



Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
«Кировский научно-исследовательский институт
гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства»

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

Методика снижения токсичности ограджающего раствора ДМСО
при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток

РАЗРАБОТАЛ

Ведущий научный сотрудник
лаборатории клеточных технологий

дата: 31.10.18 подпись: С.В. Утемов

СТО-ТП-21-009

СОГЛАСОВАЛ

Заведующий лабораторией клеточных технологий

дата: 31.10.18 подпись: К.А. Ветошкин

Дата введения: 31.10.2018

СОГЛАСОВАЛ

Заместитель директора по лечебной работе

дата: 31.10.18 подпись: Н.В. Минаева

Дата пересмотра: 31.10.2023

СОГЛАСОВАЛ

Заместитель директора по научной работе

дата: 31.10.2018 подпись: А.В. Рылов

Версия I

С. 1/10

СОГЛАСОВАЛ

Заведующий
отделением трансфузиологии и процессинга ГСК

дата: 31.10.18 подпись: Ф.С. Шерстнев

ОРИГИНАЛ Экземпляр №1

СОГЛАСОВАЛ

Начальник отдела обеспечения качества

дата: 31.10.2018 подпись: Е.Н. Калинина

УТВЕРДИЛ

Директор

дата: 31.10.18 подпись: И.В. Парамонов

Место для штампа

ВНИМАНИЕ!

Этот документ разрешен к использованию до вступления в силу следующей версии.
Использование отмененных или устаревших документов запрещается.
Ответственность по проверке действительности данного документа
перед каждым его использованием возлагается на пользователя.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Настоящий документ разработан и предназначен для пользования работниками
ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.
Пользователь документа не имеет права передавать документ лицам,
не являющимся работниками ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 2/10

Содержание

1	Цель.....	3
2	Область применения	3
3	Ответственность.....	3
4	Определения и термины.....	3
5	Сокращения.....	4
6	Порядок выполнения процедуры.....	4
7	История документа.....	8
	Лист ознакомления.....	9
	Лист рассылки.....	10

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 3/10

1 ЦЕЛЬ

1.1 Настоящий стандарт регламентирует процесс снижения токсичности ограждающего раствора диметилсульфоксида (далее – ДМСО) при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток (далее – ГСК) и устанавливает единый порядок действий медицинского персонала.

2 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

2.1 Стандарт организации «Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток» относится к разряду внутренних документов системы менеджмента качества ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России (далее – Учреждение).

2.2 Требования стандарта обязательны для применения во всех подразделениях института в части их деятельности, связанной с клиническим применением криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток.

3 ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

3.1 Ответственность за разработку, оформление, своевременную актуализацию настоящего документа несут разработчики.

3.2 Ответственность за выполнение требований настоящего документа несут все работники Учреждения, задействованные в процессе клинического применения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток (сотрудники лаборатории клеточных технологий, отделения трансфузиологии и процессинга ГСК, отделения химиотерапии и трансплантации костного мозга).

3.3 Контроль за соблюдением требований настоящего документа возлагается на заместителя директора по лечебной работе.

3.4 Заместитель директора по лечебной работе непосредственно организует и руководит процессом, регламентированным настоящим стандартом, и несет личную ответственность за состояние и результаты работы, в т.ч. координацию, обеспечение и контроль работы подведомственных ему подразделений.

4 ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ТЕРМИНЫ

- Альбумин – белок плазмы крови человека, молекулярная масса 69000 дальтон, форма выпуска – 10% раствор.

- Диметилсульфоксид – химическое вещество с формулой $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, бесцветная жидкость, растворитель; криопротектор внутриклеточного типа действия.

- Полиглюкин – природный полисахарид, декстран, средняя молекулярная масса от 50000 до 70000 дальтон; криопротектор внеклеточного типа действия.

- Криоконсервант – раствор, включающий один или несколько криопротекторов разнонаправленного типа действия, а также дополнительные вещества, способствующие поддержанию метаболизма и сохранению функционального состояния клеток при введении в криоанабиоз и после выхода из него.

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 4/10

Криопротектор – вещество, которое при добавлении в замораживаемую биосреду способно защищать клетки от многочисленных вне- и внутриклеточных факторов криоповреждения.

5 СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

АутоТГСК – аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток;

ГСК – гемопоэтические стволовые клетки;

ДМСО – диметилсульфоксид;

ПК – периферическая кровь;

ЯСК – ядродержащие клетки.

6 ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

6.1 Цель процесса

Цель процесса заключается в уменьшении (минимизации) количества криоконсерванта, вводимого в организм реципиента при аутоТГСК.

Указанная цель достигается:

- за счет уменьшения объема концентрата ГСК и, соответственно, уменьшения объема криоконсерванта,
- за счет отмывания криопротектора (ДМСО) от взвеси ядерных клеток непосредственно перед введением реципиенту.

