Effectiveness of Leukocyte Removal by Imugard III

SIRIPAN KIJKORNPHAN, B.Sc.*, TASSARIN MOUNGKOTE*,
PAILIN SOMBOONVIT*, KRITSANA NOPARAT, B.Sc.*,
PIMOL CHIEWSILP, M.D.*

Abstract

Study was conducted to evaluate the effectiveness of Imugard III - RC (4B) to remove leukocyte from packed red cells (PRCs). The leukafiltration set, Imugard III (4B), bedside use for PRCs or whole blood was converted to laboratory use by connecting the distal end of filter tubing to the transfer bag and the proximal end of tubing to the primary blood pack by sterile connecting device to ensure that the closed system is intact. Twenty units of PRCs were prepared from CPD whole blood by removal of platelet rich plasma. All units were stored at 4°C for 1 day before filtration. Volumes of PRC/Bag ranged from 240 - 340 ml, mean = 276.75 ml and SD = 26.57. Pre-filtration WBC/Bag ranged from 464 x 10^6 - 5910 x 10^6 cells, mean = 2862.05 x 10^6 cells and SD = 1280.87 x 10^6. The filtration time/Bag ranged from 18-45 min, mean = 27.3 min and SD = 7.9. The WBC removals ranged from 99.99 per cent - 100 per cent, mean = 99.99 per cent and SD = 0. The residual WBC in PRC/Bag ranged from 0 - 0.24 x 10^6 cells, mean = 0.134 x 10^6 cells and SD = 0.063 x 10^6. The RBC loss from PRCs with no additive solution was approximately 15 per cent. There was no need for priming and purging the filtration set with saline before and after filtration. Conclusion : The reduction of WBC by 20 sets of Imugard III-RC (4B) was 99.99 per cent or higher with the residual WBC <1 x 10^6 which is able to reduce nonhemolytic transfusion reaction, CMV transmission and HLA alloimmunization.

Several complications caused by exposure of the recipient to donor leukocytes have been reported[1-4]. These include sensitization to donor leukocyte antigens, febrile nonhemolytic transfusion reactions, transmission of leukotropic viruses and graft-vs-host disease (GVHD). Leukocyte depleted blood (LDB) can be produced during component preparation in the blood bank or at the bedside.

In this study, the effectiveness of leukocyte removal of Imugard III - RC (4B) for red blood cell preparation was evaluated.

* Blood Banking & Immunohematology, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand.

MATERIAL AND METHOD

Twenty units of packed red cells (PRCs) were prepared by removal of platelet rich plasma from CPD whole blood in triple bag system. Imugard III - RC (4B), the WBC filters for bed side use were converted to laboratory use by connecting the distal end of the set to the transfer bag and the proximal end of the set to the primary blood pack by using sterile connecting device. The filter material was polyurethane microporus with polycarbonate housing. The dimensions were 93x70x15 mm with 38 ml priming volume. The air vent was protected with 0.2 um hydrophobic membrane. The sterilization of the filter set was done by ethylene oxide gas. Imugard III - RC (4B) set was good for one unit of RBC derived from 450 ml whole blood. The filtration mechanism was 3 - dimensional mechanical sieving. The particles to be removed were leukocytes, microaggregates and platelets. The blood pack was hung approximately 180 cm high and the length of the set tubing after connection was 90 cm. All filtrations were done within one day after blood collection. The prefiltration WBC in PRCs were counted by Technicon H.3 RTC, while the residual WBC in PRCs postfiltration were counted by using Nageotte Bright Line Chamber. The filtrations were performed at 22.5-26°C. Blood samples from prefiltration PRCs were collected from tubing of the primary bag after well mixing of the PRCs while, the blood samples from postfiltration PRCs were collected from tubing of the connected transfer bag. Care must be taken to ensure that the blood samples collected in both steps were from the blood packs. The effectiveness of leukocyte removal was indicated by percent of WBC removal and the yield of red blood cells in the PRCs postfiltration.

