

System Reveos — alternatywa w otrzymywaniu zlewanych koncentratów krwinek płytkowych

Reveos system — an Alternative in Pooled Platelet Concentrate Production

Paweł Szykuła¹, Kamil Stawicki², Dioniza Marciniak-Bielak³

¹Dział Preparatyki Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi

²Dział Zapewnienia Jakości Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi

³Zastępca Dyrektora ds. medycznych Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi

Streszczenie

Wstęp: Szerokie zastosowanie koncentratów krwinek płytkowych (KKP) w medycynie sprawiło, że istnieje duże zainteresowanie tymi składnikami zarówno wśród lekarzy, pracowników Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa, szczególnie przygotowujących KKP, jak i instytucji opracowujących i wdrażających nowe metody ich otrzymywania.

Celem niniejszej pracy jest zaprezentowanie parametrów ilościowych i jakościowych zlewanych ubogoleukocytarnych koncentratów krwinek płytkowych (zl. UKKP) uzyskanych z tymczasowych koncentratów krwinek płytkowych (TKKP, IPU, interim platelet unit) za pomocą systemu Reveos oraz ich porównanie ze składnikami otrzymywanymi z kożuszków leukocytarno-płytkowych metodą manualną i za pomocą systemu OrbiSac.

Materiał i metody: Każdą z 3 metod uzyskano 12 zl. UKKP zawieszonych w osoczu i 12 zl. UKKP zawieszonych w roztworze wzbogacającym (RW). Zlewane ubogoleukocytarne koncentraty krwinek płytkowych otrzymywano zależnie od metody z 5 kożuszków leukocytarno-płytkowych lub TKKP. Ocenie poddano objętość, liczbę krwinek płytkowych, liczbę leukocytów i wartość pH uzyskanych UKKP.

Wyniki: Wartość hematokrytu kożuszków leukocytarno-płytkowych wynosiła $55,3 \pm 3,8\%$. Charakteryzowały się one o ponad 60% większą średnią objętością od średniej objętości TKKP. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w liczbie płytek pomiędzy kożuszkami leukocytarno-płytkowymi a TKKP, zarówno w przypadku wartości zmierzonych, jak i oszacowanych przez urządzenie Reveos. Współczynnik korelacji (0,91) wskazuje na silną dodatnią korelację pomiędzy wskazaniem urządzenia a oznaczoną liczbą krwinek płytkowych. Wszystkie składniki po filtracji zawierały poniżej 1×10^6 leukocytów/preparat. Można je zakwalifikować jako składniki ubogoleukocytarne. Wartość pH w piątym dniu przechowywania zl. UKKP w każdym składniku wynosiła pomiędzy 7,1 a 7,4.

Wnioski: Zlewane ubogoleukocytarne koncentraty krwinek płytkowych przygotowane z wykorzystaniem TKKP za pomocą systemu Reveos nie różnią się od składników przygotowanych innymi metodami. System Reveos jest dobrą alternatywą dla klasycznych metod pozyskiwania zl. UKKP, a nawet w przypadku wykorzystania możliwości selekcji TKKP pomaga usprawnić przygotowanie składników.

Słowa kluczowe: koncentrat krwinek płytkowych, Reveos, tymczasowy koncentrat krwinek płytkowych, automatyzacja

J. Transf. Med. 2017; 10: 130–137

Abstract

Introduction: *Due to broad application of platelet concentrates in medicine there is growing interest in those products among specialists in transfusion medicine, employees of the Regional Blood Transfusion Centres as well as institutions that develop and implement new methods of obtaining platelet concentrates.*

The objective of this work is to present the quantitative and qualitative parameters of leukoreduced pooled platelet concentrates obtained from interim platelet units (IPU) by use of the Reveos system and their comparison with products obtained from buffy coats manually and by use of the OrbiSac system.

Material and methods: *Each of the 3 methods was used to obtain 12 platelet concentrates in plasma and 12 platelet concentrates in platelet additive solution (PAS). Platelet concentrates were obtained, depending on the method, using 5 buffy coats or 5 IPU. The parameters addressed were: volume, platelet count, leukocyte count and pH value of the platelet concentrates obtained.*

Results: *The value of buffy coat haematocrit was $55.3 \pm 3.8\%$. Their average volume was over 60% higher than the average IPU volume. There were no statistically significant differences in the platelet count between buffy coats and IPU, both in the case of measured values and values estimated by Reveos. The correlation coefficient (0.91) points to a strong positive correlation between device indications and the determined platelet count. After filtration all the products contained less than 1×10^6 of leucocytes/unit. They may be qualified as leukoreduced products. pH on the fifth day of platelet concentrates storage in every product was between 7.1–7.4.*

Conclusions: *LPC (leukocytereduced platelet concentrate) prepared with the use of IPU from Reveos are not different from products prepared by use of other methods. The Reveos system is a good alternative for the standard methods of LPC production, and moreover, with the use of IPU selection, the preparation process is improved.*

