

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 615.383.07

**В. В. Галкин, В. Л. Голубева, Ф. И. Атауллаханов,
Е. Г. Казанец, Л. Н. Пушкарь**

ПРОБЛЕМЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КОМПОНЕН- ТОВ КРОВИ

**Всесоюзный гематологический научный центр Минздрава
СССР, Москва**

Целенаправленное использование клеточных и белковых компонентов крови в зависимости от стратегии лечения у конкретных больных позволяет обеспечивать высокую эффективность гемотерапии. Одновременно такая тактика дает возможность рационально использовать заготовленную консервированную кровь.

В соответствии с потребностями практической медицины организация компонентного донорства и фракционирование

Требования к качеству и методы контроля качества крови и ее компонентов

Требования к качеству		Методы контроля качества	
Минздрав СССР	ВОЗ	существующие	перспективные

Консервированная кровь

Определение групповой и Rh-принадлежности	—	Серологические тесты	Комплекс серологических тестов, в том числе ИФА, микрореакция преципитации
Отрицательные пробы на сифилис, вирусный гепатит, СПИД (HIV-1)	Желательные дополнительные тесты на HTLV-1, HIV-2	Реакция связывания комплента + микрореакция преципитации	Фильтруемость эритроцитов (коррелирует с приживаемостью)
Нормальное содержание билирубина	—	—	Контроль количества микроагрегатов
Стерильность	—	Бактериологический контроль (выборочно)	Планируется создание приборов, удобных для практического использования в учреждениях службы крови
Герметичность тары, отсутствие сгустков, прозрачность плазмы, отсутствие выраженного гемолиза, наличие оформленной этикетки	Те же	Визуальный контроль (каждой дозы)	—
Срок годности соответственно консерванту	Тот же	—	—

Эритроцитная масса

Выделение из консервированной крови до истечения срока ее хранения	Те же	—	Те же, что для консервированной крови
Срок хранения, как для цельной крови, из которой получена эритроцитная масса	—	Соответствие сроку годности	—
Гематокрит 0,7—0,8	0,7—0,9	Определение гематокрита (выборочно)	—
Прозрачность надстоя, равномерность эритроцитного слоя, отсутствие видимых сгустков, герметичность тары, наличие оформленной этикетки	Те же	Визуальный контроль каждой дозы, в том числе ее этикетки	—
Стерильность	Те же	Бактериологический контроль (в соответствии с инструкцией)	—

Эритроцитная масса или эритроконцентрат, обедненные лейкоцитами и тромбоцитами

Содержание эритроцитов — более 75 % от исходного в дозе консервированной крови	Более 80 %	Визуальный контроль Микроскопический подсчет количества лейкоцитов (выборочно)	Те же, что для консервированной крови
Содержание лейкоцитов — менее 30 % от исходного	Менее 25 %	—	—
Содержание тромбоцитов — не более 10 % от исходного	—	—	—
Срок хранения при 4—6 °С	2—8 °С, 24 ч	—	—
Стерильность	Те же	Бактериологический контроль одной пробы от каждых 20 доз, но не менее одной пробы от каждого дня заготовки	—

Эритроцитная масса замороженная

Замораживание эритроцитов не позднее 6 дней хранения	Те же	—	Те же, что для консервированной крови
После оттаивания и отмывания: гематокрит не менее 0,3; уровень свободного гемоглобина не более 2 г/л; содержание остаточного глицерина менее 2 %	Те же	Контроль остаточного глицерина, свободного гемоглобина, гематокрита	—
Стерильность	—	Бактериологический контроль (выборочно)	—
Сохранность клеток не менее 80 %	Те же	Контроль этикетки	—
Приживаемость не менее 70 %	—	—	—
Сроки хранения в жидком азоте в электрохолодильнике: —65 °С до 3 лет —40 °С до 2 лет —30 °С до 1 года	Те же	—	—
Срок хранения размороженных отмытых эритроцитов 24 ч	—	—	—

Концентрат тромбоцитов (КТ)

