

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ФИЛЬТРОВ НА ЭРИТРОЦИТНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ДОНОРСКОЙ КРОВИ ПРИ ИХ ЛЕЙКОДЕПЛЕЦИИ НА ЭТАПЕ ПРОИЗВОДСТВА

Беляев А.Е., Мироненко А.Н., Платонов С.М.

СПб ГБУЗ «Городская больница №15», Санкт-Петербург, Россия

Цель работы: оценка побочного действия «производственных» лейкофильтров (ЛФ) на фильтруемую трансфузионную среду, в частности, определение степени потери гемоглобина при лейкодеплеции (ЛД) эритроцитных компонентов донорской крови различными типами ЛФ. Изучение этого параметра необходимо для определения обоснованных критериев выбора типа ЛФ для повседневной работы на производстве эритроцитной взвеси (ЭВ), который наиболее бы соответствовал понятию «идеального». Материалы и методы. Для заготовки крови от доноров использовались системы для взятия крови «Leukotrap RCPL» (производства «Pall Medical», США) с интегрированными ЛФ и «Demotec» (производства «Demorphogius», Кипр), к которым подпаивался ЛФ «Лейкосеп» (производство ЗАО НЛП «Интероко», Россия). Результаты исследования и их обсуждение: было исследовано 22 образца лейкодеплецированной на ЛФ «Лейкосеп» ЭВ и 20 образцов ЭВ после ЛФ «Pall». До выполнения ЛД группы были вполне сопоставимы. Процесс выполнения ЛД приводит к значимому уменьшению объема содержимого контейнера и, соответственно, потере гемоглобина в системе с уменьшением его содержания в дозе ЭВ. Однако показатели потери объема, а также снижения гемоглобина в группе «Интероко» были достоверно большей, чем в группе «Pall», что, по всей видимости, связано с конструктивными особенностями ЛФ. Соответственно, в группе «Интероко» количество гемоглобина на дозу ЭВ было достоверно меньшим, чем в группе «Pall». При этом выявленная разница между группами по концентрации гемоглобина после ЛД находилась на уровне тенденции, не достигая статистической значимости ($p=0,053$), что может говорить о недостаточном объеме выборки. Тем не менее, показатели концентрации гемоглобина находились в пределах достаточных значений ($N>40$ г/дозу) для соответствия требованиям действующего Технического регламента. Выводы: с учетом все возрастающего количества предложений ЛФ на рынке существующих критериев их оценки (субъективное удобство для персонала, цена производителя) становится явно недостаточно, кроме того, выясняется, что использование систем разных типов как минимум приводит к необходимости уточнения учета потерь эритроцитных трансфузионных сред на ЛФ. По результатам исследования становится ясно, что в инструкции производителей к ЛФ и рабочие инструкции по ЛД эритроцитных компонентов донорской крови необходимо включать дополнительный критерий – потерю объема на ЛФ, что влечет за собой значимое снижение содержания гемоглобина.

Ключевые слова: лейкоцитарный фильтр, лейкодеплеция, эритроцитные компоненты крови, донорская кровь, потери гемоглобина.

Введение

Несмотря на все достижения современной иммуногематологии и развитие технологий производственной трансфузиологии, наиболее потенциально опасным видом трансфузионной терапии является трансфузия эритроцитных компонентов донорской крови. Не в последнюю очередь это связано с возможным попаданием при этом в организм реципиента лейкоцитов донора, что напрямую сопряжено с риском развития множества неблагоприятных реакций. Являясь крайне иммунологически активными клетками, даже находясь в консервированных компонентах донорской крови, лейкоциты продолжают продуцировать биологически активные субстанции – цитокины, факторы комплемента и т.д. [1, 4]. Вступая во взаимодействие с

антилейкоцитарными антителами реципиента и разрушаясь, донорские лейкоциты высвобождают эти субстанции, что может служить причиной развития у реципиента посттрансфузионных фебрильных реакций негемолитического характера [2, 3]. Кроме фебрильных, донорские лейкоциты также могут вызывать различные иммунологические реакции – по типу «трансплантат против хозяина», иммуносупрессию и HLA-иммунизацию [1, 2, 3]. Дискутабельной остается роль лейкоцитов в передаче вирусных инфекций, к настоящему моменту есть достоверные данные о таком пути заражения только для цитомегаловирусной инфекции, так как цитомегаловирус реплицируется непосредственно в лейкоцитах, не подвергаясь разрушающему действию антител и интерферона [7, 8, 9].

