ДУ «ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ МОЗ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ ОБЛАСНИЙ ЦЕНТР СЛУЖБИ КРОВІ

НАЦІОНАЛЬНЕ КЕРІВНИЦТВО З ВИРОБНИЧОЇ ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ

ДЛЯ ЗАКЛАДІВ, ПІДРОЗДІЛІВ ТА ЛАБОРАТОРІЙ СЛУЖБИ КРОВІ

Харків
«Золоті сторінки»
2015

ББК 53.53.52
Н 35

Рекомендовано до друку Вченою радою ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» (протокол № 9 від 25.11.2014 р.) та Вченою радою Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України (протокол № 2 від 20.02.2015 р.)

Автори видання висловлюють щиру вдячність директору Регіонального Центру служби крові м. Варшава (Польща) Даріушу Петровскі, директору виробничої фірми РавіМед Веслову Рошевському за особисту участь у підтримці розвитку служби крові України та імплементацію до єдиного європейського простору.

Авторський колектив: Тимченко А.С., Яворський В.В., Малигон О.І., Боголепов В.М., Богданчикова О.А., Верховенко Ю.О., Гончаренко В.І., Гавриш Л.О., Демський В.В., Дмитренко О.О., Дмитренко І.В., Журіхіна Л.Ф., Кшемінська Н.А., Лопатін П.М., Мороз Є.Д., Михальчук В.М., Новак В.Л., Павлов О.О., Павлюк Р.П., Паляниця С.С., Попова О.В., Слободян Л.П., Хоменко В.І., Ціва С.А., Ярошевський В.С.

Рецензенти: Бебешко В.І. — член-кор. НАМН України, д-р мед. наук, проф., голова проблемної комісії гематології та трансфузіології МОЗ України; Видиборець С.В. — д-р мед. наук, проф., завідувач кафедри гематології та трансфузіології НМАПО ім. П.Л. Шупика (м. Київ).

Н 35 **Національне** керівництво з виробничої трансфузіології для закладів, підрозділів та лабораторій служби крові / ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» ; ХМАПО МОЗ України ; Харків. обл. центр служби крові. — Харків : Золоті сторінки, 2015. — 336 с.

ISBN 978-966-400-333-6

Керівництво містить сучасну інформацію з нормативно-правового забезпечення державної політики України щодо питань служби крові.

Розглянуто сучасні та актуальні питання контролю якості та принципів відбору донорів, виготовлення компонентів донорської крові, їх тестування. Велика увага приділена імуногематологічним питанням, що постають перед клініцистами при трансфузіях еритроцитовмісних компонентів крові та тромбоцитів. Висвітлені питання безпеки донорів та реципієнтів, аспекти гістосумісності, актуальні питання лабораторії тканинного типування. Кров, її компоненти і препарати є надзвичайно важливими лікувальними засобами, які широко застосовуються в різних галузях клінічної медицини.

Автори посібника доклали максимум зусиль щодо забезпечення точності наданої інформації згідно з чинними нормативними документами. Враховуючи можливі зміни інформації, ми рекомендуємо уточнювати інформацію з новими нормативними документами.

Розповсюдження частини або цілого видання можливе лише з дозволу авторського колективу.

Рекомендовано для лікарів-трансфузіологів закладів та підрозділів служби крові, лаборантів, трансплантологів та лікарів хірургічного, терапевтичного, педіатричного профілю для практичного застосування.

ББК 53.53.52

© Тимченко А.С., Яворський В.В., Малигон О.І., Боголепов В.М., Богданчикова О.А., Верховенко Ю.О., Гончаренко В.І., Гавриш Л.О., Демський В.В., Дмитренко О.О., Дмитренко І.В., Журіхіна Л.Ф., Кшемінська Н.А., Лопатін П.М., Мороз Є.Д., Михальчук В.М., Новак В.Л., Павлов О.О., Павлюк Р.П., Паляниця С.С., Попова О.В., Слободян Л.П., Хоменко В.І., Ціва С.А., Ярошевський В.С., 2015

ISBN 978-966-400-333-6

ЗМІСТ

Передмова ... 4

Вступ ... 6

Перелік умовних скорочень та абревіатур ... 8

Розділ 1
Система якості у службі крові ... 11

Розділ 2
Принципи відбору донорів ... 57

Розділ 3
Принципи роботи лабораторного відділу ... 70

Розділ 4
Взяття крові та методи аферезу ... 75

Розділ 5
Аутологічна трансфузія ... 80

Розділ 6
Заготівля донорської крові та виготовлення її компонентів ... 87

Розділ 7
Трансфузійна імунологія еритроцитів ... 172

Розділ 8
Діагностика інфекційних агентів, що передаються через кров ... 264

Розділ 9
Зберігання та видача компонентів і препаратів плазми крові ... 274

Розділ 10
Імунологічні принципи переливання концентратів тромбоцитів ... 284

Розділ 11
Безпека крові (гемовіджелінс) ... 298

Розділ 12
Принципи підбору та тканинного типування споріднених і неспоріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин ... 310

ПЕРЕДМОВА

Шановні колеги!

До вашої уваги пропонується «Національне керівництво з виробничої трансфузіології для закладів, підрозділів та лабораторій служби крові».

Метою цього видання було створення передумов для впровадження реформ у службу крові України, враховуючи Директиви Комісії Європейського Союзу і Директиви Європейського парламенту, які встановлюють стандарти якості та безпеки для збору, тестування, обробки, зберігання і розподілу людської крові та її компонентів; встановлюють технічні вимоги щодо придатності донорів крові та плазми, принципи та нормативи практики виробництва, що стосуються лікарської продукції, призначеної для використання людиною, та лікарської продукції, яка проходить клінічне випробування, технічних вимог до крові та її компонентів, певних рекомендацій Ради Європи, монографії Європейської Фармакопеї, особливо що стосується крові та її компонентів як вихідних матеріалів для виробництва патентованої лікарської продукції, рекомендації Всесвітньої організації охорони здоров'я, а також міжнародний досвід у цій сфері.

Забезпечення безпеки і доступності для всіх верств населення до компонентів та препаратів, що виробляються з донорської крові, є функцією державних органів охорони здоров'я. Заходи щодо забезпечення якості та безпеки донорської крові відіграють значну роль у попередженні трансмісії ВІЛ, вірусів гепатиту та багатьох інших патогенів, що передаються з кров'ю.

Важлива роль національної системи охорони здоров'я у вирішенні проблем безпеки донорської крові полягає у створенні в кожній країні ефективно діючих програм забезпечення донорською кров'ю у відповідності до чітко визначених принципів національної стратегії і заходів її реалізації, у створенні національних служб переливання крові, правових і регуляторних механізмів, а також у прийнятті стратегічних рішень.

Національна політика в питаннях донорської крові повинна враховувати всі питання, які можуть впливати на якість, безпеку, забезпеченість і доступність крові та її продуктів, має систематично переглядатися залежно від виникнення нових питань, які можуть впливати на національну програму донорської крові.

Останнім часом клінічне застосування трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК) у комплексній терапії багатьох захворювань набуло значних успіхів. Подальший розвиток цієї галузі медицини можливий лише за умов широкого використання як трансплантатів гістосумісних гемопоетичних стовбурових клітин, отриманих від неродинних донорів. З метою реалізації даного напрямку ТГСК доцільним є формування і розвиток Національного реєстру потенційних донорів кісткового мозку та гемопоетичних стовбурових клітин. Викладені в керівництві зазначені питання та розробка відповідних заходів з розвитку Національного реєстру сприятимуть забезпеченню хворих гістосумісними трансплантатами.

До питань, що потребують вирішення на державному рівні, належать:

- реструктуризація національної служби крові;
- розвиток Національного реєстру потенційних донорів кісткового мозку та гемопоетичних стовбурових клітин;
- визначення критеріїв відбору донорів та їх відсторонення;
- упровадження сучасних технологій, що дозволяють покращити безпеку, якість, запаси та використання донорської крові, її компонентів та препаратів.

У запропонованому до вашої уваги керівництві висвітлені питання щодо розробки та впровадження нормативно-правових документів служби крові та трансплантології в Україні з метою їх імплементації до вимог Європейського Союзу.

Один із розділів керівництва присвячений детальному висвітленню імуногенетичних аспектів гістосумісності. Розглянуті актуальні питання розвитку лабораторії тканинного типування як єдиної

структури, що здійснює лабораторний супровід на всіх етапах проведення алогенної трансплантації, у тому числі на етапі HLA типування біологічних зразків реципієнта і потенційного донора гемопоетичних стовбурових клітин.

Для того, щоб забезпечити найвищу якість і безпеку донорської крові, її компонентів та інших біологічних матеріалів, нормативи практичного досвіду повинні вдосконалюватися, щоб підтримувати вимоги системи управління якістю для установ крові, які детально визначені в даному керівництві. Необхідно зазначити, що система управління якістю повинна застосовуватися до будь-якої крові та її компонентів, що знаходиться в обігу в Національній службі крові України.

Значна увага в даному керівництві приділяється заходам з контролю за проведенням процедур переливання компонентів донорської крові та імуногематології з метою запровадження системи обліку післятрансфузійних реакцій та ускладнень для прийняття обґрунтованих рішень, спрямованих на адекватне реагування на нові проблеми, загрози та перспективи розвитку.

Автори видання висловлюють велику подяку всім фахівцям, які провели значну роботу з узгодження діючих в Україні технологічних документів з трансфузіології та трансплантології до принципів та основних положень, прийнятих у Європейському Союзі, і сподіваються на подальшу співпрацю з метою розвитку Національної служби крові України.

ВСТУП

Чинне керівництво встановлює загальні вимоги стосовно забезпечення якості при заготівлі, переробці, зберіганні і використанні донорської крові та її компонентів. Призначене для використання в закладах служби крові України.

Національне керівництво України з виробничої трансфузіології розроблено згідно з Законом України «Про донорство крові та її компонентів» від 23.06.1995 року.

