике Беларусь и согласно стандартным операционным процедурам на сепараторах Trima Accel, MCS+, COM.TEC. Всего проведено 154 процедуры интенсивного автоматического афереза тромбоцитов (8 доз). В исследовании участвовали 17 кадровых доноров автоматического афереза – 15 мужчин и 2 женщины, которые соответствовали критериям отбора (возраст от 20 до 50 лет, масса тела не менее 65 кг, исходное содержание тромбоцитов не менее $200 \times 10^9/\text{л}$ – среднее составило $296,5 \pm 6,6$ (Me=295,9) $\times 10^9/\text{л}$). Индекс массы тела доноров (ИМТ) – среднее значение $26,8 \pm 0,1$ (Me=26,8) $\text{кг}/\text{м}^2$. Средний объем циркулирующей крови (ОЦК) доноров – $5,5 \pm 0,0$ (Me=5,5) л.



Алгоритм получения от одного донора двух стандартных доз тромбоцитов ($\geq 4,0 \times 10^{11}$ клеток тромбоцитов) методом автоматического афереза заключался в проведении 5 циклов интенсивных аферезов тромбоцитов (2 стандартные дозы – 2×200 мл) с интервалом не менее 28 дней. Один цикл составлял 5 донаций по две стандартные дозы с интервалом 14–28 дней. Остаточное содержание тромбоцитов в крови донора после проведения процедуры сепарации крови – не менее $150 \times 10^9/\text{л}$.

Во время процедуры автоматического афереза тромбоцитов и в течение 30 минут после проводились динамическое наблюдение за состоянием донора (изменение самочувствия донора, артериального давления, частоты сердечных сокращений, температуры тела), визуальный промежуточный контроль собираемых тромбоцитов (отсутствие хилеза, примеси эритроцитов в компоненте крови), мониторировались клинико-лабораторные показатели. Для предупреждения наступления цитратных осложнений за 30 минут до донации донор принимал не менее 2 г лекарственного препарата кальция (глюконата кальция).

С целью восстановления объема циркулирующей крови донора после процедуры автоматического афереза проводили внутривенную инфузию раствора натрия хлорида 0,9% в объеме 500 мл ($t = +36\text{--}37^\circ\text{C}$) (если сепаратор крови не провел ее автоматически).

Заготовленные тромбоциты помещали на ровную поверхность при комнатной температуре без покачивания на 60 минут. Затем аккуратно перемешивали, делили на нужное количество частей в закрытом контуре с помощью весов и помещали для хранения в тромбомиксер при температуре $20\text{--}24^\circ\text{C}$.

Гематологические и биохимические параметры доноров исследовали на анализаторах Sysmex, Cobas. Контроль качества полученных тромбоцитов проводился согласно требованиям действующих стандартов качества отделом контроля качества Центра. Определяли количество тромбоцитов в дозе на гематологическом анализаторе Sysmex KX 21N, содержание остаточных лейкоцитов – на счетчике остаточных лейкоцитов NanoEnTek ADAM rWBC, уровень pH – на кондуктометре/pH-метре SevenCompact Duo S213. Использовалась современная технология обнаружения и идентификации тромбоцитов методом проточной лазерной цитометрии.

Тромбоциты заготавливались в отделении заготовки крови, ее компонентов в стационарных условиях РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий и в ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

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

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Расчет Т-критерия Вилкоксона для исследуемой группы доноров перед началом интенсивного тромбоцитафереза и через 2 недели по всем показателям гемограммы и биохимическим параметрам статистически значимых различий не выявил. Исключение составили показатели содержания тромбоцитов и СОЭ, их изменение в динамике показало статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Остаточное содержание тромбоцитов в крови донора после донации – не менее $150 \times 10^9/\text{л}$ (среднее количество составило $219,5 \pm 7,0$ ($Me = 219,1$) $\times 10^9/\text{л}$). Скорость

забора и возврата устанавливалась в зависимости от состояния донора и пропускной способности вены донора.