6.2 Необходимые ресурсы

- Медицинский персонал с требуемой компетентностью.
- Расходные материалы.

6.2.1 Перечень оборудования, реактивов, расходных материалов

- альбумин, раствор для инфузий, 10%;
- весы для уравнивания центрифужных стаканов «LEadCORE»;
- диметилсульфоксид, 99%;
- запаиватель пластиковых магистралей «Ljugberg & Kogel ABCR 4»;
- комплект контейнеров полимерных и магистралей однократного применения, стерильный;
- комплект расходных материалов для сепаратора клеток крови Amicus – Amicus kit с двумя иглами;
- комплект расходных материалов для сепаратора клеток крови Spectra Optia;
- контейнер полимерный с консервантом для крови и ее компонентов строенный однократного применения, стерильный "Terumo 500/300/300" (с иглой однократного применения, стерильной);
- мешки для глубокой заморозки клеток и тканей "OriGen Biomedical" США;
- оборудование медицинское для хранения крови, клеток и тканей в жидком азоте;
- плазмоекстрактор – устройство настольное для отделения в полимерных контейнерах плазмы крови от эритроцитной массы типа «ПЭК-3»;
- полиглюкин, раствор для инфузий, 6%;
- сепаратор «TERUMO Spectra Optia», США;
- сепаратор клеток крови Amicus производства фирмы Baxter, США;
- устройство для стерильного соединения трубок «TSCD-П»;

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 5/10

- центрифуга «ROTO SILENTA 630R»;
- центрифуга для разделения донорской крови Sorval RC-3C PLUS;
- шкаф биологической безопасности класса II A;
- шприцы одноразовые вместимостью 20 мл, 50 мл;
- электрозапаиватель полимерных магистралей контейнеров полимерных для крови, кровезаменителей и инфузионных растворов.

6.2.2 Ответственные лица и исполнители

Ответственный за процессы – заместитель директора по лечебной работе.

Исполнители – сотрудники отделения трансфузиологии и процессинга ГСК, лаборатории клеточных технологий,

6.3 Подпроцессы

6.3.1 Сбор гемопоэтических стволовых клеток

Сбор ГСК осуществляется на сепараторе клеток крови («Amicus» производства фирмы Baxter, «Spectra Optia» производства TERUMO и их аналогов) с использованием одноразовых систем для сепарации и стандартных растворов. Объем обрабатываемой крови зависит от массы тела пациента и процедуры стимуляции / сепарации. Обычно используется методика большого объема лейкофереза с обработкой 3 объемов циркулирующей крови. Объем полученной суспензии (продукт афереза) составляет от 100 до 250 мл.

6.3.2 Уменьшение объема продукта афереза

С целью уменьшения объема криоконсерванта и, соответственно, количества ДМСО, добавляемого к концентрату ГСК, производится сокращение объема продукта афереза (обогащение) путем центрифугирования в рефрижераторной центрифуге при 2000g в течение 5 минут и последующего удаления слоя надосадочной плазмы при помощи плазмоекстрактора. Контейнер с редуцированным объемом должен быть криоконсервирован в течение 60 минут

6.3.3 Смешивание ядросодержащих клеток с криоконсервантом

Все работы по подготовке клеточного материала к криоконсервированию проводят в чистом помещении с манипуляционной зоной (ламинарно-поточный шкаф класса II A).

В качестве криопротектора для ГСК используют высокоочищенный диметилсульфоксид (ДМСО), согласно Приказу МЗ РФ от 25 июля 2003 г. №325 «О развитии клеточных технологий в РФ». Готовят 10% раствор ДМСО непосредственно перед процедурой смешивания с продуктом цитафереза. Криоконсервант медленно вливают в контейнер с клетками в объемном соотношении 1:1, постоянно перемешивая клеточную взвесь, избегая образования пены.

Переводят клеточную суспензию с криопротектором в криопакет, используя одну из магистралей с подходящим типом соединения. Накладывают не менее 2 швов на трубку между параллельными портами на уровне высоты порта. Пайку производят электрическим запаивателем магистралей, после наложения герметичных швов отрезают стерильными ножницами трубку с множественными магистральями. Криопакет маркируют, для этого вкладывают в окно маркировки этикетку с информацией о доноре (фамилия, инициалы, группа крови, резус-принадлежность, дата замораживания), запаивают окно маркировки двумя швами. Криопакет незамедлительно отправляют в банк долгосрочного хранения клеток крови и костного мозга для замораживания и дальнейшего хранения.