Key words: platelet concentrate, Reveos, interim platelet unit, automation

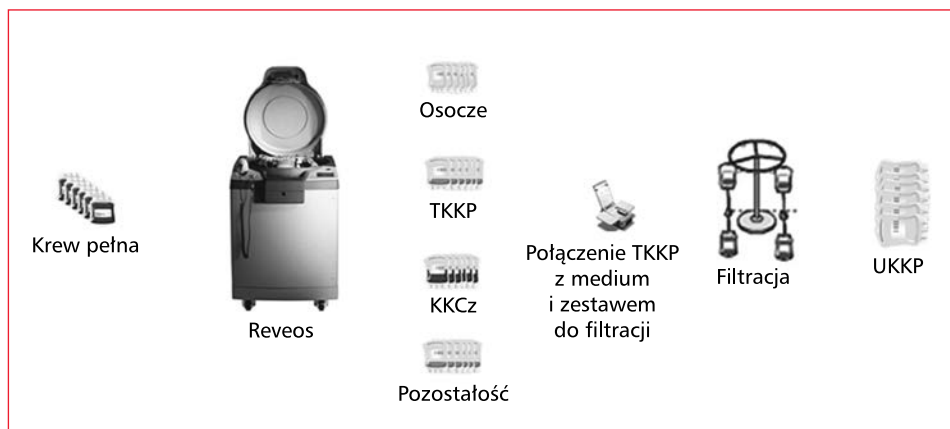
J. Transf. Med. 2017; 10: 130–137

Wstęp

Płytki krwi odgrywają ważną rolę w hemostycznych procesach uszczelniania uszkodzonych naczyń krwionośnych, tworząc czopy płytkowe zapobiegające utracie krwi. W transfuzjologii klinicznej koncentraty krwinek płytkowych były pierwotnie stosowane do leczenia i zapobiegania trombocytopenii spowodowanej aplazją szpiku, ostrą białaczką lub znaczną utratą krwi podczas długotrwałego zabiegu. Największą grupę biorców koncentratów krwinek płytkowych stanowią pacjenci onkologiczni [1]. Płytki krwi zawierają duże ilości czynników wzrostu (m.in. płytkowy czynnik wzrostu PDGF), dzięki czemu mogą one stymulować angiogenezę i promować szybszą naprawę tkanek. W związku z tym preparaty krwinek płytkowych są wykorzystywane między innymi w chirurgii szczękowo-twarzowej, chirurgii plastycznej, okulistyce, ortopedii itp. [2–4].

Głównymi dostawcami koncentratów krwinek płytkowych (KKP) do użytku klinicznego są Regionalne Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK). W RCKiK są wykorzystywane różne metody otrzymywania koncentratów krwinek płytkowych (KKP), które można uzyskać metodą automatycznej trombaferazy od jednego dawcy, z osocza bogatopłytkowego lub poprzez zlanie krwinek płytkowych pochodzących z odwirowanej krwi pełnej od kilku dawców. Koncentraty krwinek płytkowych pochodzące z krwi pełnej można przygotować, wykorzystując metodę manualną lub automatyczną z wykorzystaniem systemu OrbiSac.

Manualna metoda otrzymywania KKP jest techniką wykorzystującą kożuski leukocytarno-płytkowe otrzymane poprzez odwirowanie krwi pełnej, a następnie jej rozdział na składniki krwi [5]. Jedną z uzyskanych po rozdziale frakcji krwi stanowi tzw. kożuszek leukocytarno-płytkowy, w skład którego wchodzi: płytki krwi, erytrocyty,



Rycina 1. Sposób otrzymywania UKKP zlewanych z TKKP uzyskanych z systemu Reveos (za zgodą Terumo BCT)

Figure 1. The method of production of platelet concentrates pooled from IPU's obtained from the Reveos system (with the consent of the Terumo BCT)

leukocyty oraz osocze. Wprowadzenie urządzenia OrbiSac, częściowo zastępującego pracę manualną, przyczyniło się do standaryzacji i optymalizacji otrzymywania zlewanych UKKP [6]. W przypadku systemu OrbiSac zautomatyzowano i połączono w jeden proces: etap zlewania kożuszków leukocytarno-plateletowych, ich mieszania z osoczem lub RW, etap wirowania i leukoredukcji.

W RCKiK w Łodzi w 2015 roku uzyskano 4665 ubogoleukocytarnych koncentratów krwinek plateletowych (UKKP), w tym 682 składniki z aferezy i 3982 z l. UKKP za pomocą systemu OrbiSac. Około 40% zlewanych UKKP stanowiły składniki zawieszane w RW, a 60% płytki krwi zawieszane w osoczu.

W 2016 roku system OrbiSac został wycofany z użytkowania. Podjęto decyzję o wdrożeniu innych metod pozyskiwania KKP. Jedną z metod alternatywnych poddanych walidacji była konwencjonalna metoda manualna, a drugą nowa na rynku metoda oparta na tymczasowych koncentratkach krwinek plateletowych (TKKP) pochodzących z krwi pełnej rozdzielonej w systemie Reveos (Terumo BCT).

System Reveos umożliwia automatyczny rozdział 4 jednostek krwi pełnej na koncentraty krwinek czerwonych, osocze i TKKP podczas jednego procesu (ryc. 1). Podczas separacji do oddzielnego pojemnika trafiają resztkowe leukocyty.