Підставою для його опрацювання стали передусім «Медичні засади служби крові» (Варшава, 2006 р.), Директива 2002/98 ЄС Європейського парламенту та Ради від 27 січня 2003 року, Директива Комісії 2004/33/(ЄС) від 22 березня 2004 року, Директива комісії 2005/62/ЄС від 30 вересня 2005 року, Рекомендація №R(95)15 Ради Європи («Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components», 11th edition, Council of Europe Publishing, Strasbourg 2005), адаптовані Державні стандарти України та накази МОЗ України з питань діяльності закладів служби крові:

– ДСТУ 1.05–93 Государственная система стандартизации Украины. Общее требование к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов;
– ДСТУ ISO 9001:2008 Системи управління якістю. Вимоги;
– ДСТУ ISO 9000:2007 Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів;
– Настанова 42–01–2993 «Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація», затв. Наказом МОЗ України від 13.03.2003 р. №107;
– Настанова «Лікарські засоби» СТ-Н МОЗУ 42–4.0: 2014, затв. Наказом МОЗ України від 16.07.2014 р. №497;
– Наказ МОЗ України від 09.03.2010 р. №211 «Про затвердження Порядку контролю за дотриманням показників безпеки та якості донорської крові та її компонентів»;
– Наказ МОЗ України від 19.02.2013 р. №134 «Про затвердження Порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції»;
– Наказ МОЗ України від 14.12.2010 р. №1112 «Про затвердження Положення для установи переливання крові» (щодо організації управління системою якості і безпеки донорської крові та її компонентів)»;
– Наказ МОЗ України від 17.12.2013 р. №1093 «Про затвердження інструкції з виготовлення, використання та забезпечення якості компонентів крові та словник термінів»;
– Наказ МОЗ України від 01.08.2005 р. №385 «Про інфекційну безпеку донорської крові та її компонентів»;
– Наказ МОЗ України від 19.02.2013 р. №134 «Про затвердження порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції»;
– Інструкція «Контроль стерильності консервованої крові, її компонентів, препаратів, консервованого кісткового мозку, плазмозамінюючих та консервуючих розчинів, умов їх заготівлі», затв. Наказом МОЗ України від 05.07.1999 р. №164;
– Інструкція «Визначення груп крові за системами АВ0, Резус та імунних антитіл», затв. Наказом МОЗ України від 05.07.1999 р. №164;
– Інструкція з донорського плазмаферезу, затв. Наказом МОЗ України від 05.07.1999 р. №164;
– Інструкція «Переливання компонентів та препаратів крові», затв. Наказом МОЗ України від 05.07.1999 р. №164;
– Інструкція з фракціонування донорської крові на її компоненти (плазма, еритроцити, лейкоцити, тромбоцити) та їх консервування, затв. Наказом МОЗ України від 05.07.1999 р. №164.

Методичні рекомендації:

– Контроль якості еритроцитовмісних середовищ, Київ, 2012;
– Контроль якості свіжозамороженої плазми, Київ, 2009;
– Заготівля та використання кріопреципітату замороженого, Київ, 2006;
– Організація контролю якості, Київ, 2006.

У виданні подано основні принципи відбору донорів, взяття крові, виготовлення з неї компонентів та контролю якості; ці принципи узгоджуються з чинним законодавством. Визначені показання для переливання компонентів донорської крові та можливі післятрансфузійні ускладнення.

Велика увага приділяється організації системи якості, відповідно до якої формуються принципи діяльності закладів служби крові.

Підкреслюється необхідність моніторингу процесу взяття крові та її переливання, простеження шляхів крові від донора до реципієнта. В окремому розділі детально викладено поняття про інфекційну безпеку крові (haemovigilance).

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА АБРЕВІАТУР

2ME — 2-меркаптоетанол

ACD — розчин, що консервує кров (містить глюкозу, іони натрію та іони цитратів)

ADSOL — збагачувальний розчин, що використовується з метою подовження життєздатності еритроцитів

AITH — алоімунна тромбоцитопенія новонароджених

BMDIS (Bone Marrow Donor Information System) — інформаційна система донорів кісткового мозку

CCI (Corrected Count Increment) — скоригований показник зростання тромбоцитів після переливання КТ

CF — цитратно-формалінова рідина

CPD — розчин для консервування крові (містить глюкозу, іони натрію та іони цитратів)

CPDA-1 — розчин для консервування крові (містить глюкозу, аденін, іони натрію та іони цитратів)

CV (Coefficient of Variation) — коефіцієнт мінливості

ddNTP (dideoxynucleotide triphosphates) — дідезоксинуклеотидтрифосфати

EDTA — етилендіамінтетраоцтова кислота (дінатрієва сіль)

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) — оглядовий імуноензимний тест

FITC — ізотіоціанат флюоресцеїну

g — земне прискорення

G-CSF (Granulocyte Colony-Stimulating Factor) — гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор

GAP (Good Analytical Practice) — Належна аналітична практика

GCP (Good Clinical Practice) — Належна клінічна практика

GIP (Good Informatics Practice) — Належна методика комп'ютерної обробки

GLP (Good Laboratory Practice) — Належна лабораторна методика

GP (ГП) — глікопротеїни

GSP (Good Storage Practice) — Належна методика зберігання

GvHd (Graft versus Host Disease) — хвороба «трансплантат проти господаря»

GVP (Good Validation Practice) — Належна методика випробування

Gy — ґрей, одиниця енергії, вимірюваної у джоулях та поглиненої 1 кг матерії (1 Gy = 100 рад = 1 $кг^{-1}$)

HBsAg (Hepatitis B Surface Antigen) — поверхневий антиген вірусу гепатиту В

HBV (Hepatitis B Virus) — вірус гепатиту В

HCV (Hepatitis C Virus) — вірус гепатиту С

HIV, HIV-1 та HIV-2, HIV-1/2 — ВІЛ-віруси пригнічення імунітету людини ВІЛ-1 та ВІЛ-2 (англ. Human Immunodeficiency Viruses HIV-1 and HIV-2)

HLA (Human Leukocyte Antigen) — лейкоцитарні антигени людини

HPA (Human Platelet Antigens) — специфічні антигени тромбоцитів

Ht — гематокрит

HTLV I/II — Т-лімфоцитотропні ретровіруси людини

i.v. IgG (Intra Venous Immunoglobulinum G) — внутрішньовенні імуноглобуліни G

ID (identification number) — ідентифікаційний номер

IgA — імуноглобулін класу А

IgG — імуноглобулін класу G

IgM — імуноглобулін класу М

IQ (Installation Qualification) — інсталяційна кваліфікація

K_3EDTA — калієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти

KRDK (ВРДК) — Всепольський реєстр донорів крові

LCT (ЛІЦТ) — тест на лімфоцитотоксичність

LEN — реактив/ензимний тест низької іонної сили (LISS + Ензим)

LIM (Low Ionic Medium) — реактив, що використовується у полібреновому тесті

LISS (Low Ionic Salt Solution) — реактив, що використовується в аналізах, які виконуються в середовищах низької іонної сили; низькоіонний сольовий розчин

MEP — реактив, що використовується для розкладу аутоантитіл на кров'яних тільцях (2-меркаптоетанол + папаїн)

MHC (Major Histocompatibility Complex) — головний комплекс гістосумісності

Na_2EDTA — дінатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти

NaCl — хлорид натрію

NAOH — гідроксид натрію

NAT (Nucleic Acid Tests) — аналізи для визначення нуклеїнових кислот

OQ — операційна кваліфікація

PBS — буферний розчин 0,9% NaCl

PEG — реактив, що використовується для адсорбції аутоантитіл в антиглобуліновому тесті (поліетиленгліколь)

PIFT (Platelet ImmunoFluorescence Test) — імунофлюоресцентний тест

PQ (Perfomance Qualification) — кваліфікація процесу

RIBA (Recombinant Immunoblot Assay) — додатковий тест, побудований на техніці WB

RS (Resuspending Solution) — розчин для завішування кров'яних тілець у полібреновому тесті

S/CO (Signal/Cutoff) — показник відношення абсорбації зразка до cut-off

SAGM — збагачувальний розчин, що використовується з метою подовження життєздатності еритроцитів

SBT (Sequence-Based Typing) — типування на основі сіквенсу

TA-GvHD (Transfusion Associated Graft versus Host Disease) — посттрансфузійна хвороба, за якої пересаджена тканина постає проти організму-господаря

TMA (Transcription Mediated Amplification) — ампліфікація внаслідок зворотної транскрипції

TRALI (Transfusion Related Acute Lung Injury) — посттрансфузійна гостра дисфункція дихання

TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) — губчаста енцефалопатія

URS (User Requirement Specification) — специфікація вимог користувача

USR (Unheated Serum Reagin Test) — тест на наявність сифілітичних антитіл

VDRL (Veneral Disease Research Laboratory Test) — тест на наявність сифілітичних антитіл

WB (Western Blot) — тест-підтвердження Western Blot

WHO (ВООЗ) (World Heals Organization) — Всесвітня організація охорони здоров'я

WNV — вірус Західного Нілу

АІГА — аутоімунна гемолітична анемія

АлАТ (Alanine Aminotransferase) — аланінова амінотрансфераза

анти-HBs — антитіла до поверхневого антигену вірусу гепатиту (запалення печінки) В

анти-HCB — антитіла до вірусу гепатиту С

анти-HIV-1 та анти-HIV-2 — антитіла до вірусів пригнічення імунітету людини HIV-1 та HIV-2