Пул циркулирующих тромбоцитов за донацию снизился на $26,2 \pm 1,1$ ($Me=26,5$) %.

Длительность сепарации тромбоцитов на трех видах оборудования составила в среднем $57,2 \pm 4,6$ ($Me=54,1$) минуты, минимально – на Trima Accel (47 минут), максимально – на MCS+ (74 минуты), представлена на рис. 1 (диаграмма).

Диаграмма (рис. 2) демонстрирует расход антикоагулянта ACD-A за одну процедуру афереза тромбоцитов на различных сепараторах.

Расход антикоагулянта за процедуру в среднем составил $260,5 \pm 19,3$ ($Me=256,3$) мл – 213/289/307 мл на сепараторах Trima Accel/Com.Tec/MCS+ соответственно. Наименьшие показатели расхода антикоагулянта отмечаются при сепарации на аппарате Trima.

Легкие цитратные реакции в виде металлического привкуса наблюдались у 6 доноров (35%), в дальнейшем после коррекции параметров процедуры (соотношение крови и антикоагулянта, скорости кровотока) не отмечались.

Сравнили объемы переработанной донорской крови при аферезе тромбоцитов на различных сепараторах крови (рис. 3, 4 (диаграммы)).

Среднее количество обработанной крови донора составило $2,7 \pm 0,1$ ($Me=2,6$) л, что соответствует объему обработанной крови, % от ОЦК донора – $49,2 \pm 1,9$ ($Me=48,6$) %.

Показатели контроля качества заготовленных тромбоцитов соответствовали действующим требованиям по клеточности, остаточным лейкоцитам и уровню pH в конце срока хранения (5-е сутки): среднее количество тромбоцитов – $542 \pm 7,6$ (192–990, $n=152$) $\times 10^9$ /дозе, среднее остаточное количество лейкоцитов – $0,37 \pm 0,05$ (0,00–4,14, $n=104$) $\times 10^6$ /дозе, средний pH в конце срока хранения – $7,49 \pm 0,01$ (6,87–7,76, $n=146$).

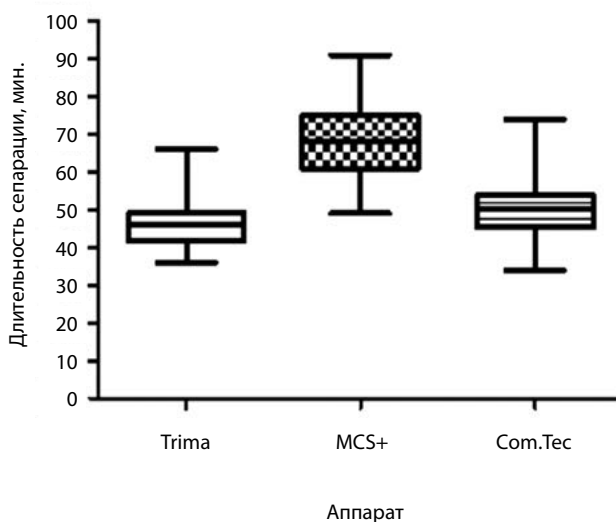


Рис. 1. Диаграмма длительности сепарации тромбоцитов на Trima Accel, MCS+, Com.Tec
Fig. 1. Diagram of platelet separation duration on Trima Accel, MCS+, Com.Tec