Группа методов уменьшения содержания лейкоцитов в компонентах донорской крови объединена понятием лейкодеплеция (ЛД). Широко распространенным методом ЛД трансфузионных сред является их фильтрация через лейкоцитарные фильтры (ЛФ). ЛД таким способом может производиться как на этапе производства путем пропускания цельной крови или отдельных ее компонентов через «производственные» ЛФ, так и на этапе гемотрансфузии с использованием «госпитальных» ЛФ. Известно, что возможно более раннее (в первые 6 часов после забора донорской крови) удаление лейкоцитов из компонентов донорской крови повышает их биологическую эффективность за счет предотвращения контаминации трансфузионных сред лейкоцитарными биологически активными веществами [2, 6].

С учетом вышеперечисленного, на современном этапе развития производственной трансфузиологии технологии ЛД компонентов донорской крови закономерно являются крайне востребованными, а в некоторых зарубежных странах и обязательными [2]. Наличие устойчивого спроса рождает значительное количество предложений на рынке ЛФ, которые имеют серьезные конструктивные и технологические отличия, но должны обеспечивать соответствующее Техническому регламенту [5] качество ЛД. Так как от характеристик ЛФ напрямую зависит качество получаемой трансфузионной среды, то идеальный ЛФ должен обеспечивать максимально эффективную ЛД при минимальном воздействии на остальные форменные элементы фильтруемой среды, быть удобным в использовании для персонала ОПК и обладать невысокой стоимостью.

Целью исследования являлась оценка побочного действия ЛФ на фильтруемую среду, в частности, определение потери гемоглобина при ЛД эритроцитных компонентов донорской крови различными типами ЛФ. Изучение этого параметра необходимо для определения обоснованных критериев выбора того или иного типа ЛФ для повседневной работы на производстве ЭВ, который наиболее бы соответствовал понятию «идеального».

Материалы и методы

Для заготовки крови от доноров использовались системы для взятия крови «Leukotrap RCPL» (производства «Pall Medical», США) и «Demotec» (производства «Demophorius», Кипр). Седиментация производилась центрифугированием при 2380 об/мин в течение 7

минут на центрифуге «Sorvall RC 3BP» (производства «Thermo Scientific», США). Первый тип систем содержит интегрированные отдельные ЛФ для всех трех получаемых трансфузионных сред – эритроцитной взвеси (ЭВ), плазмы и тромбоцитного концентрата, фильтрация производилась после разведения эритроцитной массы взвешивающим раствором SAGM из самой системы сразу после сепарации. Второй тип системы без ЛФ, поэтому после сепарации обогащенной тромбоцитами плазмы к системе методом стерильного соединения на аппарате «CompoDock» (производства «Fresenius», Германия) подпаивался ЛФ «Лейкосеп» (производства ЗАО НЛП «Интероко», Россия), на котором производилась ЛД получаемой ЭВ.

Взвешивание контейнеров с ЭВ производилось на весах «МК-3.2-А20» (производства «Масса-К», Россия), в приведенных ниже таблицах указан вес «нетто», без учета массы контейнера. Уровень гемоглобина измерялся на анализаторе «Advia-60» (производства «Bayer», Германия) с набором реагентов для данного анализатора (производства «Реамед», Россия).

Результаты и их обсуждение

Отделение переливания крови Городской больницы №15 г. Санкт-Петербурга проводит ЛД эритроцитных компонентов донорской крови много лет. Традиционно использовалась методика приготовления ЭМОЛТ, но с появлением доступных ЛФ от этой практики мы постепенно отказались в пользу лейкофильтрации, которая занимает меньше рабочего времени персонала и не нарушает герметичность системы для крови. С момента внедрения доля лейкофильтрованных компонентов донорской крови непрерывно растет, в 2014 году превысив 50% производства эритроцитных компонентов крови (табл. 1.)

Таблица 1

Лейкофильтрация эритроцитных компонентов крови в ОПК СПб ГБ №15

Объем производства, л.	2012 г.	2013 г.	2014 г.
Эритроцитной массы	669,9	329,9	386,5
из них лейкофильтрованной	21,8	28,0	57,3
Эритроцитной взвеси	570,3	933,7	1320,1
из них лейкофильтрованной	133,8	150,8	834,9
Общий % лейкофильтрации	12,5	14,2	52,3

Поскольку длительное нахождение лейкоцитов в трансфузионных средах во время хранения нежелательно из-за контаминации их лейкогенными биологически активными субстанциями, в нашем ОПК ЛД проводится только на этапе производства компонентов крови; «госпитальные» ЛФ для готовой продукции не используются, так как они способны удалять только сами клетки, но не выделяемые ими субстанции.