анти-RhD — антитіла до антигену D системи Rh

БЦЖ (Bacillus Calmette-Guérin) — вакцина проти туберкульозу

ВГ-А — вірусний гепатит, викликаний вірусом А

ВГ-В — вірусний гепатит, викликаний вірусом В

ВЗК — відділ заготівлі крові

ВЗЯ — відділ забезпечення якості

ВІЛ — вірус імунодефіциту людини

ВКЕ — відмитий концентрат еритроцитів

ВКТ — відмитий концентрат тромбоцитів

ВКТ — відновлений концентрат тромбоцитів

ВТ — відділення трансфузіології

ГЕК — гідроксиетилкрохмаль

ГКГ — головний комплекс гістосумісності людини

ГСК — гемопоетичні стовбурові клітини

ГХН — гемолітична хвороба у новонароджених

ГХПН — гемолітична хвороба плода та новонародженого

ДВЗ (Disseminated Intravascular Coagulation) — дисеміноване внутрішньосудинне згортання

ДМСО — диметилсульфоксид

ДНК — дезоксирибонуклеїнова кислота

ЗВТ — засоби вимірювальної техніки

ЗГР (Delayed Haemolytic Transfusion Reaction) — запізніла гемолітична реакція

ЗКЕ — заморожений концентрат еритроцитів

ЗКТ — заморожений концентрат тромбоцитів

ЗОЗ — заклади охорони здоров'я

ЗСК — заклади служби крові

ЗЯ (Quality Assurance) — забезпечення якості

ІГТ — Інститут гематології та трансфузіології

КГ — концентрат гранулоцитів

КЕ — концентрат еритроцитів

КЕ без ЛТШ — концентрат еритроцитів, позбавлений лейкоцитарно-тромбоцитарного шару

КЕ/ЗР — концентрат еритроцитів зі збагачувальним розчином

КЕ/ЗР без ЛТШ — концентрат еритроцитів у збагачувальному розчині, позбавлений лейкоцитарно-тромбоцитарного шару

КЕ-аф. — концентрат еритроцитів, отриманий методом аферезу (автоматизованим)

КЕЗЛ — концентрат еритроцитів, збіднений на лейкоцити

КТ — концентрат тромбоцитів

КТ-аф. — концентрат тромбоцитів, отриманий методом аферезу (автоматизованим)

КЦВ — кров цільна відновлена

КЦК — кров цільна консервована

КЯ (Quality Control) — контроль якості

НАГТ — непрямий антиглобуліновий тест

НАГТ-LISS — непрямий антиглобуліновий тест у середовищі низької іонної сили

НАГТ-NaCl — непрямий антиглобуліновий тест у середовищі фізіологічного розчину NaCl

НАГТ-PEG — непрямий антиглобуліновий тест із застосуванням поліетиленгліколю

ОІА (Enzyme Immunoassay) — оглядовий імуноензимний тест

ОГ — оптична густина

ОКЕ — опромінений концентрат еритроцитів

ОКТ — опромінений концентрат тромбоцитів

ООЗ — обладнання одноразового застосування

ОЦК — об'єм циркулюючої крові

ОЦПБС — обласний центр по боротьбі зі СНІДом

ПАГТ — прямий антиглобуліновий тест

ПВХ — поліхлорвініл

ПЛР (PCR) (Polymerase Chain Reaction) — полімеразна ланцюгова реакція

ПТД (Post Transfusion Purpura) — посттрансфузійний діатез, пов'язаний із низьким рівнем тромбоцитів

ПХГ — пароксизмальна холодова гемоглобінурія, синдром Доната–Ландштейнера

РКК — рідні кровотворні клітини

РНК — рибонуклеїнова кислота

СВ (Standard Deviation) — стандартне відхилення

СЄ (Conformité Européenne) — система європейських відповідностей

СЗП (Fresh Frozen Plasma) — свіжозаморожена плазма

СНІД (Acquired Immunodeficiency Syndrome) — синдром набутого імунодефіциту

СОП (Standard Operating Procedure) — стандартна операційна процедура

ССОП (SSOP) (Sequence Specific Oligonucleotide Probes) — сіквенсспецифічні олігонуклеотидні проби

ССП (SSP) (Sequence Specific Primers) — сіквенсспецифічні праймери

СУЯ (Quality Management System) — система управління якістю

ТВ — територіальне відділення

ТГСК — трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин

ТКМ — трансплантація кісткового мозку

Ф. VIII — фактор згортання VIII-антигемофільний глобулін

ФС (Functional Specification) — функціональна специфікація

ЦМВ — цитомегаловірус

ЦНС — центральна нервова система

Розділ 1
СИСТЕМА ЯКОСТІ У СЛУЖБІ КРОВІ

ЗМІСТ

1.1. Принципи організації системи якості 14
1.2. Система якості 14
1.3. Система управління якістю 15
1.4. Система забезпечення якості 16
1.4.1 Належна виробнича практика 17
1.4.2. Система контролю якості 17
1.4.3. Організація роботи персоналу та його навчання 17
1.4.3.1. Персонал 17
1.4.3.2. Навчання персоналу 18
1.4.3.2.1. Вступні заняття 18
1.4.3.2.2. Посадові (робочі) заняття 18
1.4.3.2.3. Спеціальні заняття 18
1.4.3.2.4. Додаткові заняття 18
1.4.3.2.5. Документація 19
1.4.4. Приміщення 19
1.4.4.1. Стаціонарні приміщення 19
1.4.4.2. Виїзні бригади 20
1.4.5. Апаратура, одноразове обладнання, реактиви 20
1.4.5.1. Випробування 21
1.4.5.1.1. Випробування реактивів 21
1.4.5.1.2. Випробування апаратури 21
1.4.5.1.2.1. Інсталяційна кваліфікація 22
1.4.5.1.2.2. Операційна кваліфікація 23
1.4.5.1.2.3. Кваліфікація процесу / перевірка процесу 23
1.4.5.1.2.4. Випробування комп'ютерної програми 23
1.4.5.1.2.5. Випробування холодильних установок для зберігання еритроцитовмісних компонентів 24
1.4.5.1.2.6 Випробування морозильних камер для зберігання свіжозамороженої плазми (ПСЗ) / кріопреципітату 24
1.4.5.1.2.7. Випробування пристроїв для зберігання концентрату тромбоцитів (КТ) 24
1.4.5.1.2.8. Випробування змішувачів для зберігання КТ 24
1.4.5.1.2.9. Випробування пристроїв для стерильного поєднання магістралей 24
1.4.5.1.2.10. Випробування діелектричних зварних апаратів 25
1.4.5.1.3. Випробування процесів, застосованої техніки і методик 25
1.4.5.1.3.1. Випробування лабораторних методик 25
1.4.5.1.3.2. Випробування дезінфекції місця венозного доступу 25
1.4.5.1.3.3. Перше та повторне випробування процесів виготовлення компонентів крові 25
1.4.5.1.3.4. Випробування процесу заморожування плазми 25
1.4.5.1.3.5. Перше та повторне випробування умов зберігання та транспортування. 26
1.4.5.2. Калібрування вимірювальних приладів 26
1.4.5.3. Поточний контроль 28
1.4.5.3.1. Поточний контроль реактивів 28
1.4.5.3.2. Поточний контроль матеріалів, що використовуються для приготування компонентів крові 29
1.4.5.3.3. Поточний контроль обладнання 29
1.4.5.3.4. Поточний контроль лабораторних досліджень 29
1.4.5.3.5. Поточний контроль процесів виробництва компонентів крові 29
1.4.5.3.6. Поточний контроль умов зберігання і транспортування 29

1.4.6. Документація ... 30
1.4.6.1. Поточний контроль ... 30
1.4.6.1.1. Схема організаційної структури ... 30
1.4.6.1.2. Сфера обов'язків ... 31
1.4.6.2. Стандартні операційні процедури (СОП) ... 31
1.4.6.2.1. Розроблення СОП ... 31
1.4.6.2.1.1. Формальні вимоги ... 31
1.4.6.2.1.2. Вимоги за змістом ... 32
1.4.6.2.1.3. Суттєві вимоги ... 32
1.4.6.2.2. Перелік обов'язкових СОП ... 32
1.4.6.2.3. Керування СОП ... 33
1.4.6.2.3.1. Актуалізація СОП ... 33
1.4.6.2.3.2. Підтвердження (верифікація) СОП ... 33
1.4.6.2.3.3. Архівування СОП ... 34
1.4.6.3. Специфікації ... 34
1.4.6.3.1. Розроблення специфікацій ... 34
1.4.6.3.1.2. Формальні вимоги ... 34
1.4.6.3.1.3. Суттєві вимоги ... 34
1.4.6.3.1.4. Керування специфікаціями ... 34
1.4.6.4. Документи, що описують поточну роботу ... 35
1.4.6.4.1. Документація в комп'ютерній системі ... 35
1.4.6.4.1.1. Основні вимоги до комп'ютерної програми, яка використовується для ведення поточної документації ... 35
1.4.6.4.1.2. Зауваження стосовно ведення документації в комп'ютерній системі ... 36
1.4.6.4.2. Документація у вигляді книг ... 36
1.4.6.4.3. Протоколи ... 36
1.4.6.4.4. Листівки-інформації про компоненти крові ... 37
1.4.7. Забезпечення якості у процесі заготівлі крові та виготовлення її компонентів ... 38
1.4.8. Забезпечення якості під час виготовлення компонентів крові ... 38
1.4.8.1. Виготовлення препаратів у відкритій системі ... 38
1.4.8.2. Метод інактивації інфекційних агентів в окремих дозах плазми ... 39
1.4.8.3. Опромінення компонентів крові ... 39
1.4.8.4. Кваліфікація компонентів крові ... 39
1.4.9. Забезпечення якості під час зберігання та експедиції ... 40
1.4.9.1. Зберігання ... 40
1.4.9.2. Експедиція ... 40
1.4.10. Контроль якості ... 40
1.4.10.1. Контроль якості крові та її компонентів ... 40
1.4.10.1.1. Взяття проб для контролю якості ... 40
1.4.10.1.1.1. Особливості взяття проб для контролю якості деяких еритроцитовмісних компонентів ... 41
1.4.10.1.1.2. Взяття проб для контролю якості КТ ... 41
1.4.10.1.1.3. Взяття проб для контролю якості концентрату гранулоцитів (КГ) ... 41
1.4.10.1.1.4. Взяття проб для контролю якості ПСЗ ... 41
1.4.10.1.1.5. Взяття проб для контролю якості кріопреципітату ... 41
1.4.10.1.2. Визначення показників, пов'язаних із контролем якості ... 41
1.4.10.1.2.1. Визначення об'єму ... 42
1.4.10.1.2.2. Визначення гематокриту ... 42
1.4.10.1.2.3. Визначення абсолютного вмісту гемоглобіну в еритроцитовмісних компонентах та донорській крові ... 42
1.4.10.1.2.4. Визначення вмісту гемоглобіну в розморожених еритроцитах ... 42
1.4.10.1.2.5. Визначення рівня гемолізу в еритроцитовмісних компонентах, що перебувають на зберіганні ... 43
1.4.10.1.2.6. Визначення вмісту білка у відмитих еритроцитах та у плазмі ... 43
1.4.10.1.2.7. Визначення кількості лейкоцитів в еритроцитах із видаленим тромболейкоцитарним шаром та в еритроцитах, збіднених на лейкоцити) ... 43
1.4.10.1.2.8. Визначення кількості тромбоцитів у КТ та КТЗЛ ... 43
1.4.10.1.2.9. Визначення кількості лейкоцитів у КТ ... 44
1.4.10.1.2.10. Визначення кількості еритроцитів у ПСЗ ... 44
1.4.10.1.2.11. Визначення кількості лейкоцитів у ПСЗ ... 44