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 6/10

6.3.4 Замораживание ГСК костного мозга или периферической крови

Подготовленный к замораживанию криопакет помещают в металлическую кассету – холдер. Затем холдер с замораживаемым материалом укладывают в пары жидкого азота при температуре от минус 145 до минус 160 °С (высота расположения холдера над уровнем «зеркала азота» составляет 30 – 35 см). При указанном способе замораживания материал охлаждается от температуры (20 ± 2) °С до точки кристаллизации со скоростью около 3 – 4 °С в минуту, далее при охлаждении до температуры минус 40 °С скорость составляет 1,4 – 2,7 °С в минуту, от минус 40 °С до температуры паров жидкого азота охлаждение происходит со скоростью 3 – 5 °С в минуту. Через 2 – 2,5 часа от начала замораживания холдер с контейнером переносят непосредственно в среду жидкого азота, где он будет находиться до трансплантации.

6.3.5 Транспортировка замороженных ГСК

Замороженные компоненты при транспортировке должны содержаться при температуре хранения или ниже ее. Транспортные контейнеры периодически подвергают контролю.

Доставку замороженных ГСК в отделение трансплантации осуществляют в специальном сосуде Дьюара с жидким азотом. Криоконтейнеры с криоконсервированными ГСК доставляют медицинским транспортом в сопровождении сотрудника отделения криоконсервирования. Лицо, ответственное за транспортировку ГСК, также осуществляет передачу соответствующей медицинской документации, включая этикетки с маркировкой ГСК. Врач отделения трансплантации проверяет маркировку доставленных контейнеров, ее соответствие истории болезни. Требования к транспортировке: в замороженном состоянии в смеси с криопротектором при температуре от минус 150 до минус 196 °С в контейнере с парами жидкого азота, первичный контейнер должен быть помещен в холдер, на контейнере должны быть надписи «Не подвергать рентгеновскому облучению», «Хранить замороженным».

6.3.6 Размораживание ГСК

Оттаивание криопакетов с замороженными ГСК осуществляют непосредственно в отделении, где выполняется процедура отмывания от ДМСО. Заранее готовят емкость с водой температуры от 37 до 39 °С (контролируется двумя поверенными термометрами), объемом не менее 30 литров (большой объем необходим для поддержания постоянной температуры размораживания). Контейнер с ГСК осторожно извлекают из сосуда Дьюара с жидким азотом и немедленно опускают в емкость для размораживания. После размягчения пакета (в течение 5 – 10 секунд) манипулятор плавными качательными движениями доводит содержимое контейнера до полного размораживания. Процедура оттаивания криопакета с объемом клеточной взвеси около 140 мл и толщиной 1 см занимает от 80 до 110 секунд. Быстрое оттаивание не оказывает неблагоприятного воздействия на криоконсервированные ГСК. После этого контейнер извлекают из резервуара, высушивают чистым полотенцем или марлевыми салфетками, обрабатывают антисептиком и передают для дальнейших манипуляций. Размороженный контейнер должен храниться не более 10 минут до добавления раствора полиглюкина или альбумина.

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 7/10

6.3.7 Отмывание размороженных ГСК от ДМСО

Непосредственно перед процедурой отмывания готовят раствор, который содержит 200 мл 6 % раствора полиглокина и 50 мл 10% альбумина. Часть полученного раствора в объеме 50 мл по магистральной трубке переводят во второй контейнер (спутник) и закрывают пластикатным зажимом, третий контейнер оставляют пустым.

В контейнер с размороженными ГСК через порт вводят раствор для отмывания при постоянном помешивании.

Полученную взвесь клеток переводят в первый контейнер, магистраль герметизируют. Строенный комплект помещают в центрифужный стакан и уравнивают на весах «LEADCORE», затем центрифугируют при 2000 g в течение 6 минут без охлаждения.

После центрифугирования контейнер с осажденными клетками помещают в плазмаэкстрактор «ПЭК-3» для удаления надосадочного слоя. Надосадок переводят в пустой контейнер, отпаивают и утилизируют. В полученную взвесь клеток вводят при постоянном помешивании раствор, содержащий полиглокин 6 % и 10% альбумин. После чего пакет взвешивают на электронных весах «ViBRA».

Для извлечения взвеси ГСК из контейнера к магистрали припаивают участок фистульной иглы с соединением типа «Luer» при помощи устройства для стерильного соединения трубок «TSCD – II».

Контейнер со взвесью клеток маркируют и передают в отделение химиотерапии и трансплантации костного мозга.

7 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

Настоящий стандарт разработан с учетом требований следующих правовых и нормативных документов:

-технический регламент «О требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии», утвержден Постановлением Правительства Российской Федерации от 26 января 2010 г № 29;

- Приказ МЗ РФ от 25 июля 2003 г. №325 «О развитии клеточных технологий в РФ».

- СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»,

- СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»,

- ГОСТ ISO 9000-2011 «Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь».

ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России	СТО-ТП-21-009	Версия 1
Методика снижения токсичности ограждающего раствора ДМСО при клиническом применении криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток		С. 8/10

8 ИСТОРИЯ ДОКУМЕНТА

Дата введения в действие	Версия	Описание обновления	Фамилия, инициалы разработчика
	1	Вновь разработанный документ	С.В. Утемов