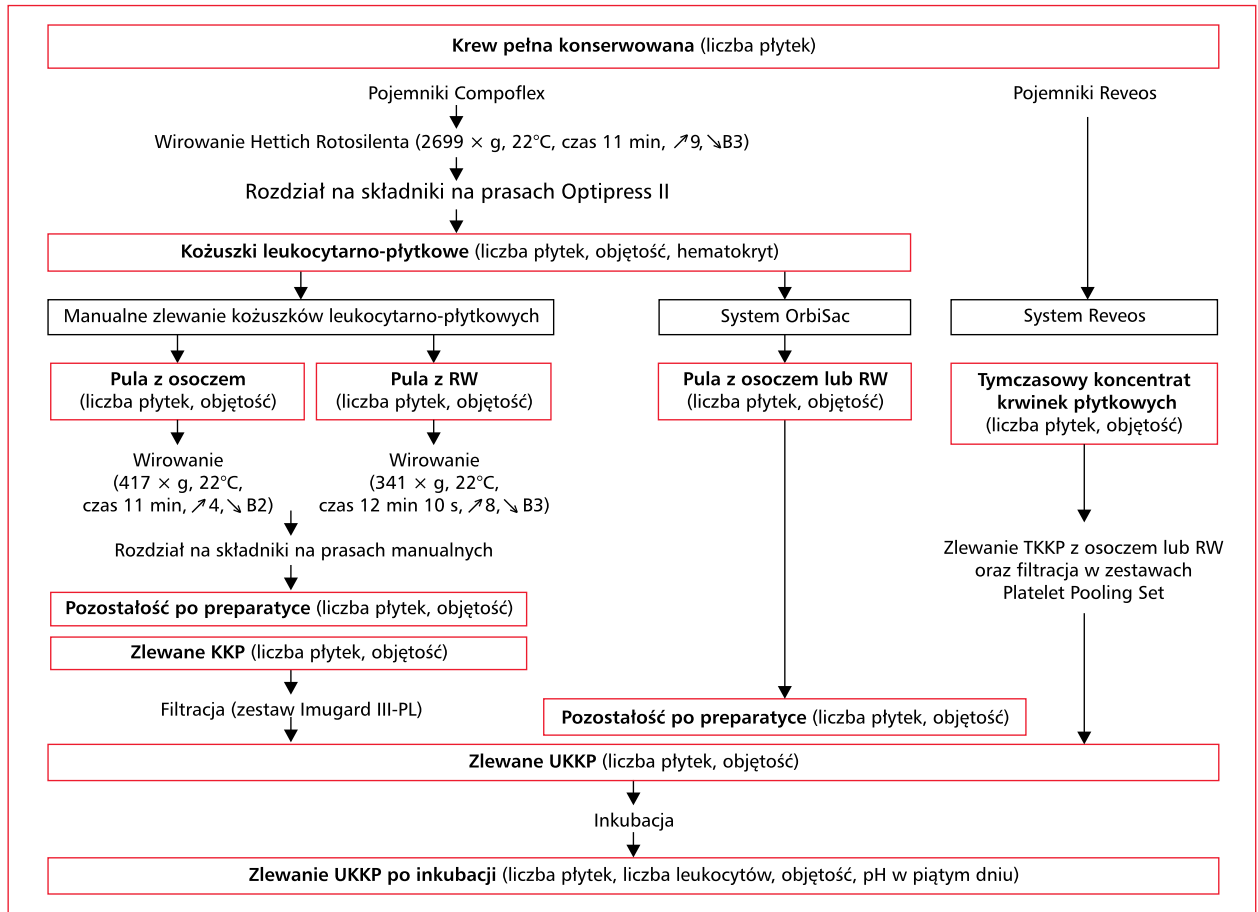
Uzyskane w procesie rozdziału tymczasowe jednostki KKP zawierają osocze, płytki krwi i leukocyty pochodzące z jednej donacji krwi [7]. Można je traktować jak kożuszków leukocytarno-plateletowe pozbawione erytrocytów. Tymczasowe koncentraty krwinek plateletowych wymagają zlania w odpowiednie pule, zawieszenia w osoczu lub RW oraz leukoredukcji. Zaletą systemu jest in-

formacja o uzyskanej szacunkowej liczbie płytek (PYI — indeks wydajności płytek) w TKKP zaraz po zakończeniu rozdziału, co umożliwia odpowiedni dobór TKKP do przygotowania zlewanych UKKP.

Kluczem do uzyskania wartościowych koncentratów plateletowych jest powtarzalne otrzymywanie dawki terapeutycznej KKP wolnej od zanieczyszczeń leukocytami, erytrocytami i agregatami. Istnieje wiele publikacji porównujących jakość i funkcjonalność KKP otrzymanych metodą manualną i przy użyciu systemu OrbiSac [8, 9]. Celem niniejszej pracy jest zaprezentowanie parametrów ilościowych i jakościowych zlewanych UKKP otrzymanego z TKKP oraz porównanie wyników tych oznaczeń ze składnikami otrzymywanymi innymi metodami wykorzystującymi kożuszków leukocytarno-plateletowe. Ponadto w pracy zebrano wyniki oznaczeń podstawowych parametrów krwi pełnej i składników przejściowych na różnych etapach uzyskiwania zlewanych UKKP.