Выделение из дозы крови не позднее 4—6 ч с момента ее заготовки или методом тромбоцитафереза из 1,5 л крови одного донора	Те же	Выборочный контроль КТ: по одной пробе от каждых 20 ед. КТ, но не менее одной пробы от каждого дня заготовки Ph выше 6.0	Разрабатываются аппаратура и тест-наборы для выполнения работ в учреждениях службы крови: кинетика агрегации тромбо-
---	-------	--	--

Требования к качеству		Методы контроля качества	
Минздрав СССР	ВОЗ	существующие	перспективные
КТ из дозы крови должен содержать не менее $0,5 \cdot 10^{11}$ клеток в 45—75 мл плазмы		Объем	цитов; бесконтактный метод контроля качества тромбоцитов (свиллинг).
КТ методом тромбоцитафереза — не менее $2,0 \cdot 10^{11}$ клеток в 200—300 мл плазмы		Визуальный контроль: гомогенность взвеси клеток, прозрачность плазмы, отсутствие агрегатов, целостность и герметичность контейнеров	
Срок хранения до 24 ч при 20—24 °С в покое и до 120 ч при автоматическом перемешивании	Срок хранения 7 дней при использовании специальных пластиков		
Свежезамороженная плазма			
Получение из крови не позднее 4 ч с момента кроводачи	Не позднее 6 ч	Визуальный контроль: гомогенность взвеси клеток, прозрачность, цвет, отсутствие хлопьев, гемолиза	Полная стандартизация метода определения фактора VIII с помощью тест-наборов
Замораживание при температуре не выше —45 °С	—40 °С	Контроль температуры замораживания и хранения	
Срок годности 1 год при —30 °С и ниже	—20 °С или —30 °С в лиофилизированной форме, срок годности 5 лет	Определение уровня свободного Hb (в сомнительных случаях)	
Криопреципитат			
Сырье: плазма, замороженная не позднее чем через 4 ч после венопункции при —45 °С и ниже и хранившаяся при —30 °С и ниже не более 3 мес	Не позднее чем через 6 ч	Визуальный контроль перед трансфузией	Отсутствие активации компонентов компонента C1, C3, C4 (контроль ареактогенности)
Активность: VIII фактора не менее 90 МЕ в 1 дозе	При —40 °С и ниже Активность VIII фактора не менее 80 МЕ в 1 дозе, не менее чем в 75 % исследованных образцов	Выборочный контроль активности: 1—2 дозы в неделю, но не менее 4 доз за месяц работы	
Внешний вид: прозрачный, желтый, без хлопьев и мути			
Срок хранения: замороженного при —30 °С — 3 мес	Срок хранения: замороженного при —20 °С и ниже — 1 год		
лиофилизированного — 1 год при 2—6 °С	лиофилизированного 1 год при 3—5 °С		
Стерильность	Бактериологический контроль в соответствии с инструкцией		

крови на компоненты — важнейшие задачи учреждений службы крови. Оптимальное и рациональное фракционирование донорской крови на компоненты предусматривает выделение их в максимально возможном количестве и сохранение в функционально полноценном состоянии в течение предельного периода времени, установленного для каждого компонента.

В этой связи со всей остротой встает вопрос о наличии службы контроля качества компонентов крови, которая должна опираться на определенные требования к компонентам и утвержденные стандарты. За рубежом для этой цели разработаны и действуют международные и национальные стандарты (стандарты ВОЗ, Британские, Американские и др.). Эти документы предназначены для улучшения качества и гарантии эффективности и безопасности трансфузий крови и ее дериватов [12, 15, 16].

Исходя из потребностей трансфузиологической службы нашей страны, во Всесоюзном гематологическом научном центре Минздрава СССР разработаны (по аналогии с международными) единые требования (стандарты) к консервированной крови и ее компонентам, которые в настоящее время внедряются в практику. В этот документ включены не только требования, предъявляемые к вышеуказанным гемотрансфузионным средам, но и ряд тестов по углубленной оценке их свойств. Однако этот документ уже не соответствует современному уровню знаний. Требуется значительное расширение и пересмотр методов контроля. В настоящее время разрабаты-

ваются новые критерии оценки свойств консервированной крови и ее компонентов. В мире этой проблемы в последнее время также уделяется много внимания [9—11, 14].

