

**ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
«РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГОВ»**

**ДОНОРСКАЯ КРОВЬ И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ: ХАРАКТЕРИСТИКИ
И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА. XVII. ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ
СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ**

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ
№ 17, дата принятия 01.04.2005

Предисловие

Российская ассоциация трансфузиологов (РАТ) – общероссийская общественная организация, созданная 15 сентября 2003 года с целью содействия реализации творческого потенциала членов ассоциации в интересах решения актуальных теоретических, научно-практических, организационных, технологических, учебно-методических и социальных задач развития трансфузионной медицины (зарегистрирована Минюстом России 13 октября 2003 года №4279).

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по стандартизации в Российской ассоциация трансфузиологов определены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ "О техническом регулировании".

Сведения о стандарте

1. Разработан рабочей группой РАТ.
2. Внесен рабочей группой РАТ
3. Принят Советом РАТ, протокол № 17 от 1 апреля 2005 г.
За принятие стандарта проголосовали: единогласно.
4. Введен впервые
5. Издан 1 апреля 2005 г.

**ДОНОРСКАЯ КРОВЬ И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ: ХАРАКТЕРИСТИКИ
И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА. XVII. ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ
СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ**

Область применения

Настоящий стандарт распространяется на гемопоэтические стволовые клетки человека, предназначенные для инфузии, разделения на компоненты или другого применения в медицинских целях и устанавливает ее основные характеристики и контроль качества.

Термины и определения

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) - первичные плюрипотентные клетки, способные к самовоспроизведению, а также к дифференцировке и созреванию во все ростки кроветворения. Они располагаются в костном мозге (клетки костного мозга), печени плода, во фракции мононуклеаров циркулирующей крови (стволовые клетки периферической крови) и в пуповинной крови (стволовые клетки пуповинной крови).

Заготовка ГСК (из всех четырех источников) имеет целью обеспечение успешного приживления гемопоэтических стволовых клеток, ведущего к восстановлению всех видов клеток крови до нормального уровня и функции у реципиентов. Переливаются ГСК, заготовленные от реципиента или другого индивидуума.

Свойства

Размеры и плотность ГСК из различных источников подобны мононуклеарным клеткам цельной крови. ГСК распознаются по их колониеобразующей способности *in vitro* и по поверхностным антигенным маркерам. Мембранный маркер CD34 общепринят для успешного выделения/очищения ГСК и повседневно используется как показатель при контроле качества приготовления.

ГСК - короткоживущие в культуральной среде *in vitro*; криоконсервирование (ниже -120°C) позволяет хранить ГСК длительный период времени.

Количество мононуклеарных клеток должно быть достаточно для успешного приживления у реципиента.

Методы заготовки и приготовления

Все донорские процедуры должны быть направлены на получение ГСК как клинически эффективного гемокомпонента, а также должны быть согласованы с установками медицинской этики и исполняться с информированного согласия донора.

А. Аллогенная трансплантация:

Все требования к отбору донора и лабораторному тестированию аналогичны таковым для доноров цельной крови, доноров цитафереза, с добавлением полного HLA-типирования. Если донор не отвечает этим критериям, отклонения разрешаются только после документированного допуска врачом донора и врачом реципиента.

В. Аутологичная трансплантация:

При наличии у пациента каких-либо маркеров гемотрансмиссивных инфекций весь персонал, участвующий в тестировании, заготовке, приготовлении и хранении ГСК, должен быть информирован перед началом работы. При хранении должно быть обеспечено отсутствие возможности контаминации других компонентов. Все контейнеры и материалы, непосредственно контактирующие с биоматериалом, относящимся к заготовке таких ГСК, должны быть промаркированы как биоопасные или уничтожены как опасный материал.

С. Типы приготовления

Очистка компонентов, при наличии показаний, может включать: удаление гранулоцитов и эритроцитов; снижение/элиминацию опухолевых клеток, контаминирующих аутологичные ГСК; снижение количества Т-лимфоцитов в аллогенных ГСК для минимизации риска болезни «трансплантат против хозяина».

Очищение и *in vitro* экспансия (наращивание) - технологии, которые иногда применяют для получения высокой чистоты или повышенного количества клеток-предшественников в конечном компоненте.

- Костный мозг

Костный мозг заготавливают, аспирируя клетки из полостей губчатых костей. Дальнейшее очищение состоит из удаления фрагментов кости фильтрацией и изоляции лейкоцитарного слоя (buffy-coat) после центрифугирования.

- Стволовые клетки периферической крови

Стволовые клетки периферической крови отбираются как мононуклеары при цитаферезе. Количество ГСК, полученных из периферической крови, достаточно только для успешной аутологичной трансплантации, при условии назначения пациенту факторов роста перед донацией. Общепринятая минимальная доза для успешной трансплантации – 2×10^6 CD34+ клеток /кг массы тела реципиента.

- Пуповинная кровь

Пуповинные стволовые клетки выделяются из свежей плаценты через вену пуповины.

- Печень плода

Печень плода исключается из рассмотрения.

Криоконсервирование и оттаивание

Криоконсервирование - общепринятая часть приготовления ГСК вследствие того, что в период между сбором и трансфузией происходит особый курс лечения реципиента.