RESULTS

Volumes of PRC/Bag ranged from 240 to 340 ml, mean = 276.75 ml and SD = 26.57. Prefiltration WBCs/Bag ranged from $464x10^6$ - $5910x10^6$ cells, mean = $2862.05x10^6$ cells, and SD = $1280.87x10^6$. The residual WBCs in PRC/Bag ranged from 0-$0.24x10^6$ cells, mean = $0.134x10^6$ cells and SD = $0.063x10^6$. The filtration time/Bag ranged from 18-45 min, mean = 27.3 min and SD = 7.9. The WBC removals ranged from 99.99 per cent - 100 per cent, mean = 99.99 per cent and SD = 0. The RBC loss was approximately 15 per cent (Table 1).

Table 1. Parameters of leukocyte filtration from PRCs by Imugard

No.	Vol. of PRCs (ml)			WBCx10^6/Bag		WBC	Filter Time
	Prefiltration	Postfiltration	% loss	Prefiltration	Postfiltration	Removal (%)	(min)
1	250	200	20.0	3096	0.190	99.999	20
2	250	200	20.0	1992	0.114	99.999	20
3	260	210	19.2	2825	0.080	99.999	28
4	280	240	14.3	1836	0.000	100.00	30
5	260	220	15.4	1475	0.126	99.999	35
6	310	270	12.9	5910	0.208	99.999	35
7	300	260	13.3	3480	0.100	99.999	45
8	270	230	14.8	3328	0.220	99.999	23
9	340	305	10.3	3762	0.059	99.999	20
10	260	220	15.4	3975	0.084	99.999	25
11	250	210	16.0	2688	0.240	99.999	45
12	290	250	13.8	4088	0.192	99.999	25
13	295	260	11.9	2508	0.100	99.999	20
14	250	215	14.0	3528	0.041	99.999	30
15	240	200	16.7	2300	0.190	99.999	23
16	290	250	13.8	784	0.000	100.00	30
17	300	265	11.7	464	0.102	99.999	30
18	250	210	16.0	1728	0.120	99.999	18
19	290	250	13.8	3472	0.192	99.999	20
20	300	260	13.3	4002	0.050	99.999	24
X	276.75	236.25	14.83	2862.05	0.134	99.999	27.3
SD	26.57	29.01	2.62	1280.87	0.063	0.00	7.9

DISCUSSION

Leukocyte-reduced red blood cells may be prepared in several different ways i.e., centrifugation with buffy coat removal, saline washing of liquid or frozen-thawed red blood cells, and filtration. There will be some loss of red cell mass, which will vary with the method of LDB preparation(5). In using Imugard III-RC (4B), care must be taken to see if the primary bag was pierced by the cannula spike of the filter set, the system is considered open, the storage time is limited to 24 hours at 4°C. If the filter set was connected to the primary bag by sterile connecting device, the system is considered closed and the shelf life varies with the type of anticoagulant or additive solution used. Conclusion : The effectiveness of Imugard III-RC (4B) is good. The reduction of WBC was 99.99 per cent or higher with the residual WBCs $<1x10^6$ cells which is comparable to special "third - generation" blood filters that can reduce the number of leukocytes in red cell or platelet components to less than $5x10^6$(6). At this level of WBC residual, nonhemolytic transfusion reaction, CMV transmission and HLA alloimmunization can be reduced(6). In addition, the application of the Imugard III is simple and the filtration time is relatively short. In addition, there is no need to prime the filtration set or to purge the red cell from the set with saline. As far as RBC loss is concerned, it may be reduced if whole blood or RBC in additive solution is filtered.

(Received for publication on June 17, 1997)

REFERENCES

1. Goldman M, Delage G. The role of leukodepletion in the control of transfusion-transmitted disease. Transfus Med Rev 1995; 9: 9-19.
2. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers MH, et al. Use of leukocyte-depleted platelets and cytomegalovirus seronegative red blood cells for prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplant. Blood 1991; 78: 246-50.
3. Brand A. Passenger leukocytes, cytokines and transfusion reactions. N Engl J Med 1994; 331: 670-1.
4. Wenz B. Clinical and laboratory precautions that reduce the adverse reactions, alloimmunization, infectivity and possible immunomodulation associated with homologous transfusions. Transfus Med Rev 1990; 4 (Suppl 1): 3-7.
5. Pisciotto PT, Snyder EL eds. Blood Transfusion Therapy 2nd Edition. Arlington, Virginia, AABB, 1991: 11.
6. Vengelen-Tyler V. ed AABB Technical Manual 12th edition, Maryland USA 1996: 451.