После заготовки через ЛФ пропускается либо консервированная донорская кровь до этапа сепарации, либо уже готовая ЭВ. С 2015 года эритроцитная масса не подвергается нами ЛД фильтрационным методом, так как, обладая высоким гематокритом, крайне медленно фильтруется (на некоторых ЛФ время ее фильтрации превышает 30 минут), к тому же потери ее объема, а, следовательно, и гемоглобина, на ЛФ весьма высоки. Качество ЛД контролируется согласно действующей нормативной документации, за время наблюдения ни в одном случае контрольных измерений уровня остаточных лейкоцитов не был зафиксирован уровень, превышающий допустимый действующим Техническим регламентом [5] уровень 1×10^6 клеток на дозу ЭВ. Выдача ЭВ после ЛД производится преимущественно для пациентов со значимым трансфузионным анамнезом, что соответствует международным рекомендациям [7] и приказам Министерства здравоохранения РФ.

Было исследовано 22 образца лейкодеплецированной на ЛФ «Лейкосеп» ЭВ и 20 образцов ЭВ после ЛФ «Pall». Выраженных посттрансфузионных реакций у реципиентов ЭВ после ЛД обеих сравниваемых групп зафиксировано не было. Основные характеристики обеих групп контейнеров ЭВ до проведения ЛД указаны в таблице 2. Как видно из таблицы, до выполнения ЛД группы были сопоставимы по количеству проб, среднему весу ЭВ в контейнере и количеству гемоглобина на дозу ЭВ.

Время, затрачиваемое персоналом ОПК на проведение ЛД в обеих группах, было сопоставимым (в среднем, около 20 минут на дозу), так как, несмотря на дополнительное время, требующееся на оснащение систем «Demotec» внешними ЛФ «Интероко», эта разница нивелируется более медленной фильтрацией через ЛФ «Leukotrap RCPL».

Процесс выполнения ЛД приводит к значимому уменьшению объема содержимого контейнера и, соответственно, потере гемоглобина в системе с уменьшением количества гемоглобина на дозу ЭВ, что связано с принципами мето-

дики. Однако показатели потери объема, а также снижения гемоглобина в группе «Интероко» были достоверно большей, чем в группе «Pall», что, по всей видимости, связано с конструктивными особенностями данного ЛФ (табл. 3). Соответственно, в группе «Интероко» количество гемоглобина на дозу ЭВ было достоверно меньшим, чем в группе «Pall».

Таблица 2

Характеристики эритроцитной взвеси (ЭВ) до лейкофильтрации

Параметр, ед	Группа 1 («Интероко»)	Группа 2 («Pall»)	P
Количество проб	22	20	0,98
Средний вес ЭВ в контейнере, г	375±23	363±26	0,15
Количество гемоглобина на дозу ЭВ, г/дозу	86,6±17,7	87,2±15,6	0,91

Таблица 3

Характеристики эритроцитной взвеси (ЭВ) после лейкофильтрации

Параметр, ед	Группа 1 («Интероко»)	Группа 2 («Pall»)	P
Средний вес ЭВ в контейнере, г	293,5±21,4	339,8±24,2	P<0,001
Количество гемоглобина на дозу ЭВ, г/дозу	48,4±6,6	62,2±13,7	P<0,001
Потеря объема, мл	81,1±15,3	23,6±9,8	P<0,001
Потеря гемоглобина на дозу ЭВ, г/дозу	38,227±15,6	25,1±6,1	P<0,05

При этом выявленная разница между группами по концентрации гемоглобина после ЛД находилась на уровне тенденции, не достигая статистической значимости ($p=0,053$), что может

говорить о недостаточном объеме выборки. Тем не менее, показатели концентрации гемоглобина находились в пределах достаточных значений ($N > 40$ г/дозу), для соответствия требованиям действующего Технического регламента [5].

Выводы

Существующие критерии оценки ЛФ включают в себя, в основном, соответствие требованиям действующего Технического регламента [5], на практике дополняясь балансом субъективной оценки удобства использования систем персоналом ОПК и цены данной системы. С учетом все возрастающего количества предложений на рынке, этих критериев становится недостаточно, кроме того, выясняется, что использование систем разных типов как минимум приводит к необходимости уточнения учета потерь эритроцитных ТС на ЛФ. По результатам исследования становится ясно, что в инструкции производителей к ЛФ и рабочие инструкции по ЛД эритроцитных компонентов донорской крови необходимо включать дополнительный критерий – потерю объема в процессе ЛД, которая влечет за собой значимое снижение содержания гемоглобина.

Литература

1. *Жибурт, Е.Б., Голубева А.В., Мартынова М.В.* Неблагоприятные эффекты, связанные с лейкоцитами, при гемотрансфузиях в хирургии // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2001. №6. С. 35–42.

Конфликт интересов.