Клетки суспендируют в среде, содержащей криопротектор (диметилсульфоксид, ДМСО) и белок (аутологичная плазма/альбумин), замораживают в криоконтейнерах с контролируемой скоростью -1°C в минуту и хранят в парах жидкого азота. Надежная система маркировки – необходимый элемент для идентификации доз в низкотемпературном хранилище.

Замороженные ГСК оттаивают, помещивая при температуре $+37 - +42^\circ\text{C}$, при продолжающемся покачивании производят немедленное переливание. Отмывание, ультрафильтрация оттаянного продукта или использование другого криопротектора возможны как дальнейшее развитие технологии для уменьшения токсичности ДМСО.

Референс-образцы ГСК следует подвергать криоконсервированию и использовать для контроля качества. Система контроля хранилища должна позволять устанавливать и возвращать обратно компонент и его референс-образец.

Маркировка

Этикетка образца должна содержать по крайней мере следующую информацию:

- наименование компонента: костный мозг, периферическая стволовая клетка или доза пуповинной крови;
 - идентификация производителя (текст или код);
 - дата заготовки;
 - приблизительный объем контейнера;
 - наименование и объемы антикоагулянтов или других дополнительных веществ;
 - идентификация донора;
 - данные предполагаемого реципиента;
- перед выдачей к предыдущим данным следует добавить:
- идентификацию и дату процедур обработки, выполненных в необходимых случаях;
 - температура хранения;
 - при аллогенной трансплантации АВО и Rh-принадлежность, а при обнаружении – наличие иррегулярных антител;
 - при аутологичной трансплантации этикетка должна содержать надпись “Только для аутологичного использования”;
 - этикетка должна указывать на биологическую опасность, если у донора выявлен какой-либо положительный маркер инфекционной болезни.

Хранение и стабильность

ГСК обычно хранятся в замороженном состоянии при температуре в диапазоне -80 - -196 °С, как рекомендовано для используемого криопротектора.

Система контроля хранилища должна позволять определить местонахождение любого компонента или образца для контроля качества этого компонента.

Стволовые клетки периферической крови с каким-либо маркером инфекционной болезни должны храниться отдельно.

Контроль качества

Как показано в таблице 17.

Таблица 17. Контроль качества

Контролируемый параметр	Требование к качеству	Частота контроля	Исполнитель
АВО Rh(D) - аллогенные	типирование	все донации	Серологическая лаборатория
HLA - аллогенные	типирование	все донации	HLA лаборатория
анти-ВИЧ-1/2 и p24	Негативный *	все донации	Лаборатория скрининга
HBsAg	Негативный *	все донации	Лаборатория скрининга
Анти-ВГС	Негативный *	все донации	Лаборатория скрининга
Сифилис (когда	Негативный *	все донации	Лаборатория скрининга

требуется)			
Жизнеспособность лейкоцитов	>80%	все донации	Гематологическая лаборатория
Стерильность	стерильно	все донации	Лаборатория скрининга

Примечание: * - исследование проводится методом, специально одобренным для обследования доноров

Время трансплантации определяется как число дней, необходимых для достижения содержания клеток в периферической крови пациента $>0,5 \times 10^9$ гранулоцитов/л и $>20 \times 10^9$ тромбоцитов/л.

Обзор количества клеток и жизнеспособность лейкоцитов совместно с обзором времени трансплантации составит компонент контроля качества заготовки ГСК, их обработки и криоконсервирования.

Для любых процедур, подразумевающихся как часть приготовления ГСК, должны выполняться соответствующие и утвержденные исследования.

Транспортировка

При транспортировке криоконсервированных ГСК температура должна быть ниже -120°C ; следовательно доза должна храниться в контейнере с парами жидкого азота; первичный контейнер должен быть помещен во второй, из непронускающего испарение азота материала. Контейнер должен иметь этикетки с надписями “Не просвечивать рентгеновскими лучами”, “Хранить замороженным”, “Неустойчивый уникальный материал для трансфузии человеку” и “Экстренный транспорт”. Адрес транспортировки должен быть четко написанным и легко читаемым и размещаться по крайней мере с двух сторон пакета.

Показания к применению

Аплазия гемопоэтической ткани вследствие заболевания или после высокодозной химиотерапии и/или радиотерапии и при некоторых врожденных заболеваниях.

Предосторожности при использовании

ГСК компоненты нельзя облучать и использовать лейкоцитарные фильтры, даже в процессе переливания.

Побочные эффекты

- негемолитические трансфузионные реакции (лихорадка, озноб, крапивница);
- риск передачи вирусной или бактериальной инфекции;
- токсичность реагентов, используемых при криоконсервировании, т.е. ДМСО, животных антигенов;
- болезнь «трансплантат против хозяина» при аллогенных трансфузиях;
- сепсис в случае бактериальной контаминации;
- гемолитические трансфузионные реакции.

Записи

Учетные документы должны содержать:

- Ф.И.О. донора и реципиента до и после трансплантации;

- приготовление, процедуры и протоколы;
- тесты на совместимость;
- тесты качества;
- хранение и транспортировку;
- инфузию и возможные побочные реакции;
- окончательное размещение продукта, задействованные организации и персонал.