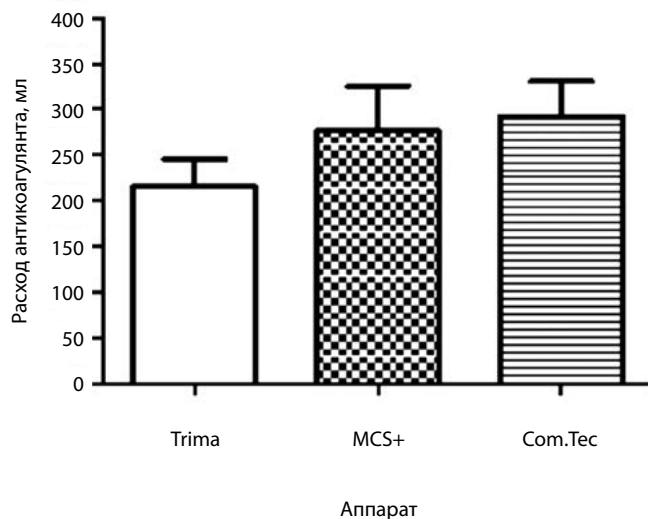


Рис. 2. Диаграмма расхода антикоагулянта ACD-A при аферезе тромбоцитов за одну процедуру на Trima Accel, MCS+, Com.Tec

Fig. 2. Diagram of ACD-A anticoagulant use for platelet apheresis per procedure on Trima Accel, MCS+, Com.Tec

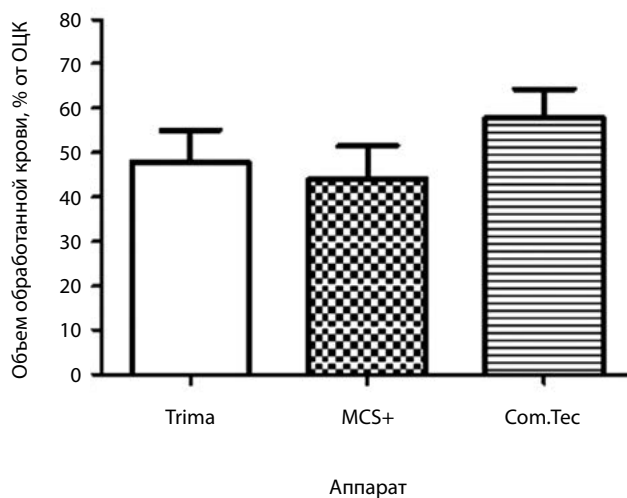


Рис. 3. Количество переработанной донорской крови за одну процедуру афереза тромбоцитов (% от ОЦК) на Trima Accel, MCS+, Com.Tec

Fig. 3. Volume of processed donor blood per one platelet apheresis procedure (% of circulating blood volume) on Trima Accel, MCS+, Com.Tec

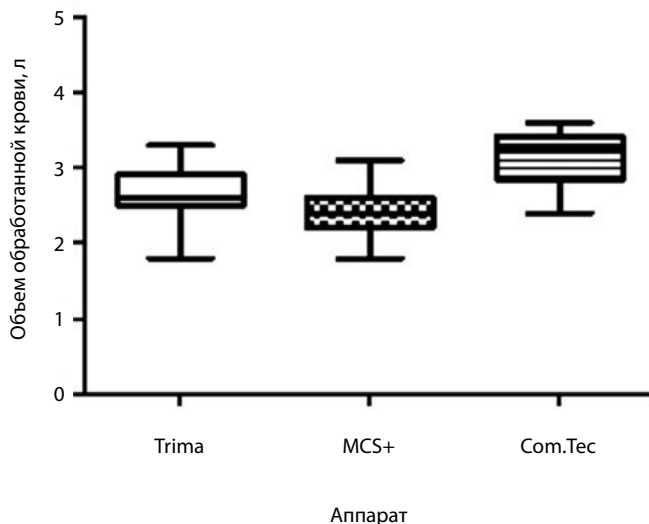


Рис. 4. Количество переработанной донорской крови за одну процедуру афереза тромбоцитов (л) на Trima Accel, MCS+, Com.Tec

Fig. 4. Volume of processed donor blood per one platelet apheresis procedure (liters) on Trima Accel, MCS+, Com.Tec