1.4.10.1.2.12. Визначення кількості тромбоцитів у ПСЗ ... 45
1.4.10.1.2.13. Визначення активності Ф. VIII у ПСЗ/кріопреципітаті ... 45
1.4.10.1.2.14. Визначення концентрації фібриногену у кріопреципітаті ... 45
1.4.10.1.2.15. Визначення pH ... 45
1.4.10.1.2.16. Визначення кількості лейкоцитів у КТЗЛ ... 45
1.4.10.1.2.17. Визначення вмісту гранулоцитів у концентраті гранулоцитів ... 46
1.4.10.1.2.18. Визначення вмісту гемоглобіну в супернатанті розморожених еритроцитів (Е) ... 46
1.4.10.1.3. Оцінка якості крові та її компонентів ... 46
1.4.10.1.4. Документація контролю якості крові та її компонентів ... 50
1.4.10.1.5. Відбракування і знищення крові та її компонентів ... 50
1.4.10.1.5.1. Відбракування через інфекцію ... 50
1.4.10.1.5.2. Процедура ретроспективного аналізу (look back) ... 50
1.4.10.1.5.3. Знищення крові та її компонентів ... 51
1.4.10.2. Контроль якості лабораторних досліджень ... 51
1.4.10.2.1. Внутрішньолабораторний контроль ... 51
1.4.10.2.1.1. Оцінка точності результату (прецизії) ... 52
1.4.10.2.1.2. Оцінка повторюваності (регулярності) ... 52
1.4.10.2.1.3. Оцінка відтворюваності ... 52
1.4.10.2.1.4. Оцінка точності вимірів ... 52
1.4.10.2.1.5. Лінійність ... 53
1.4.10.2.1.6. Діапазон ... 53
1.4.10.2.1.7. Специфічність ... 53
1.4.10.2.2. Міжлабораторний контроль ... 53
1.4.11. Моніторинг якості ... 53
1.4.12. Управління контрактами ... 53
1.4.13. Побічні дії, рекламації, ускладнення після переливання, профілактичні та лікувальні дії (надання невідкладної допомоги) ... 53
1.4.13.1. Побічні дії (відхилення) ... 53
1.4.13.2. Рекламації ... 54
1.4.13.3. Приймання повідомлень про реакції організму після переливання ... 54
1.4.13.4. Коригувальні та профілактичні дії ... 54
1.4.14. Аудити, інспекції, самоперевірки ... 54
1.4.14.1. Аудит ... 54
1.4.14.2. Інспекція ... 55
1.4.14.3. Самоперевірки ... 55
1.4.15. Валідація ... 55

1.1. Принципи організації системи якості

Власник ліцензії на виробництво зобов'язаний виробляти лікарські засоби із донорської крові так, щоб забезпечити їх відповідність своєму призначенню та виключити ризик для пацієнтів, пов'язаний з їх недостатньою безпекою, якістю та ефективністю. Згідно з Наказом 2002/98/WE Європейського парламенту та рекомендаціями Ради Європи, наказами МОЗ України від 09.03.2010 р. №211 «Порядок контролю за дотриманням показників безпеки та якості донорської крові та її компонентів», від 14.12.2010 р. №1112 «Про затвердження Положення для установи переливання крові (щодо організації управління системою якості і безпеки донорської крові та її компонентів)», від 17.12.2013 р. №1093 «Про затвердження Інструкції з виготовлення, використання та забезпечення якості компонентів крові» та Настанови «Належна виробнича практика СТ-Н МОЗУ 42–4.0: 2014» сучасний підхід до проблеми якості донорської крові та її компонентів полягає у розумінні основного положення: якість виникає під час заготівлі крові, а не під час її контролю. Тому, запроваджуючи в службу крові України принципи Належної виробничої практики (Good Manufacturing Practice, GMP), неможливо обмежуватись самим лише контролем якості крові та її компонентів — слід запроваджувати та систематично покращувати всі дії, починаючи з відбору донорів і закінчуючи переливанням крові чи її компонентів, включаючи при цьому моніторинг якості апаратури, обладнання, реактивів та контейнерів для крові.

1.2. Система якості

Система якості — це організаційна структура, функціональні обов'язки, правила, процеси, процедури і ресурси, встановлені виконавчим керівництвом ЗСК для досягнення і забезпечення якості, ключ доступу всіх пацієнтів до безпечних компонентів крові.

Система якості, яку зобов'язаний розробити, запровадити й дотримуватись кожен ЗСК, включає систему управління якістю (Quality Management System, QMS), забезпечення якості (Quality Assurance, QA) та контроль якості (Quality Control). Ці системи спираються на принципи належної виробничої практики (GMP).

Рис. 1.1. Системи якості у службі крові та їх взаємозв'язок

Для функціонування системи якості щоденно має здійснюватися загальне управління якістю, що стратегічно і систематично має бути зосереджене на якості продукції, яка виготовляється в закладі.

Система якості має гарантувати:

– що реалізація продукції досягається за допомогою розробки, планування, впровадження, підтримування і безперервного удосконалення системи, яка дає можливість постійно поставляти продукцію з відповідними показниками якості;

– компоненти донорської крові розроблені і досліджені з урахуванням вимог Належної виробничої практики;
– операції з виготовлення і контролю якості специфіковані й відповідають Належній виробничій практиці;
– чітко визначені відповідальність і обов'язки керівництва;
– здійснені заходи щодо виробництва, постачання і використання належної вихідної сировини і пакувальних матеріалів, а також для вибору і контролю постачальників;
– встановлено контрольований стан, що підтримується за допомогою розробки і використання систем ефективного контролю і моніторингу відносно параметрів процесу і якості продукції;
– результати контролю продукції і процесів враховують при випуску серії, при розслідуванні відхилень і для вживання запобіжних та корегувальних дій;
– проведений весь необхідний контроль проміжної продукції, будь-який інший виробничий контроль і валідація;
– компоненти донорської крові правильно виготовлені і перевірені відповідно до встановлених методик;
– відбувається постійне поліпшення якості через впровадження системи вдосконалення знань та виробничих процесів;
– здійснюють заходи для перспективної оцінки запланованих змін перед впровадженням;
– після впровадження будь-якої зміни проводиться її оцінка для підтвердження того, що мета в сфері якості була досягнута, і що зміна не призвела до ненавмисного негативного впливу на якість продукції;
– під час розслідування відхилень, передбачуваного браку продукції та інших проблем застосовується відповідний рівень аналізу основних причин. Вони можуть бути визначені з використанням управління ризиками для якості;
– компоненти донорської крові не будуть видані в ЗОЗ до того, як Уповноважена особа не засвідчить, що кожна серія продукції була виготовлена і проконтрольована відповідно до вимог наказів МОЗ України, СОП та будь-яких інших розпорядчих документів щодо їх виготовлення, контролю і випуску;
– здійснені достатні заходи, які гарантують, що якість компонентів донорської крові підтримується протягом усього терміну придатності при їхньому зберіганні;
– є процедура проведення самоінспекції та/або аудиту якості, за якою регулярно оцінюють ефективність і придатність системи якості.

1.3. Система управління якістю

У рекомендаціях GMP зазначено, що досягнення якості має відбуватися за участю всього персоналу служби крові, проте управління якістю лежить на плечах керівництва ЗСК. Основні завдання управління, зібрані в один документ, т. зв. Книгу управління якістю:
– визначення вартості якості;
– управління персоналом;
– керування контрактами;
– маркетингова політика;
– політика розвитку та інвестицій;
– постійне вдосконалення системи відповідно до змінних умов.

Книга управління якістю описує політику якості та рівень системи якості, що визначається керівництвом, а впроваджується всім персоналом. Документ «Політика якості» має формулювати й однозначно окреслювати мету та зобов'язання ЗСК у всьому, що стосується якості. Цей документ має описувати також стратегію постійних удосконалень та додаткових дій, які є результатом взятих закладом на себе зобов'язань. Книга управління якістю являє собою документ виключно для внутрішнього застосування й містить певні таємні відомості. Доступ до цього документа повинен бути обмежений визначеною кількістю осіб; їх перелік визначає керівник ЗСК.