Materiał i metody

Krew pełną ($450 \text{ ml} \pm 10\%$) pobierano od zdrowych dawców w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi. Jako antykoagulant zastosowano roztwór CPD (cytrynian, fosforan, glukoza). Preparatyka 360 jednostek krwi pełnej i otrzymywanie z l. UKKP odbywały się w Dziale Preparatyki RCKiK. Każdą z metod uzyskano 12 z l. UKKP zawieszonych w osoczu i 12 z l. UKKP zawieszonych w RW (TPAS+, *Terumo Platelet Additive Solution*, Terumo BCT). Zlewane ubogoleukocytarne koncentraty krwinek plateletowych otrzymywano z 5 kożuszków leukocytarno-plateletowych lub 5 TKKP dobranych pod względem zgodności



Rycina 2. Schemat postępowania podczas otrzymywania zlewaných KKP metodą manualną, za pomocą systemu OrbiSac i systemu Reveos. Na schemacie opisano, jakie oznaczenia wykonano dla poszczególných składników krwi

Figure 2. Process diagram for production platelet concentrates obtained manually, by use of the OrbiSac system and the Reveos system. The diagram shows what tests were done for the individual blood components

w układzie ABO i RhD. Osocze wykorzystane do otrzymania każdego składnika UKKP pochodziło od dawcy, którego kożuszek leukocyarno-płytkowy lub TKKP użyto do uzyskania danego zl. UKKP. Po otrzymaniu zlewanego UKKP w osoczu składnik inkubowano w spoczynku przez 30 min w temp. 20–24°C, a w RW przez 60 min. Następnie zl. UKKP zostały przeniesione na wytrząsarkę (60 cykli/min). Próbki zl. UKKP pobierano i analizowano po 30 min i 60 min wytrząsania odpowiednio dla UKKP w osoczu i RW. Pozostałe oznaczenia wykonywano bezpośrednio po uzyskaniu składnika.

Na rycinie 2 zaprezentowano schemat otrzymywania zlewaných UKKP stosowanymi metodami wraz z wyróżnieniem oznaczeń wykonanych na poszczególných etapach pracy. Liczbę krwinek płytkowych oznaczono przy użyciu analizatora hematologicznego CellDyn 1800 (Abbott), wykorzystując pomiar impedencji elektrycznej. Liczbę leukocytów oznaczono przy użyciu cytometru przepływowego FACS Calibur

(Becton Dickinson) metodą z jodkiem propidyny. Wartość pH zmierzono pH-metrem MetrOhm 744.

Metoda manualna

Krew pełną (120 jednostek) pobrano do pojemników Compoflex (Fresenius-Kabi), a następnie poddano leżakowaniu w temperaturze 20–24°C przez minimum 2 godziny. Krew pełną odwirowano (wirówka Rotosilenta firmy Hettich, 2699 x g, 22°C, czas 11 min, przyspieszenie 9, hamowanie B3) i rozdzielono na składniki za pomocą pras automatycznych Optipress II (Fenwall). Kożuski leukocyarno-płytkowe uzyskane podczas rozdziału przechowywano w temperaturze 20–24°C przez 12–24 godziny od godziny pobrania krwi pełnej.

Kožuski leukocyarno-płytkowe połączono szeregowo ze sobą i z osoczem (233–305 ml) lub RW (300 ml). Kożuski leukocyarno-płytkowe przelano do pojemnika odbiorczego, znajdującego

Tabela 1. Zestawienie średnich wartości liczby płytek krwi i średniej objętości wraz z odchyleniem standardowym podstawowych parametrów kożuszków leukocyarno-płytkowych i TKKP**Table 1.** The average platelet count and the average volume with standard deviation of the basic buffy coat and IPU parameters

	Kožuszek leukocyarno-płytkowy	TKKP	
		Z urządzenia Reveos	Badana w laboratorium
Liczba płytek $\times 10^{11}$	0,66 \pm 0,2	0,69 \pm 0,2	0,67 \pm 0,2
Objętość [ml]	64,9 \pm 3	39,6 \pm 3	38,4 \pm 2

się po przeciwnej stronie niż pojemnik z osoczem lub RW. Kolejne pojemniki po kożuszkach leukocyarno-płytkowych przemywano osoczem/RW, dzieląc je na trzy porcje. Do pojemnika zawierającego złane składniki dołączono pusty pojemnik transferowy o objętości 600 ml (JMS, nr REF 814-0611). Pojemniki zawierające złane składniki zawieszono w osoczu odwirowano w wirówce Rotosilenta firmy Hettich (417 \times g, 22°C, czas 11 min, przyspieszenie 4, hamowanie B2). Pojemniki zawierające złane składniki zawieszono w RW odwirowano w wirówce Rotosilenta firmy Hettich (341 \times g, 22°C, czas 12 min 10 s, przyspieszenie 8, hamowanie B3). Po odwirowaniu supernatant zawierający płytki krwi przeciętno za pomocą prasy manualnej (Fresenius) do pojemnika transferowego. Leukocyty usunięto za pomocą filtracji, wykorzystując zestaw Imugard III-PL (Terumo BCT, nr REF TF*IP1AS2DS).