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интенсивный аферез тромбоцитов оптимально проводить у кадровых доноров плазмы и клеток крови, предпочтительно на сепараторе крови Trima Accel (в сравнении с MCS+ и Com.Tec), учитывая длительность процедуры и расход антикоагулянта. При заготовке тромбоцитов на MCS+ количество переработанной донорской крови меньше в процедуре (в сравнении с Trima Accel и Com.Tec). Интенсивный аферез тромбоцитов при указанных объемах обработки крови удовлетворительно переносится донорами без развития цитратных реакций при профилактическом приеме 2 г глюконата кальция. Отсутствие отклонений гематологических, биохимических показателей и параметров системы гемостаза доноров подтверждает безопасность предложенной программы интенсивного тромбоцитафереза с интервалом между донациями не менее 14 дней, что позволяет восстановиться содержанию тромбоцитов в периферической крови донора.

■ 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. 2020:146–151;184;236–242;278–279.
2. Karpova O.V., Obraztsov I.V., Trakhtman P.E. Comparative characterization of methods of preparation and clinical use of platelet apheresis concentrates with the use of the additional solution. *Oncohematology*. 2015;10(2):63–68.
3. Vorobyov A.I., Brilliant M.D. Acquired immunodeficiency and the principle of one donor – one patient. *Therapeutic Archives*. 1985;7:3–6.
4. Venz B. Leucocyte depletion filters should be used with apheresis platelets. *J. of Clinical Apheresis*. 2001;7:149–150.
5. Golovkina L.L. *Genetic polymorphism of platelet-specific antigens (PhD Thesis)*. Moscow. 2008;273.
6. Zarubin M.V., Gubanov M.N., Gaponova T.V. Ensuring Efficiency and Safety of Platelet Transfusion. *Bulletin of N.I. Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2016;11(3):118–126.



7. Heal J.M., Horan P.K., Schmitt T.S. Long-term follow-up of donors cytapheresis more than 50 times. *Vox Sang.* 1983;45:14–24.
8. Savchenko V.G., Garmaeva T.C., Kulikov S.M., Filatov F.P. Efficiency and safety of transfusion therapy of hematological patients. *Therapeutic archive.* 2006;7:12–18.
9. *Instruction on the use of blood components.* Moscow, 2002:77.
10. *Instruction for use "Transfusion of donor blood and its components".* Minsk, 2003:70.
11. Chaudhary R., Sekhar Das S., Agarwal P. Quality systems in automated plateletapheresis in hospital-based blood transfusion service in North India. *J. of Clinical Apheresis.* 2005;20:81–85.
12. Moor R., Froehlich A., Mayaudon V. In Vitro evaluation of Com. Tec. Apheresis platelet concentrates using a preparation set and pathogen inactivation over a storage period of five days. *J. of Clinical Apheresis.* 2004;19:185–191.
13. Patel A., Kaur A., Patel V. Comparative study of plateletapheresis using CS 3000 plus and Haemonetics MCS. *J. of Clin. Apheresis.* 2004;19:137–141.
14. Rehacek V., Samkova H. *Comparison of the LDP C5 and LDP C2 protocols for platelet concentrates preparation on Haemonetics MCS+ separator.* Proceedings of the 14th Cogress of the interdisciplinary European society for hemotherapy. Prague, September 10–13, 2003:38.
15. Valbonesi M., Frisoni R., Fella M. Plateletapheresis with the new Fresenius AS 104 blood cell separator. *J. of Clinical Apheresis.* 1991;6:84–87.
16. Yockey C., Murfy S., Eggers L. Evaluation of Amicus separator in the collection of apheresis platelets. *Transfusion.* 1998;38:848–853.
17. Maresh S., Randels M., Straus R. Comparison of plateletapheresis with a standard and an improved collection device. *Transfusion.* 1996;10: 835–937.
18. Golosova T.V., Nikitin I.K. *Hemotransmissible infections.* M., 2003:40–45.
19. *Order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus of December 30, 2021 № 1699 "On approval of the Instruction on the procedure of platelets collection by automatic apheresis".*
20. Fregatova L.M. Modern tendencies of cell concentrates preparation in blood service. *Transfusiology.* 2006;4:34–40.