До завдань Системи управління якістю належать:
– управління якістю та контроль змін;
– оперативне планування;

– управління донорськими кадрами;
– управління закупівлею сировини та матеріалів;
– управління метрологічним забезпеченням;
– управління інфраструктурою;
– управління персоналом та його навчанням;
– управління проектуванням приміщень з урахуванням потреб виїзних бригад;
– управління забезпеченням обладнанням, турбота про устаткування, в т.ч. одноразового застосування, реактиви;
– управління документацією;
– управління заготівлею крові та виготовленням її компонентів;
– управління умовами зберігання та видачі компонентів крові;
– управління контролем якості;
– управління контрактами; ведення статистики скарг та відмов, а також усіх подій, що можуть впливати на переливання, профілактичні та лікувальні дії;
– управління аудитами, інспекціями та самоперевірками;
– взаємодія із ЗОЗ.

1.4. Система забезпечення якості

Забезпечення якості — всеохоплююче поняття планової та систематичної діяльності для досягнення та втримання належної якості. Воно включає всі питання, які окремо або в цілому впливають на якість продукції.

Забезпечення якості є знаряддям управління якістю; ця сфера діяльності має свою організаційну структуру, процеси та документацію. Відділ забезпечення якості є організаційно незалежною одиницею, яка підпорядкована лише керівнику ЗСК.

Основним документом у Системі забезпечення якості служби крові є книга якості — документ, який в упорядкованому вигляді являє собою всю систему, посилаючись на зібрання інструкцій, а також на особливі інструкції стосовно справ, що впливають на якість. До найважливіших елементів Книги якості належать:

– мета політики якості;
– інформація про заклад служби крові (юридичний статус, місце розташування, сфера діяльності);
– організаційна структура (адміністративна схема, характеристика окремих відділів, сфера обов'язків працівників та визначення відповідальності для окремих посад);
– опис системи якості із зазначенням інструкцій;
– опис системи документації (з визначенням понять, характерних для теорії якості);
– критерії добору та оцінки постачальників обладнання, апаратури, реактивів;
– принципи професійних навчань та підвищення кваліфікації;
– принципи контролю всіх дій, що впливають на якість (аудити, інспекції тощо).

Книгу якості розробляють для презентації системи якості для зовнішніх користувачів (для тих, хто займається фракціонуванням плазми, аудиторів, зовнішніх співробітників тощо), і для внутрішнього користування. Записи у ній мають постійно оновлюватися. Розпочати роботу над книгою якості слід тоді, коли близько 70–80% стандартних операційних процедур (СОП) із загальної кількості запланованих уже підготовлені й запроваджені.

Система забезпечення якості має гарантувати:

– що компоненти крові виготовлені, досліджені з урахуванням вимог Належної виробничої практики;
– операції з виготовлення і контролю якості специфіковані й відповідають Належній виробничій практиці;
– чітко визначені відповідальність і обов'язки керівництва;
– проведено весь необхідний виробничий контроль;
– продукція правильно виготовлена і перевірена відповідно до встановлених методик;
– здійснені достатні заходи, які гарантують, що якість компонентів крові підтримується протягом усього терміну придатності при їх зберіганні і транспортуванні.

1.4.1. Належна виробнича практика

GMP є частиною управління якості, яка гарантує, що продукцію постійно виробляють і контролюють за стандартами якості відповідно до її призначення та вимог діючої нормативної документації.

GMP пов'язана як із виготовленням (технологічним процесом) компонентів крові, так і з їх контролем якості.

Основні вимоги GMP:

– усі виробничі процеси мають бути чітко визначені; їх слід систематично переглядати з урахуванням набутого досвіду та внесених змін;
– критичні стадії виробничого процесу й істотні зміни процесу повинні пройти валідацію;
– мають бути в наявності всі засоби для GMP, включаючи:
  • навчений персонал, що має необхідну кваліфікацію;
  • відповідні приміщення та площі;
  • необхідне обладнання та правильне його обслуговування;
  • належні матеріали, контейнери та етикетки;
  • затверджені методики та інструкції згідно з системою управління документацією;
  • відповідне зберігання і транспортування;
– має бути в наявності система відкликання будь-якої серії продукції, розгляду рекламації, виявлення дефектів якості та запобігання подібних випадків.

Визначення, яким користуються в американській термінології — чинна Належна виробнича практика (current Good Manufacturing Practice, cGMP), підкреслює факт, що виробнича практика повсякчас удосконалюється відповідно до умов, що змінюються, і що відхилень від цієї практики немає.

Інші успішні практики, пов'язані з ширшим розумінням якості крові та її компонентів:

– GLP (Good Laboratory Practice) — Належна лабораторна методика;
– GCP (Good Clinical Practice) — Належна клінічна практика;
– GSP (Good Storage Practice) — Належна методика зберігання;
– GVP (Good Validation Practice) — Належна методика випробування;
– GIP (Good Informatics Practice) — Належна методика комп'ютерної обробки.

1.4.2. Система контролю якості

Контроль якості — це та частина GMP, що пов'язана з відбором проб, специфікаціями і проведенням випробувань, а також з процедурами організації, документування і видачі дозволу на випуск, які гарантують, що дійсно проведені всі необхідні й відповідні випробування, матеріали не будуть дозволені до використання, а продукція не буде допущена до реалізації, доки її якість не буде визнана задовільною.

До завдань Системи контролю якості належать:

– організація роботи персоналу та його навчання;
– відбір проб вихідної сировини, пакувальних матеріалів, проміжної, нерозфасованої та готової продукції;
– здійснення контролю якості;
– моніторинг якості;
– валідація методів дослідження;
– організація забезпечення обладнанням, турбота про устаткування, у т.ч. одноразового застосування, реактиви;
– управління документацією;
– моніторинг заготівлі крові та виготовлення її компонентів;
– моніторинг умов зберігання та видачі компонентів крові.

1.4.3. Організація роботи персоналу та його навчання

1.4.3.1. Персонал

Для правильного функціонування ЗСК необхідна відповідна кількість кваліфікованого персоналу. Особливо суттєвим є відповідний розподіл керівних посад, який має враховувати, насамперед, освіту. До ключових посад, окрім посади головного лікаря, належать:

– уповноважена особа з якості (особа, відповідальна за дотримання медичних засад заготівлі крові, виготовлення її компонентів та видачі — Наказ МОЗ України №1112 від 14.12.2010 р.);

– заступник головного лікаря з медичних питань;
– заступник головного лікаря з виробництва;
– керівник відділу організації і трансфузіологічної допомоги;
– керівник відділу комплектування донорських кадрів;
– керівник відділу заготівлі донорської крові і виготовлення компонентів;
– керівник відділу технічного контролю;
– керівник клініко-імунологічної лабораторії;
– керівник відділу лабораторної діагностики та профілактики СНІД та інших інфекцій, які передаються трансфузійним шляхом;
– керівник відділу експедиції.

Будь-яке поєднання відповідальності керівників відділу технічного контролю або інших відділів із функціями уповноваженої особи з якості є неприпустимим.

Керівник ЗСК за фахом має бути лікарем-трансфузіологом.

Керівник відділу технічного контролю відповідає за розробку та функціонування системи контролю якості. Призначення уповноваженої особи, яка має відповідати за все вищеназване, можливе тільки після проведеного з нею документально зафіксованого навчання.

Уповноважена особа повинна мати повну вищу освіту (спеціаліст, магістр) за напрямом підготовки «Медицина» або повну вищу освіту (спеціаліст, магістр) за напрямом підготовки «Біологія». Стаж роботи за фахом у ЗСК має становити не менше двох років.

1.4.3.2. Навчання персоналу

Згідно із принципами GMP обов'язком адміністрації ЗСК є підвищення кваліфікації та якості роботи персоналу, починаючи з тих працівників, які реєструють донорів, і закінчуючи особами, що займаються транспортуванням крові та її компонентів.

Навчання працівників може мати різний обсяг і характер залежно від початкового рівня підготовки, посади, обов'язків, а також термінових завдань. За різновидом заняття поділяються:
– на вступні;
– посадові;
– спеціальні;
– додаткові.

1.4.3.2.1. Вступні заняття

Проводяться для працівників, які тільки розпочинають роботу у ЗСК. Метою цих навчань є ознайомлення нових працівників з усіма вимогами. Ці навчання мають поєднуватися з обов'язковими заняттями, із заняттями з питань охорони праці та заняттями з питань забезпечення належної якості, чинними у закладах служби крові. Тривалість занять — 1–2 дні.

1.4.3.2.2. Посадові (робочі) заняття

Покликані ознайомити працівника із засадами GMP, що стосуються його робочої посади. Заняття проводить керівник відділу або лабораторії. Такі навчання мають здійснюватися регулярно (щонайменше раз на рік для кожного працівника), а у випадку застосування нової апаратури або нового методу роботи — щоразу.

1.4.3.2.3. Спеціальні заняття

Спеціальні заняття організовуються для невеликої групи працівників, які займаються певною вузькоспеціалізованою роботою. Такими заняттями можуть бути, наприклад, навчання для працівників, які займаються обслуговуванням нової апаратури, закупленої ЗСК. Зазвичай їх проводить особа ззовні, приміром, працівник сервісу, у присутності працівника відділу забезпечення якості (ВЗЯ).

1.4.3.2.4. Додаткові заняття

Включають усі різновиди занять (за винятком вступних), які мають періодично повторюватися. Відповідна стандартна операційна процедура (СОП) має визначати тривалість таких занять, а також пояснення щодо терміну, форми та визначення переліку осіб для їх повторного проведення.

1.4.3.2.5. Документація

Перед початком календарного року має бути розроблений план навчань. Обов'язок щодо розробки такого плану має бути покладений на керівника відділу технічного контролю або уповноважену особу. Документ має бути затверджений керівником закладу.

План навчань має включати перелік видів навчань, персонал, для якого призначені ці навчання, тему занять, дату занять, принципи екзаменування.

Після закінчення кожного навчання працівник має отримати свідоцтво, яке містить інформацію про різновид навчання та принципи екзаменування. Отримуючи таке свідоцтво, працівник, який проходив навчання, має поставити свій підпис. Усі свідоцтва про пройдені навчання зберігаються в особових справах у відділі кадрів.