Metoda OrbiSac

Krew pełną (120 jednostek) pobrano do pojemników Compoflex (Fresenius-Kabi), a następnie poddano leżakowaniu w temperaturze 20–24°C przez minimum 2 godziny. Krew pełną odwirowano (wirówka Rotosilenta firmy Hettich, 2699 \times g, 22°C, czas 11 min, przyspieszenie 9, hamowanie B3) i rozdzielono na składniki za pomocą pras automatycznych Optipress II (Fenwall). Kożuszki leukocyarno-płytkowe uzyskane podczas rozdziału przechowywano w temperaturze 20–24°C przez 12–24 godziny od godziny pobrania krwi pełnej. Kożuszki leukocyarno-płytkowe, osocze (233–305 ml) lub RW (250 ml) połączono z zestawem OrbiSac Standard BC Set (Terumo BCT, nr REF 50000) i poddano preparatyce za pomocą systemu OrbiSac.

Metoda Reveos

Krew pełną (120 jednostek) pobrano do pojemników Reveos (Terumo BCT, REF 20340), a następnie poddano leżakowaniu w temperaturze 20–24°C przez

minimum 2 godziny. Po tym czasie krew rozdzielono na składniki w systemie Reveos. Uzyskane w ten sposób tymczasowe KKP leżakowano w temperaturze 20–24°C przez jedną godzinę. Następnie TKKP przeniesiono do cieplarki (20–24°C), gdzie były wytrząsane (60 cykli/min). Tymczasowe koncentraty krwinek płytkowych połączono z osoczem (233–305 ml) lub RW (200 ml) i zestawem do zlewania i filtracji *Platelet Pooling Set* (Terumo BCT, REF 12Y15239) pomiędzy 18 a 24 godziną od pobrania donacji. Osocze lub RW przetoczono do pojemników z TKKP, a następnie składnik przefiltrowano.

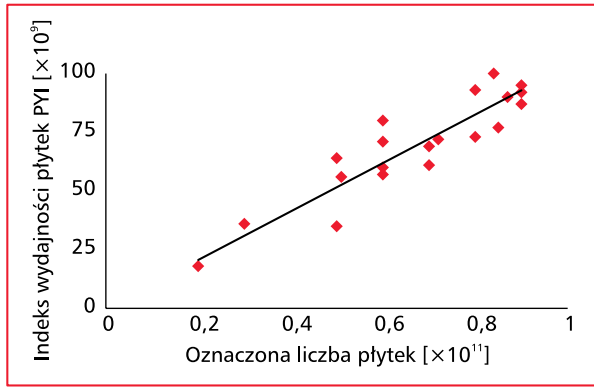
Wyniki

Wykonano oznaczenia liczby płytek krwi w krwi pełnej pobranej do pojemników Compoflex (metoda manualna i OrbiSac) oraz do pojemników przeznaczonych do systemu Reveos. Uzyskano średnio $0,95 \pm 0,16 \times 10^{11}$ płytek krwi w pojemnikach Compoflex oraz $0,93 \pm 0,3 \times 10^{11}$ płytek krwi w pojemnikach Reveos. Różnica między zawartością krwinek płytkowych w krwi pełnej pobranych do dwóch rodzajów pojemników nie była istotna statystycznie.

Oznaczono podstawowe parametry kożuszków leukocyarno-płytkowych oraz TKKP powstałych po rozdziale KPK na składniki (tab. 1). Wartość hematokrytu kożuszków wynosiła $55,3 \pm 3,8\%$. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w liczbie płytek pomiędzy kożuszkami leukocyarno-płytkowymi a TKKP, zarówno w przypadku wartości zmierzonych, jak i oszacowanych przez urządzenie Reveos. Kożuszki leukocyarno-płytkowe charakteryzowały się o ponad 60% większą średnią objętością od średniej objętości TKKP.

Na rycinie 3 przedstawiono zależność pomiędzy liczbą płytek krwi oznaczoną w laboratorium a PYI. Współczynnik korelacji Pearsona ($r = 0,91$) wskazuje na silną dodatnią korelację pomiędzy dwoma badanymi parametrami.

Dla porównywanych metod otrzymywania zlewanych KKP zbadano zawartość krwinek płyt-



Rycina 3. Zależność pomiędzy liczbą płytek krwi oznaczoną a indeksem wydajności płytek oszacowanym przez urządzenie Reveos

Figure 3. The relationship between determined platelet count and the platelet yield index as estimated by Reveos