В таблице представлены данные по оценке качества компонентов крови (такую оценку предлагается ввести в практику службы Государственного контроля качества), а также данные о существующих и перспективных методах контроля. Требования, указанные в графе «Минздрав СССР», установлены на основании утвержденных инструктивных материалов; в графе «ВОЗ» представлены требования экспертного комитета ВОЗ (1988), причем только по позициям, по которым имеются отличия от отечественных требований [1—8].

Как видно из таблицы, требования, предъявляемые к качеству цельной консервированной крови и ее компонентам, в нашей стране в основном совпадают с международными, а по отдельным параметрам даже превосходят их (сроки заготовки свежемороженой плазмы и температура ее хранения; активность VIII фактора свертывания в криопреципитате). В то же время по ряду важных параметров требования ВОЗ превосходят отечественные (срок хранения концентратов тромбоцитов и замороженного криопреципитата; рекомендации по дополнительному контролю крови по тестам HIV-2 и HTLV-1). По этим пунктам необходимо интенсифицировать работы с целью ликвидации отставания. К сожалению, контроль качества компонентов крови осуществляется пока в основном визуально как в нашей стране, так и за рубежом. При этом,

естественно, качество клеток не оценивается совсем. Большой арсенал лабораторных методов оценки качества клеток крови и их функционального состояния при этом практически не используется.

Это связано с тем, что большинство методов контроля нельзя реализовать без отбора пробы из анализируемого контейнера. При этом возможен только выборочный контроль. Тем не менее для реального осуществления контроля качества консервированной крови и ее компонентов представляется необходимым внедрение в службу Государственного контроля ряда общепринятых лабораторных (физико-химических, биологических и др.) тестов, часть которых уже применяется в лабораторной практике.

Вместе с тем необходимо разрабатывать новые, перспективные методы углубленной оценки качества компонентов крови. Так, трансфузионные среды, содержащие эритроциты (кровь, эритроцитная масса), в перспективе целесообразно оценивать также по фильтруемости клеток. Фильтруемость хорошо коррелирует с приживаемостью эритроцитов. Важно оценивать и количество микроагрегатов, образующихся в процессе хранения. С этой целью планируются разработка новых модификаций методов оценки фильтруемости и количества микроагрегатов, создание и внедрение соответствующих приборов, удобных для практического использования в учреждениях службы крови.

Для установления качества тромбоцитов, выделенных из донорской крови и предназначенных для трансфузий, выборочно могут быть применены функциональные тесты (например, агрегация тромбоцитов).

Большие перспективы открывают новые методы, которые позволяют оценивать функциональное состояние клеток крови бесконтактно, т. е. без вскрытия контейнера. Создание соответствующей аппаратуры и внедрение в практику службы крови таких методов позволяют перейти от выборочного контроля к тотальному. При этом один и тот же контейнер может быть проверен много раз, в том числе и непосредственно перед применением.

К числу бесконтактных методов относится метод оценки свойств тромбоцитов по их дисковидности (метод свиллинга). Было показано [13], что дисковидность тромбоцитов хорошо коррелирует с их функциональным состоянием. В настоящее время начаты работы по разработке, созданию, испытанию и внедрению в практику специального прибора для тотального контроля заготавливаемого концентрата тромбоцитов. При этом в одном приборе могут быть объединены измерение количества клеток, их качества и объема выделенного концентрата тромбоцитов.

Известно, что форма эритроцитов (дисковидность), как и тромбоцитов, хорошо отражает их функциональную полноценность. Поэтому возможно создание аппаратуры для бесконтактного контроля качества эритроцитов, хотя это и связано с определенными трудностями, обусловленными большой концентрацией эритроцитов в крови.

Качество таких компонентов, как свежезамороженная плазма и криопреципитат, определяется главным образом активностью фактора VIII — одного из важнейших, но лабильных компонентов плазмы. Величина его активности находится в прямой зависимости от четкости выполнения регламента получения плазмы и криопреципитата, а также от условий их хранения. Таким образом, исследование активности фактора VIII может служить специфическим индикатором качества этих компонентов.