ประสิทธิภาพการกรองเม็ดโลหิตขาวของชุดกรอง Imugard III

สิริพรรณ กิจกรพันธ์, วท.บ., ทัศรินทร์ เมืองโคตร*,*
ไพลิน สมบูรณ์วิทย์, กฤษณะ นพรัตน์, วท.บ.*, พิมล เชี่ยวศิลป์, พ.บ.**

ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการกรองเม็ดโลหิตขาวออกจากส่วนประกอบของโลหิตด้วยชุดกรองชนิดใหม่ "Immugard III" ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ ของ บริษัท Terumo ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้ชุดกรอง Imugard III (4B) ชนิดกรองข้างเตียง ในการกรอง packed red cells (PRCs) หรือ whole blood ได้ทำการเปลี่ยนชุดกรองข้างเตียง เป็นแบบใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยเชื่อมสายส่วนปลายเข้ากับ transfer bag และเชื่อมส่วนต้นของสายชุดกรองกับ primary โดยใช้เครื่องเชื่อมสาย แบบปราศจากเชื้อ เพื่อให้แน่ใจว่าโลหิตแต่ละยูนิตยังคงเป็น closed system และสามารถเก็บที่ 4 °C ได้ตามอายุเดิมของ โลหิต ได้กรอง PRCs จำนวน 20 ยูนิตเป็น PRCs ที่มีอายุ 1 วัน และเป็น PRCs ที่บรรจุใน triple bags มี CPD เป็นน้ำยากันเลือดแข็ง โดยได้บีบเอา platelet rich plasma ออกจาก whole blood ความสูงของ bag ระหว่างกรอง 180 ซม. ความยาวของสายชุดกรองเมื่อเชื่อมสายแล้ว 90 ซม. นับเม็ดโลหิตขาวในยูนิตก่อนกรองด้วยเครื่อง Technicon H.3 RTC และ นับเม็ดโลหิตขาวที่คงเหลืออยู่ใน PRCs ด้วย Nageotte Brite Line Chamber ได้ทำการวัดปริมาณของ PRCs/Bag อยู่ระหว่าง 240–340 มล. Mean = 276.75 มล. SD = 26.57 จำนวนเม็ดโลหิตขาวใน PRCs/Bag ก่อนกรอง $464x10^6$ – $5910x10^6$ เซลล์ Mean = $2862.05x10^6$ เซลล์, SD = $1280.87x10^6$ เวลาที่ใช้ในการกรอง 18–45 นาที Mean = 27.3 นาที, SD = 7.90 จำนวนเม็ดโลหิตขาวที่คงเหลืออยู่ใน PRCs/Bag หลังกรองแล้วอยู่ระหว่าง $0–0.24x10^6$ เซลล์ Mean = $0.134x10^6$ เซลล์ และ SD = $0.063x10^6$ คิดเป็นประสิทธิภาพการกรองเม็ดโลหิตขาว ร้อยละ 99.99–100 Mean = 99.99 และ SD = 0.00 อุณหภูมิห้องในระหว่างการกรองอยู่ระหว่าง 22.5–26 °C

วิจารณ์และสรุป ชุดกรอง Imugard III (4B) ทั้ง 20 ชุด สามารถกรองเม็ดโลหิตขาวออกได้ตั้งแต่ร้อยละ 99.99 ขึ้นไป โดยมีเม็ดโลหิตขาวเหลืออยู่น้อยกว่า $1x10^6$ ซึ่งสามารถลดอัตราการเกิด nonhemolytic transfusion reaction การติดเชื้อ CMV จากโลหิตและการเกิด HLA alloimmunization ได้นอกจากนี้ยังเป็นชุดกรองที่ใช้ได้ง่ายไม่ต้อง prime ชุดกรองหรือล้างเม็ดเลือดแดงออกจากชุดกรองด้วยน้ำเกลือ และแม้ใช้กรอง PRC ที่ไม่เติม additive solution ก็ยังมีอัตรา การกรองเร็วพอสมควร

* หน่วยคลังเลือด, ภาควิชาพยาธิวิทยา, คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพ ฯ 10400