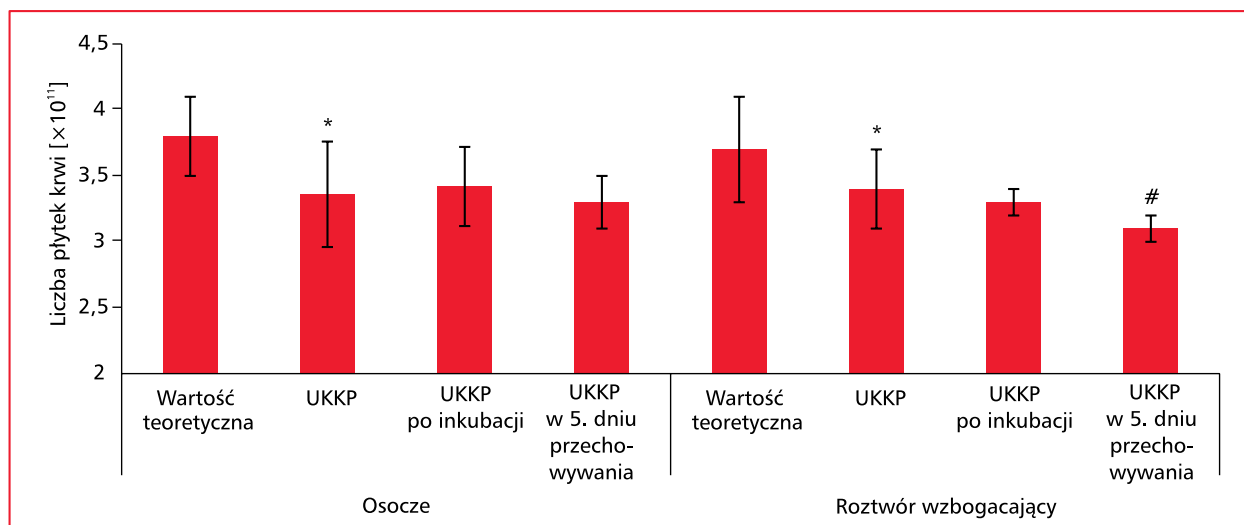
kowych i objętość na poszczególnych etapach otrzymywania, oddzielnie dla krwinek płytkowych zawieszonych w osoczu i RW (tab. 2). Średnia liczba płytek krwi w pulach z osoczem wynosiła $4,4 \times 10^{11}$ i $4,7 \times 10^{11}$ odpowiednio dla metody manualnej i metody OrbiSac. Natomiast średnia liczba płytek w pulach z RW wynosiła $4,4 \times 10^{11}$ i $4,8 \times 10^{11}$ odpowiednio dla metody manualnej i metody Orbisac. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy zawartością płytek krwi w złączonych pulach w metodzie manualnej i metodzie OrbiSac, zarówno w przypadku gdy płytki zawieszano w osoczu, jak i w RW. Średnia liczba płytek krwi w UKKP w osoczu po inkubacji wynosi $3,45 \times 10^{11}$, $3,42 \times 10^{11}$ oraz $3,42 \times 10^{11}$ odpowiednio dla metody manualnej, OrbiSac i Reveos. W przypadku metod manualnej i OrbiSac odzysk płytek wynosił odpowiednio 78 i 73%. Analogicznie średnia liczba płytek krwi w UKKP w RW po inkubacji wynosi $3,45 \times 10^{11}$, $3,22 \times 10^{11}$ oraz $3,3 \times 10^{11}$ odpowiednio dla metody manualnej, OrbiSac i Reveos. W przypadku metod manualnej i OrbiSac odzysk płytek wynosił odpowiednio 78% i 67%.

Różnice w mierzonej liczbie płytek w UKKP przed inkubacją i po inkubacji wynosiły poniżej 5%. Inkubacja UKKP nie wpłynęła w sposób istotny na zmierzoną zawartość krwinek płytkowych w przypadku żadnej z metod otrzymywania KKP zawieszonych w osoczu i RW. Dodatkowo w UKKP po inkubacji określono zawartość leukocytów i zmierzono pH w 5. dniu przechowywania. Wszystkie składniki po filtracji zawierały poniżej 1×10^6 leukocytów/preparat. Można je zakwalifikować jako składniki ubogoleukocytarne. Średnie wartości pH

Tabela 2. Średnie wartości liczby krwinek płytkowych, objętości, zawartości leukocytów i pH wraz z odchyleniem standardowym w zl. UKKP, etapach przejściowych i pozostatości po preparatyce

Table 2. The average values of platelet count, volume, leukocyte count and pH with standard deviation in LPC, intermediate products and post-production waste

Metoda pozyskiwania KKP	Medium	Pula złączonych kochów i medium		Pozostatość po preparatyce		KKP		UKKP		UKKP po inkubacji			
		Objętość [ml]	Płytki [$\times 10^{11}$]	Objętość [ml]	Płytki [$\times 10^{11}$]	Objętość [ml]	Płytki [$\times 10^{11}$]	Objętość [ml]	Płytki [$\times 10^{11}$]	Objętość [ml]	Płytki [$\times 10^6$]	Leukocyty [$\times 10^6$]	pH w 5. dniu
Manualna		575 ± 16,7	4,4 ± 0,4	275 ± 11,1	0,7 ± 0,1	290 ± 15,8	3,7 ± 0,3	280 ± 16,7	3,52 ± 0,3	280 ± 16,1	3,45 ± 0,3	0,1 ± 0,1	7,1 ± 0,1
OrbiSac	Osocze	620 ± 10,3	4,7 ± 0,6	301 ± 5,2	0,8 ± 0,1	xxx	xxx	315 ± 17,2	3,4 ± 0,4	314 ± 9,5	3,42 ± 0,3	0,03 ± 0,01	7,3 ± 0,2
Reveos		xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	288 ± 12,1	3,36 ± 0,5	283 ± 9,1	3,42 ± 0,3	0,3 ± 0,2	7,4 ± 0,1
Manualna		601 ± 11,5	4,4 ± 0,3	274 ± 11,5	1,0 ± 0,1	321 ± 9,3	4,4 ± 0,3	308 ± 9,5	3,52 ± 0,2	306 ± 9,5	3,45 ± 0,2	0,1 ± 0,05	7,1 ± 0,1
OrbiSac	RW	600 ± 12,1	4,8 ± 0,24	318 ± 4,3	0,97 ± 0,1	xxx	xxx	275 ± 5,8	3,2 ± 0,2	270 ± 4,9	3,22 ± 0,2	0,01 ± 0,01	7,2 ± 0,2
Reveos		xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	320 ± 15,3	3,4 ± 0,3	321 ± 4,1	3,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	7,4 ± 0,1