Как показывает анализ литературы, важнейшим условием достоверного определения активности фактора VIII является наличие единого стандарта этого фактора. Наиболее подходящим считается стандарт, изготовленный на основе искусственного субстрата, который может быть получен из длительно хранившейся сыворотки, фибриногена или бычьего фактора VIII. Срок хранения такого субстрата в лиофилизированном состоянии может достигать года. В НИИ переливания крови ВГНЦ ведется работа по созданию тест-набора

реагентов для стандартизации метода определения активности фактора VIII в плазме и криопреципитате.

Таким образом, из вышесказанного очевидно, что для обеспечения высокого качества заготавливаемой консервированной крови и выделенных из нее компонентов необходимо в дополнение к применяемому ныне лишь визуальному контролю введение системы Государственного контроля их качества с использованием уже существующих в настоящее время физико-химических лабораторных методов с одновременной разработкой перспективных. Государственный контроль целесообразно осуществлять периодически и в зависимости от показателей качества заготавливаемых компонентов. Учитывая короткий срок годности крови и ее компонентов, сохраняемых при положительной температуре, по-видимому, проведение контроля качества следует организовывать на базе отделов технического контроля станций переливания крови.

С целью стандартизации методов проверки будет разработана специальная инструкция «О порядке Государственного контроля работы в учреждениях службы крови и методах контроля качества консервированной крови и ее компонентов».

ЛИТЕРАТУРА

1. Аграненко В. А., Суворова И. А., Голубева В. Л. и др. Инструкция по заготовке и хранению эритроцитной массы. Утв. МЗ СССР, 1982. — С. 1—8.
2. Аграненко В. А., Голубева В. Л., Воробьева Г. С. и др. // Всесоюзный съезд гематологов и трансфузиологов, 2-й: Материалы. — Львов, 1985. — С. 49.
3. Аграненко В. А., Голубева В. Л., Волкова Р. И. и др. Инструкция по заготовке эритроцитной массы, обедненной лейкоцитами и тромбоцитами. Утв. МЗ СССР 10.02.87, 18—9/76. — С. 1—18.
4. Аграненко В. А., Голубева В. Л., Трошина В. М. и др. Инструкция по фракционированию консервированной крови на клеточные компоненты и плазму. Утв. МЗ СССР 11.06.87, 06—14/24. — С. 1—28.
5. Аграненко В. А., Суворова И. А., Кошечкина В. П. и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1987. — № 7. — С. 28—33.
6. Голубева В. Л., Трошина В. М., Суворова И. А. и др. // Всероссийский съезд гематологов и трансфузиологов, 2-й: Материалы. — Челябинск, 1986. — С. 101—102.
7. Пушкарь Л. Н., Аграненко В. А., Боговяльская М. П. и др. // Науч. сессия ЦНИИ ГПК, 55-я: Материалы. — М., 1983. — С. 13—15.
8. Роголова И. В., Лобовская Л. В., Суворова И. А. и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1988. — № 10. — С. 56—62.
9. Aledort L. M. // Transfusion. — 1988. — Vol. 28. — P. 295—296.
10. Bellhouse H. A. et al. // Optics and Laser Technology. — 1985. — Vol. 17. — P. 27—30.
11. Fratantoni J. C. et al. // J. Lab. Clin. Med. — 1984. — Vol. 103. — P. 620—631.
12. Holland P. V., Schmidt P. J. (Eds.) Standards for blood banks and transfusion services. — 12th Ed. — Arlington, 1987.
13. Holme S., Murphy S. // J. Lab. Clin. Med. — 1978. — Vol. 91, N 1. — P. 53—64.
14. Gabra G. S. et al. // Vox Sang. — 1989. — Vol. 56, N 2. — P. 65—70.
15. Widman F. K. (Ed.) Technical Manual of the AABB. — 9th Ed. — Arlington, 1985.
16. WHO. Expert Committee on biological standardization. "Proposed revised requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives" (Requirements for Biological Substances, N 27). — Geneva, 1988. — P. 1—70.