*«Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов» /
“Authors declare no conflict of interest”.*

А.Е. Беляев

Тел.: 8(812) 736-00-11

E-mail: opk15@mail.ru

Беляев А.Е., Мироненко А.Н., Платонов С.М. Влияние различных типов лейкоцитарных фильтров на эритроцитные компоненты донорской крови при их лейкодеплеции на этапе производства // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2015. – Том 7, № 3. – С. 49–53.

2. *Колосков, А.В.* Иммуные негемолитические реакции и осложнения гемотрансфузий // Гематология и трансфузиология. 2004. Т. 49. №3. С. 35–42.

3. *Кузнецова, Ю.В.* Обзор научной литературы по проблеме удаления лейкоцитов из донорской плазмы // Трансфузиология. 2005. №2. С. 108–114.

4. *Максимов, В.А.* Инфекционная и антиагрегационная безопасность крови и ее компонентов // Главврач. Ежемесячный научно-практический журнал. 2008. №11. С.45–50.

5. Постановление Правительства РФ от 26 января 2010 г. № 29 «Об утверждении технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии» // Российская газета. 29.01.2010 г.

6. *Суханов, Ю.С., Максимов В.А.* Лейкофльтрация и карантинизация плазмы донорской крови // Вестник службы крови России. 2003. №3. С.12-14.

7. Техническое руководство Американской Ассоциации Банков Крови // пер. с англ. Милан: Европейская школа трансфузионной медицины. 2000. С 611-612.

8. *Blajchman, M.A., Vamvakas E.C.* The Continuing Risk of Transfusion-Transmitted Infections // The N. Eng. J. of Med. 2006. V.355 (13). P.1303-1305.

9. *Dodd, R.Y.* Current Risk for Transfusion-Transmitted Infections // Curr. Opin. Hematol. 2007. V.14 (6). P.671-676.

EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF LEUKOCYTE FILTERS ON ERYTHROCYTE DONOR BLOOD PRODUCTS AT THEY PRODUCTION STAGE LEUKODEPLETION

Belyaev A.E., Mironenko A.N., Platonov S.M.
City hospital №15, Saint-Petersburg, Russia

Objective: To evaluate the side effects of “production” leukofilters (LF) on filtering blood components, in particular - determine the degree of loss of hemoglobin at leukodepletion (LD) of erythrocyte blood components with various types of LF. The study of this parameter is necessary for determining reasonable criteria for selecting the type LF for everyday work in the production of red blood cell suspension (RBC'S), which would be most consistent with the concept of the “ideal”. Materials and Methods: Blood systems «Leukotrap RCPL» (production of «Pall Medical», USA) with integrated LF and «Demotec» (production of «Demophorius», Cyprus), which fluster LF “Leykosep» (production Company NLP «Interoko», Russia) were used for collection of donor blood. Results and discussion: 22 samples of leukodepleted RBC'S with LF “Leykosep” and 20 samples of RBC'S after LF «Pall» were examined for. Prior to the LD groups were quite comparable. The process of executing the LD leads to a significant reduction in the volume of the container contents and, accordingly, the loss of hemoglobin in the system with a reduction of its content in a dose of RBC'S. However, indicators of volume loss and reduction of hemoglobin in the “Interoko” group were significantly greater than in the group «Pall», which appear to be associated with the design of the LF. Accordingly, in the group “Interoko” amount of hemoglobin per dose of RBC'S was significantly less than in the group «Pall». At the same time revealed the difference between the groups in hemoglobin concentration after LD was on the damage trend without reaching statistical significance ($p = 0.053$), which may indicate an insufficient value of groups. However, indicators of hemoglobin concentration were within adequate values ($N > 40$ g / dose) to meet the requirements of Technical regulations. Conclusions: Given the increasing number of proposals on the market LF existing assessment criteria (subjective convenience for staff, the producer price) becomes clearly insufficient, moreover it turns out that the use of different types of systems at least makes it necessary to clarify the accounting for losses of erythrocyte blood products in the LF. The study makes it clear that the manufacturer's instructions to the LF and work instructions for the LD of erythrocyte blood components should include additional criteria - a loss of volume in the LF, which entails a significant reduction in hemoglobin content.

Keywords: Leukocyte filter, leukodepletion, erythrocyte blood components, donor blood, hemoglobin loss.

Authors

Belyaev A.E.
Tel.: 8(812) 736-00-11
E-mail: opk15@mail.ru

Belyaev A.E., Mironenko A.N., Platonov S.M. Effect of different types of leukocyte filters on erythrocyte donor blood products at they production stage leukodepletion // Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov. – 2015. – Vol. 7, № 3 – P. 49–53.