Rycina 4. Średnia wartość teoretyczna liczby krwinek płytkowych oraz średnie wartości zmierzone na różnych etapach otrzymywania zlewanego UKKP z TKKP. Na wykresie zaznaczono odchylenie standardowe (*, # $p < 0,05$)

Figure 4. The average theoretical platelet count and the average values measured at various stages of production of pooled platelet concentrates from IPU. The diagram shows the standard deviation (*, # $p < 0,05$)

w piątym dniu przechowywania UKKP mieściły się w granicach 7,1–7,4.

Porównano wartość teoretyczną liczby płytek krwi w składniku otrzymanym ze zlewanego TKKP podaną przez system Reveos z wartością zmierzoną. Wartość teoretyczna stanowiła sumę PYI wszystkich 5 TKKP wykorzystanych do otrzymywania zlewanego UKKP. Wartości uśrednione dla 12 składników przedstawiono na rycinie 4.

Wykazano istotnie statystyczną różnicę pomiędzy uśrednioną wartością teoretyczną liczby płytek krwi a średnią liczbą płytek krwi w składniku po filtracji zarówno w składnikach zawieszonych w osoczu, jak i w RW. Różnica ta jest spowodowana procesem filtracji, podczas którego $0,3\text{--}0,35 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych pozostawało na filtrze do usuwania leukocytów. Odnotowano niewielki spadek liczby krwinek płytkowych w 5. dniu przechowywania składników. Spadek ten był istotny statystycznie tylko w przypadku UKKP w RW ($p < 0,05$).

Dyskusja

W niniejszej pracy zaprezentowano sposób przygotowania zlewanego UKKP z wykorzystaniem tymczasowych KKP pochodzących z systemu Reveos. Uzyskane wyniki zestawiono z wynikami otrzymanymi podczas otrzymywania KKP metodą manualną i metodą Orbisac, które do zlewania wykorzystują kożuszki leukocytarno-płytkowe.

Nie wykazano znaczących różnic w liczbie płytek, leukocytów i pH w 5. dniu przechowywania w zlewanym UKKP w osoczu i UKKP w RW otrzymanych ocenianymi metodami. Wszystkie otrzymane składniki uzyskały dawkę terapeutyczną płytek krwi i mogą zostać zakwalifikowane do leczenia.

Wykazano, że TKKP powstający podczas rozdziału KPK na składniki w systemie Reveos nie różni się zawartością płytek krwi od klasycznego kożuszka leukocytarno-płytkowego. Natomiast różni się on znacznie objętością i brakiem widocznych krwinek czerwonych. Brak erytrocytów w TKKP powoduje, że nie ma potrzeby stosowania dodatkowego wirowania po zlanu składnika w celu oddzielenia krwinek czerwonych od krwinek płytkowych zawieszonych w medium. Mniejsza liczba czynności podczas preparatyki bez wątplenia wpływa na „kondycję” krwinek płytkowych.

Ponadto udowodniono, że szacowana liczba krwinek płytkowych prezentowana przez urządzenie jako PYI dobrze koreluje z wynikami oznaczeń laboratoryjnych. Daje to narzędzie, dzięki któremu można decydować, jaką liczbę krwinek płytkowych chcemy uzyskać w składniku końcowym. W metodzie do zlewania KKP wykorzystującej TKKP z systemu Reveos końcowa liczba krwinek płytkowych w składniku nie zależy od medium, w którym będą one zawieszane. Możliwość odpowiedniego doboru TKKP przed zlanem skład-

nika pozwala efektywniej zarządzać składnikami płytkowymi, ponieważ zostanie ograniczona ilość składników przekwalifikowywanych na mniejszą niż planowana liczba jednostek. Ten ogólnie znany problem dotyczył zwłaszcza KKP zawieszonych w roztworze wzbogacającym. Wartość teoretyczna powstała z zsumowania PYI użytych do zlewania TKKP pomniejszona o $0,35 \times 10^{11}$ daje realną liczbę krwinek płytkowych w końcowym składniku. Korekta liczby krwinek płytkowych odpowiada liczbie krwinek płytkowych zatrzymanej podczas filtracji leukocytów.