Після закінчення посадових занять уповноважена особа має простежити за впровадженням відповідних змін у СОП, а також за наявністю у відповідних інструкціях підписів працівників, які проходили навчання.

Вступні, посадові, спеціальні та додаткові заняття мають закінчуватися екзаменом. Якщо йдеться про вступні, спеціальні та додаткові заняття, — екзамен відбувається у вигляді тестів. Що ж до посадових занять — після них екзамен має практичний характер і проводиться керівником лабораторії або відділу.

Слід прагнути, щоб кожен працівник ЗСК (особливо фаховий персонал) мав карту навчань, де фіксуються як внутрішні, так і зовнішні навчання. Карти мають зберігатися в особистій документації працівника, у відділі організації та надання трансфузійної допомоги і відділі кадрів.

1.4.4. Приміщення

Усі приміщення, обладнання й устаткування, що використовується у ЗСК, мають піддаватися ефективній дезінфекції з метою мінімізації ризику мікробіологічних забруднень.

1.4.4.1. Стаціонарні приміщення

Приміщення у ЗСК мають бути спроектовані з урахуванням функцій окремих робочих місць.

З метою збереження донорської таємниці (конфіденційність донорів) слід так спроектувати ЗСК, щоб у ньому були відокремлені місця для заповнення анкет і для проведення співбесіди.

Заготівля крові, виготовлення її компонентів, дослідження крові та її компонентів мають відбуватися в окремих приміщеннях з санкціонованим доступом. Приміщення, призначені для донорів, повинні бути відділені від лабораторних приміщень, а також від тих, де відбувається виготовлення компонентів крові.

Виготовлення компонентів крові має проводитись у приміщенні з допустимими мікрокліматичними параметрами, які забезпечуються за рахунок кондиціонування повітря. Клас чистоти приміщень визначається видом робіт, які в них проводяться.

Приміщення для виготовлення компонентів крові з відкритою системою мають бути обладнані шафою з ламінарним потоком повітря. На випадок аварійного відключення електроенергії приміщення необхідно обладнати системою аварійної сигналізації. Інструкції мають докладно описувати порядок дій при аварійних ситуаціях. Складські зони мають забезпечувати впорядковане зберігання різних категорій матеріалів та продукції: вхідної сировини, пакувальних матеріалів, проміжної і готової продукції, продукції, дозволеної до випуску, а також продукції, яка невідконтрольована та продукції відбракованої.

Компоненти крові, що знаходяться на карантині, мають зберігатися в окремих приміщеннях із чітким маркуванням та обмеженим доступом. Для зберігання компонентів крові зі статусом «на видачу» мають бути виділені спеціальні приміщення — зони видачі. Ці зони використовуються тільки для компонентів крові, видача яких дозволена розпорядженням Уповноваженої особи з якості.

Для зберігання відкликаної та забракованої продукції має бути виділено окреме приміщення із санкціонованим доступом.

Для забезпечення санітарно-епідеміологічного режиму в закладі мають бути передбачені санітарно-побутові приміщення та туалети, розташовані поблизу, але ізольовано від виробничих приміщень, укомплектовані необхідним обладнанням, прибиральним інвентарем, мийними і дезінфікуючими засобами.

Окреме закрите приміщення має бути призначене для зберігання матеріалів, устаткування та реактивів, які під час контролю визнані непридатними до використання, а також тих, стосовно яких надійшли скарги.

1.4.4.2. Виїзні бригади

Приміщення може бути визнаним придатним для заготівлі крові при його відповідності до таких вимог:

– наявність відповідного місця для здійснення лікарських обстежень, дбаючи при цьому про донорську таємницю (конфіденційність донора);

– наявність вентиляції, доступу до електромережі (220 V); відповідну освітленість, оснащеність достатньою кількістю умивальників і туалетів;

– у ньому мають бути створені умови для можливого спілкування між донорами та персоналом;

– наявність необхідного устаткування для зберігання крові та її транспортування.

1.4.5. Апаратура, одноразове обладнання, реактиви

Перелік основного обладнання та устаткування, що застосовується в ЗСК, має визначатися відповідно до вимог нормативної документації МОЗ України. При виборі, експлуатації та обслуговуванні обладнання, яке безпосередньо впливає на якість та безпеку донорської крові та її компонентів, мають бути враховані потенційні ризики, пов'язані з критичними етапами технологічних процесів. Апаратуру, обладнання та реактиви рекомендовано купувати у постачальника, який має надати відповідний пакет супровідної документації: свідоцтво про державну реєстрацію, паспорт, керівництво користувача (інструкція з експлуатації) державною мовою.

Апаратура та обладнання мають використовуватись за своїм призначенням, що прописано у відповідній процедурі та в інструкції з експлуатації.

Вимоги до метрологічного забезпечення включають в себе комплекс правил, положень і вимог технічного, економічного і правового характеру, що визначають організацію і порядок проведення робіт з повірки засобів вимірювань, метрологічної ревізії та експертизи.

Відповідальність за метрологічне забезпечення медичного обладнання в ЗСК покладена на метролога закладу і керівників структурних підрозділів. Мають бути визначені:

– характеристики апаратури та вимірювання, які мають критичне значення для якості та безпеки донорської крові та її компонентів;

– ЗВТ із необхідним діапазоном та точністю;

– процедури вимірювань;

– складені перелік та система ідентифікації вимірювального обладнання;

– документально оформлена відповідність вимірювального обладнання до встановлених вимог;

– юридично оформлені договори на регулярне технічне/сервісне обслуговування/калібрування/повірку з зовнішніми організаціями, акредитованими у встановленому порядку;

– складені графіки технічного та сервісного обслуговування/повірки/калібрування.

Результати усіх повірок та тестувань мають бути занесені до відповідних журналів та зафіксовані у протоколах.

У разі отримання незадовільних результатів повірки/калібрування обладнання повинне бути тимчасово виведене з експлуатації (позначене відповідним маркуванням та записами), поки не буде встановлено та усунено причину, і нове калібрування/повірка не покажуть відповідність вимогам.

Апаратура має систематично піддаватися дезінфекції, випробуванню та/або калібруванню, а після певного часу і повторному випробуванню. Усі ці дії із санітарними процедурами включно слід прописати у відповідних СОП, а результати обстежень зберігати (як мінімум 10 років) у вигляді протоколів.

Потрібно також розробити Інструкції чи СОП на випадок аварійної ситуації, де слід описати рекомендовані дії у випадку відхилень в роботі апаратури, обладнання чи реактивів.

1.4.5.1. Випробування

Контроль — це дія або сукупність дій, метою яких є документальне підтвердження, згідно зі засадами GMP, що:

– конкретний метод дає результати, які відповідають очікуванням, або є необхідність забезпечення таких умов, щоб конкретний метод давав очікувані результати;

– конкретне обладнання працює згідно зі встановленими до нього вимогами.

Контроль здійснюють у момент уведення в дію нової техніки або на початку використання нового пристрою.

1.4.5.1.1. Випробування реактивів

Контроль реактивів полягає у виконанні низки визначень при використанні реактиву, що застосовувався раніше, та реактиву нової серії. Матеріалом мають стати обрані вибірковим шляхом проби крові, сироватки або плазми.

Новий реактив можна використовувати, якщо середній результат, отриманий після його застосування, відрізняється від середнього результату при використанні попереднього реактиву не більш ніж на 10%.

У випадку застосування сучасних гематологічних та біохімічних аналізаторів (що мають внутрішню систему контролю якості з відповідною документацією), які працюють на базі численних реактивів та витрачаються з різною періодичністю, контроль реактивів можна не проводити. У такій ситуації слід здійснювати поточний аналіз результатів дослідів (зокрема і в графічній формі).

1.4.5.1.2. Випробування апаратури

Випробування апаратури полягає у перевірці достовірності показань того чи іншого обладнання. Для випробування слід користуватися уже атестованими вимірювальними приладами (атестовані ваги, термометри, електронні вимірювачі температури тощо). Випробування апаратури можна здійснити самостійно або доручити це працівникам фірмового сервісу — залежно від того, про який саме пристрій йдеться.

Періодично, щонайменше раз на рік, треба здійснювати повторні випробування апаратури. Щоб робити це професійно, рекомендовано скласти річний план випробувань, у якому слід урахувати нижченазвані дії:

1) визначити, яка саме апаратура, процес чи метод потребують випробування;
2) визначити можливий ризик, пов’язаний із процесом, який випробовується;
3) визначити критерії схвалення для контрольних параметрів;
4) описати відповідні методи дослідів та позначень;
5) узгодити та затвердити план і процедури випробувань у метролога, керівника ЗСК або в уповноваженої особи. Визначити спосіб проведення випробування (розробити відповідну процедуру);
6) зібрати неопрацьовані дані, відхилення від норми та процедури;
7) підготувати протокол випробувань з урахуванням оцінки експерта (якщо вона вимагається);
8) затвердити протокол випробувань у відділі забезпечення якості;
9) дослідити кожне відхилення від визначених критеріїв схвалення, а також оцінити його вплив на випробування;
10) визначити, коли випробувальна процедура для того чи іншого пристрою, процесу, методу має бути повторена.

Документація випробувань має містити:

– план випробувань;

– протоколи випробувальних досліджень — інсталяційної кваліфікації (Installation Qualification, IQ), операційної кваліфікації (Operational Qualification, OQ), кваліфікації процесу (Performance Qualification, PQ); при цьому слід окреслити сферу дослідів, описати, які методи застосовувалися, зазначити очікувані результати, критерії схвалення/несхвалення;

– письмові доручення лабораторії щодо виконання певних дослідів та вимірів;

– звіти (всі результати дослідів; коментарі до цих результатів, які перетинають межу норми; статистичні висновки; схвалення/несхвалення результатів;

– кінцевий протокол, створений після перегляду всієї документації — від специфікації вимог користувача (User Requirement Specification, URS) до звітів та протоколів стосовно навчань персоналу, підтвердження даних, оцінки вартості (бізнес-плану);

– аналіз кінцевого протоколу та схвалення випробувальної комісії (це дозволяє застосувати апаратуру або впровадити процес у практику).