Inkubacja i następnie wytrząsanie po uzyskaniu składników nie wpłynęło w sposób istotny na liczbę krwinek płytkowych. Stąd wniosek, że próbki do badań ilościowych komórek płytkowych mogą być pobierane bezpośrednio po zakończeniu filtracji.

Wykazano niewielki spadek liczby krwinek płytkowych w 5. dniu przechowywania, który jest charakterystyczny dla składników otrzymywanych wszystkimi obecnie stosowanymi metodami [10].

Końcowa objętość składników zlewanych wszystkimi testowanymi metodami, liczba krwinek płytkowych, liczba leukocytów i pH w 5. dniu przechowywania są ze sobą porównywalne. Monge i wsp. uzyskali UKKP otrzymane w systemie Reveos o podobnych parametrach jakościowych (średnia objętość $302,9 \text{ ml} \pm 16,3$, zawartość krwinek płytkowych $3,68 \times 10^{11}$, pH $7,24 \pm 0,08$) [11]. Ponadto autorzy oszacowali swirling na $2,8 \pm 0,4$ (w skali 0–4).

Johnson i wsp. podają, że parametry KKP uzyskane ze zlaných TKKP, takie jak pH, zawartość glukozy, metabolizm mleczanów, ekspresja fosfatydyloseryny czy odpowiedź na szok hipotoniczny, są porównywalne z parametrami UKKP otrzymywanych innymi metodami [12]. Autorzy zaobserwowali natomiast podwyższony poziom markerów aktywności płytek (CD62P i poziom cytokin). Sugeruje się, że na podwyższony poziom wyżej wymienionych markerów może mieć wpływ wykorzystanie podczas leukoredukcji innych filtrów czy przechowywanie UKKP w innych pojemnikach niż w przypadku UKKP z grupy referencyjnej.

Uzyskane składniki krwi spełniają kryteria akceptacji obowiązujące przy otrzymywaniu zlewanych koncentratów krwinek płytkowych [13]. Dla każdego z otrzymanych składników zostały spełnione Wytoczne Rady Europy dotyczące wartości pH mierzonej w 5. dniu przechowywania ($\text{pH} \geq 6,4$) [14].

Wnioski

Wyniki badań kontroli jakości otrzymane w RCKiK w Łodzi oraz zebrane dane z piśmiennictwa świadczą o tym, że wykorzystanie TKKP z systemu Reveos może być dobrą alternatywą dla dotychczas wykorzystywanych metod otrzymywania zlewanych UKKP.

Piśmiennictwo

1. Łętowska M, Rosiek A. Stosowanie komórkowych składników krwi w onkologii. *Onkol Prakt Klin.* 2006; 2(1): 6–17.
2. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013; 4(3): 67, doi: 10.1186/scrt218, indexed in Pubmed: 23759113.
3. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009; 27(3): 158–167, doi: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009, indexed in Pubmed: 19187989.
4. Jameson C. Autologous Platelet Concentrate for the Production of Platelet Gel. *Laboratory Medicine.* 2007; 38(1): 39–42, doi: 10.1309/3ua5hwyvknce01ar.
5. Janetzko K, Klüter H, van Waeg G, et al. Fully automated processing of buffy-coat-derived pooled platelet concentrates. *Transfusion.* 2004; 44(7): 1052–1058, doi: 10.1111/j.1537-2995.2004.03296.x, indexed in Pubmed: 15225247.
6. Antoniewicz-Papis J, Lachert E, Rosiek A. Otrzymywanie metodą automatyczną zlewanych koncentratów krwinek płytkowych J. *Transf Med.* 2010; 2: 49–54.
7. Lagerberg JW, Salado-Jimena JA, Löf H, et al. Evaluation of the quality of blood components obtained after automated separation of whole blood by a new multiunit processor. *Transfusion.* 2013; 53(8): 1798–1807, doi: 10.1111/trf.12010, indexed in Pubmed: 23228178.
8. Chicchi R, Biguzzi R, Santarelli R. The OrbiSac system: results and organizational impact. *Blood Transfus.* 2007; 5(1): 15–19, doi: 10.2450/2007.0010-05, indexed in Pubmed: 19204746.
9. Janetzko K, Klüter H, van Waeg G, et al. Fully automated processing of buffy-coat-derived pooled platelet concentrates. *Transfusion.* 2004; 44(7): 1052–1058, doi: 10.1111/j.1537-2995.2004.03296.x, indexed in Pubmed: 15225247.
10. van der Meer PF. PAS or plasma for storage of platelets? A concise review. *Transfus Med.* 2016; 26(5): 339–342, doi: 10.1111/tme.12325, indexed in Pubmed: 27273164.
11. Monge R, Perez V, Azakarte A, et al. Quality of blood component using the Reveos automatem blood processng system. *Vox Sanguinis.* 2013; 105: 11–12.
12. Johnson L, Winter KM, Kwok M, et al. Evaluation of the quality of blood components prepared using the Reveos automated blood processing system. *Vox Sang.* 2013; 105(3): 225–235, doi: 10.1111/vox.12051, indexed in Pubmed: 23713603.
13. Łętowska M. Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi. Wydanie III. ; 2014.
14. Council of Europe: Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Strasbourg, Council of Europe Press. ; 2008.