У випадку, коли йдеться про закупівлю нової апаратури, інсталяцію нової комп'ютерної програми чи встановлення додаткового обладнання, яке працює в системі автоматичного режиму, випробування мають багатоступеневий характер (рис. 1.1). Першим етапом роботи є скликання випробувальної комісії, у якій мають бути присутні:

– метролог;
– адміністратор комп'ютерної системи;
– працівник відділу забезпечення якості;
– інженери ЗСК;
– користувачі;
– представник постачальника.

Мінімальний склад випробувальної комісії — це передусім безпосередні користувачі та персонал відділу забезпечення якості.

Завданням скликаної випробувальної комісії є написання специфікації вимог користувача (URS). У цій специфікації мають міститися очікування користувача, як-то:

– критерії схвалення;
– наявність сертифіката про державну реєстрацію;
– ефективне вирішення поставлених завдань в автоматичному та автоматизованому режимах;
– надійність складових вузлів та блоків, а також загальна надійність;
– висока уніфікація і ремонтоздатність;
– можливість послідовного нарощування апаратних засобів та збільшення їх продуктивності в процесі експлуатації та розвитку;
– можливість з'єднання з потужними обчислювальними комплексами;
– повна електробезпека користувача;
– опис спеціальних вимог:
  • вимоги до режиму оброблення даних;
  • вимоги до амплітудних, часових та частотних характеристик вхідних засобів, їх чутливості, рівня шумів та ін.;
  • допустимі похибки до кожного фізіологічного показника;
  • вимоги до мікрокомп'ютера, у тому числі до продуктивності процесора, обсягів внутрішньої та зовнішньої пам'яті;
  • вимоги до маси і габаритів;
  • захист оперативної пам'яті від зникнення напруги живлення та несанкціонованого доступу;
  • наявність самодіагностувальної функції;
– можливість тестування.

Специфікація вимог користувача має бути зрозумілою як для постачальника, так і для самих користувачів. Зазначені у ній вимоги не повинні повторюватися чи суперечити одна одній. Слід посилатися на обов'язкові законодавчі положення. Під час процедури публічних торгів можливі постачальники повинні надати функціональну специфікацію, а скликана випробувальна комісія має перевірити, чи специфікація постачальника та специфікація користувача узгоджуються між собою, а також оцінити можливий ризик. Дуже істотними аспектами при виборі постачальника є гарантійний термін та якість сервісу.

Черговим етапом є підготовка плану випробувань згідно зі вказівками, що містяться в основному плані випробувань, як-то підготовка інсталяційної кваліфікації, операційної кваліфікації, кваліфікації процесу з урахуванням навчань та оцінки вартості випробувань.

1.4.5.1.2.1. Інсталяційна кваліфікація

Першим етапом випробувань, що здійснюються у закладі, є інсталяційна кваліфікація (IQ) новопридбаної апаратури. Метою інсталяційної кваліфікації є підтвердження того, що пристрій установлено згідно з проектом, рекомендаціями виробника та обов'язковими законодавчими положеннями, а також того, що пристрій працює. У випадку встановлення комп'ютерної системи інсталяційна кваліфікація полягає у перевірці справності електричних дротів (з'єднань), бездротового живлення, апаратного та програмного забезпечення, а також у перегляді всієї документації постачальника

(інструкція з обслуговування, документація апаратного та програмного забезпечення, список запасних частин). Додатково слід визначити параметри довкілля (температуру та вологість повітря).

У випадку будь-яких порушень, як-то нестача документації, помилки у встановленні обладнання, — комісія рекомендує їх усунути, після чого повторно здійснює перевірку документації або виконує обстеження обладнання.

1.4.5.1.2.2. Операційна кваліфікація

Метою операційної кваліфікації є підтвердження того, що пристрій працює правильно в усьому операційному діапазоні вимірів, зокрема і в межових зонах. Якщо йдеться про комп'ютерну систему, її обмеження треба взяти під контроль. Виміри повторити стільки разів, скільки необхідно для того, щоб отримані результати були правдоподібні при статистичному обчисленні.

1.4.5.1.2.3. Кваліфікація процесу/перевірка процесу

Метою випробувань є підтвердження того, що пристрій, який працює при повному навантаженні, відповідає вимогам специфікації. Проводячи цю кваліфікацію, треба виконувати дії, аналогічні тим, які будуть виконуватись під час повсякденної роботи з пристроєм. Завдання полягає у тому, щоб параметри, зафіксовані і схвалені під час операційної кваліфікації, були перевірені в «критичних умовах роботи».

Після закінчення всіх досліджень та їх статистичної обробки (включно з тими дослідами, результати яких перетинають діапазон норми) випробувальна комісія має схвалити або не схвалити отримані дані. У разі схвалення процесу слід ще раз проаналізувати всю документацію, звіти, протоколи), створити кінцевий протокол, прописати відповідні процедури і розпочати навчання персоналу.

У ЗСК мають бути розроблені СОП на виконання всіх критичних виробничих процедур.

У СОП слід звернути увагу:

– на копіювання даних і можливість їх відновлення;
– архівування даних;
– дії у випадку змін у системі;
– періодичні перевірки;
– навчання персоналу;
– заходи, спрямовані на проведення догляду за пристроєм і збереження його в належному стані.

Якщо ж випробувальна комісія не схвалює результати кваліфікації — процес випробувань слід розпочати наново.

1.4.5.1.2.4. Випробування комп'ютерної програми

Після здійснення випробувань автоматичних процесів (комп'ютерна система, центральний моніторинг) слід вести документацію традиційним способом (щонайменше впродовж 12 місяців), а також перевірити:

– чи співпрацює програма відповідно до вимог, що від неї очікуються, зі скануванням штрихкодів та автоматичними приладами, що виконують лабораторні досліди;
– чи існує можливість збереження всіх необхідних даних;
– чи правильно передаються дані з відділу у відділ (автоматизація прийняття рішень за результатами контролю клініко-лабораторних досліджень і медичного обстеження);
– чи існує можливість отримання потрібних звітів і протоколів (автоматичне оформлення звітів у всіх підрозділах та актів на списання; контроль запасів компонентів і препаратів; контроль обліку витратних матеріалів; заповнення протоколів виготовлення компонентів крові (режимів центрифугування) і співставлення з даними контролю якості для розробки корегуючих дій; автоматичне оформлення дозволу на видачу компонентів, заповнення кінцевої етикетки, сертифіката і протоколу досліджень; роздрукування Сертифікатів якості на компоненти крові, роздрукування Протоколів проведення КЯ на умовно придатну продукцію);
– чи є можливою необхідна архівація даних;
– чи існує можливість реєстрації вхідного контролю та контролю якості (зовнішній вигляд, герметичність, відповідність маркування і супровідної документації; контроль показників контролю якості);
– чи правильно функціонує центр безпеки (автоматичний контроль відповідності результатів досліджень до нормативних вимог, перевірка на наявність протипоказань для донорства, у тому числі контроль термінів між донаціями; контроль наявності контакту з інфекційними хворими за місцем

проживання; автоматичну ідентифікацію донорів, донорської крові та її компонентів і проб для проведення лабораторних досліджень і контролю якості за штрих-кодом; автоматизація прийняття рішень про вид донорства залежно від фенотипу антигенів системи Резус, наявності імунних і групових антитіл; автоматичне блокування видачі компонентів за результатами лабораторних досліджень; контроль плазми на наявність вірусних інфекцій в процесі карантинізації і при зберіганні її після карантинізації; контроль за дотриманням термінів вилучення плазми з карантинізації; контроль за дотриманням принципу «один донор — один реципієнт»; автоматизація визначення переліку лабораторних досліджень залежно від типу донацій і кількості попередніх донацій; контроль часу та тривалості донації, термінів і температури доставки; контроль результатів скринінг-тестування донорської крові і контрою якості).

Після внесення до програми будь-яких змін чи розширень слід здійснити повторні випробування всієї програми, щоб переконатися, чи не змінилася робота інших функцій, чи правильно функціонує вся система.

1.4.5.1.2.5. Випробування холодильних установок для зберігання еритроцитовмісних компонентів

1. Перевірені термометри або датчики перевіреного термографа слід помістити у вхідні отвори двох контейнерів, що містять по 250 мл 10% спиртового розчину гліцерину.
2. Контейнери розмістити на двох крайніх полицях холодильника (верх, низ); щоденно упродовж 5 днів здійснювати вимірювання і записи температури — або в безперервному режимі, або кожні 3 год.
3. Відхилення показників робочих термометрів і контрольного не має перевищувати 1 °С.
4. Оптимальна температура: 4 °С. Допустимий діапазон температури: (2–6) °С.

1.4.5.1.2.6. Випробування морозильних камер для зберігання свіжозамороженої плазми (ПСЗ)/кріопреципітату

1. Перевірені термометри або датчики перевіреного термографа слід помістити всередину морозильної камери (верх, низ) або щонайменше у 4-х її місцях.
2. Упродовж 5 днів здійснювати вимірювання і записи температури — або в безперервному режимі, або кожні 3 год.
3. Оптимальна температура та, що відповідає заявці виробника, запланованому періоду зберігання та умовам підписаної угоди.
4. Відхилення показників робочих термометрів і показового не має перевищувати 1 °С.
5. Допустимий діапазон температури: заявлена виробником температура ±2 °С, але не вище ніж –30 °С.

1.4.5.1.2.7. Випробування пристроїв для зберігання концентрату тромбоцитів (КТ)

1. Перевірений термометр або датчик перевіреного термографа (залежно від величини пристрою) слід помістити у вхідний отвір контейнера, що містить 50 або 250 мл 10% водного розчину гліцерину.
2. Контейнер помістити в пристрій для зберігання тромбоцитів і впродовж 5 днів здійснювати вимірювання та записи температури — або в безперервному режимі, або кожні 3 год.
3. Відхилення показників робочих термометрів і контрольного не має перевищувати 1 °С.
4. Оптимальна температура: 22 °С. Допустимий діапазон температури: (20–24) °С.

1.4.5.1.2.8. Випробування змішувачів для зберігання КТ

Використовуючи пристрій для зберігання тромбоцитів, упродовж чергових 5 днів щоденно стежити, чи відповідає частота змішування частоті, заявленій виробником.

1.4.5.1.2.9. Випробування пристроїв для стерильного поєднання магістралей

1. Випробувальні дії мають включити дослідження зі щонайменше 10 окремими КТ, які перед поєднанням мають бути піддані мікробіологічному контролю. Для досліджень слід використовувати КТ, який зберігався вже 24 год., але не більш ніж 72 год., адже при подальшому зберіганні можливим є ріст вмісту бактерій.

2. Використовуючи зварний апарат для стерильного з'єднання трубок, заповнити з'єднувальні трубки і ділити компонент на 2 одиниці так, щоб виконати 20 пайок разом.

3. Зразки компонента тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу, зберігати згідно із загальними правилами.

4. Перевірку стерильності повторити на п'ятий день зберігання КТ за допомогою кожної отриманої одиниці КТ (мінімум 10 одиниць).

Якщо мікробіологічне дослідження проб виявить ріст мікроорганізмів, в отриманому зразку КТ до зберігання, слід припустити, що спричинилося зараження крові під час її взяття, виключити цей матеріал із подальших дослідів і знищити його, а випробування провести повторно.

Слід визнати, що пристрій для стерильного поєднання магістралей функціонує правильно, якщо:

– візуальний контроль підтвердив герметичність і необхідний вид усіх з'єднань;

– мікробіологічне дослідження виявило на п'ятий день зберігання стерильність усіх отриманих одиниць КТ.

1.4.5.1.2.10. Випробування діелектричних зварних апаратів

Випробування діелектричних зварних апаратів полягає у відстежуванні якості пайок, що виконуються під час повсякденної роботи. Кількість пайок, що мають бути піддані візуальному оцінюванню, не може бути меншою за 100.

1.4.5.1.3. Випробування процесів, застосованої техніки і методик

1.4.5.1.3.1. Випробування лабораторних методик

Перед впровадженням у повсякденну роботу нової лабораторної техніки (методики) слід перевірити її достовірність. Зробити це можна:

– дослідивши проби, надіслані референтною лабораторією, або ж порівнявши результати, отримані за допомогою нового методу, із результатами, отриманими за допомогою раніше застосовуваного методу;

– якщо йдеться про високоавтоматизовану методику, що включає ідентифікацію проб та передачу даних до комп'ютерної системи, перевірити правильність цих процесів шляхом паралельного запису даних вручну (упродовж певного часу).

1.4.5.1.3.2. Випробування дезінфекції місця венозного доступу

Дезінфікування місця венозного доступу має здійснюватися із застосуванням щонайменше двох засобів дезінфекції з широким спектром дії (двоступеневий метод), з метою виявлення розвитку стійких до дезінфекції бактерій слід здійснювати регулярний моніторинг результативності застосовуваних засобів дезінфекції. Засіб дезінфекції має використовуватися у відповідній концентрації при належній експозиції. Надто низькі концентрації можуть спричинити виникнення в середовищі стійкої флори, що, у свою чергу, може призвести не тільки до виживання мікроорганізмів, а й до їх розвитку у розчинах рідин, що використовуються для знезараження.

Випробування полягає у проведенні дезінфекції місця венепункції, взятті 25 проб із продезінфікованої шкіри та здійсненні мікробіологічних аналізів. Рекомендується користуватися контактними субстратами, що є у продажу. Вони гарантують, що змішування не станеться. Випробування слід визнати успішним, якщо результат кожної з аналізованих проб, наданий бактеріологічною лабораторією, є негативним. Якщо отримано окремий позитивний результат, варто проконтролювати роботу особи, яка брала кров. У разі кількох позитивних результатів аналізів слід розробити необхідні зміни засобів/засобу дезінфекції.

1.4.5.1.3.3. Перше та повторне випробування процесів виготовлення компонентів крові

Кожен процес, що має на меті отримання того чи іншого компонента крові (центрифугування, відокремлення компонентів крові, заморожування плазми, отримування кріопреципітату), має підлягати випробуванню, періодичному повторному випробуванню та валідації.

1.4.5.1.3.4. Випробування процесу заморожування плазми

Мета випробування процесу заморожування плазми (СЗП) — пересвідчитися, що заморожування плазми досягається в термін, що не перевищує 60 хв.

1.4.5.1.3.5. Перше та повторне випробування умов зберігання та транспортування

ЗСК мають забезпечувати відповідність крові та її компонентів до встановлених вимог у процесі їх переробки, зберігання і транспортування до місця призначення. На всіх етапах зберігання і транспортування крові та її компонентів, необхідно забезпечити:

– ідентифікацію продуктів;
– умови зберігання;
– роздільне зберігання продукції за статусом контролю: «тимчасово затримана за результатами скринінг-тестування», «карантинизована», «на видачу»;
– захист від ушкоджень;
– перемішування тромбоцитів;
– контроль умов зовнішнього середовища;
– реєстрацію моніторингу.

Випробування умов зберігання полягає у перевірці обладнання, що використовується для зберігання крові та її компонентів, а також у контролі результативності дії систем сигналізації в аварійних ситуаціях, як-то:

– поломка (вихід із ладу) окремого холодильника/морозильника;
– поломка центрального холодильника/морозильника;
– поломка пристрою для зберігання КТ та тромбоцитів, відновлених з дози;
– перебої електропостачання.

Випробування умов транспортування полягає у тому, щоб пересвідчитися, чи під час найдовшого транспортування, яке використовується в повсякденній роботі, зберігається температура, необхідна для конкретного компонента. Найкращі умови транспортування забезпечують машини-холодильники або морозильники з електродатчиками та графічним записом температури, а також контейнери для транспортування, що підтримують запрограмовану температуру, також обладнані датчиком з функцією запису температури. Цей метод транспортування, так само як і перевезення компонентів крові у термостатних контейнерах, наповнених охолоджувальними наповнювачами або сухою кригою, вимагає випробування з використанням атестованого термометра. Слід керуватись наведеними нижче вказівками:

1. Розмістити термометр між двома контейнерами з компонентами крові, які необхідно перевезти, та зв'язати контейнери ґумкою.
2. Покласти контейнери до транспортного контейнера.
3. Через 5 хв. після закриття контейнера зафіксувати температуру.
4. Повторно зафіксувати температуру після завершення транспортування.

Допустимими температурами можна вважати:

- від 2 °С — до 10 °С — при транспортуванні донорської консервованої крові, а також інших еритроцитовмісних середовищ;
- від 2 °С — до 24 °С — при транспортуванні донорської консервованої крові в термін, що не перевищує 6 год. з моменту донації;
- від 20 °С — до 24 °С — при транспортуванні КТ (концентрату тромбоцитів), а також донорської крові, призначеної для отримання КТ;
- не більш ніж –18 °С — при транспортуванні свіжозамороженої плазми (СЗП) та кріопреципітату замороженого.

1.4.5.2. Калібрування вимірювальних приладів

Достовірні результати досліджень можливо отримати лише при використанні надійного вимірювального обладнання. Усі ЗСК мають гарантувати документальне підтвердження результатів вимірювань. Практично не існує абсолютно точних вимірів. Навіть при правильному користуванні показники вимірювального обладнання можуть не співставлятися зі справжнім показником вимірюваної величини. Причиною різниці між справжнім показником та показанням приладу може бути неточність приладу або неточність результату.

Мірою точності приладу є різниця між середнім числом, обчисленим із великої кількості вимірів, що виконувалися за допомогою цього приладу на тій самій серії матеріалу та істинним показником. Причиною цієї різниці часто є систематична помилка у процесі вимірювання. Цю величину приймають тоді, коли прилад не повірений за еталонами.

Мірою точності результату (прецизії) є міра узгодженості показань цього приладу при повторенні вимірювань, виконаних на одній і тій самій серії матеріалу. Коливання показань може виражатися у стандартному відхиленні вимірів. Чим менша величина стандартного відхилення, тим точніший прилад.

У будь-якому разі для точної оцінки вимірювання велике значення має як міра точності приладу, так і міра точності результату. З моменту, коли вимірювальний прилад введений в експлуатацію, точність його поступово погіршується, навіть якщо приладом постійно не користуються. Щоб точність приладу зберігалась на необхідному рівні, його необхідно періодично звіряти з еталонами.

У межах Системи забезпечення якості ЗСК повинні мати опрацьовану і результативну систему підтвердження та застосування вимірювального обладнання, причому ця система має спиратися на відповідні документи. Основною умовою є складення списку вимірювальних приладів, які безпосередньо впливають на результати аналізів та перед початком експлуатації повинні пройти метрологічну повірку. Цей контроль може відбуватися у формі:

– легалізації (наявність державної реєстрації);
– підтвердження достовірності.

Таблиця 1.1

Частота і способи необхідного контролю апаратури

Апаратура	Метод контролю	Частота контролю	Виконавець контролю
Охолоджувальне обладнання для зберігання компонентів крові (морозильні шафи, холодильники)	Графічна фіксація температури + незалежні сигнали тривоги: звуковий та візуальний; інформування про допущенний перебіг найнижчої та найвищої температури	Щоденно	Користувач
	Атестований еталонний термометр	Кожні 12 місяців	Користувач
Охолоджувальне обладнання для зберігання реактивів (морозильні шафи, холодильники), а також термостатне лабораторне устаткування (інкубатори, водяні бані)	Термометр	Щоденно	Користувач
	Атестований еталонний термометр	Кожні 12 місяців	Користувач
Пристрої для зберігання КТ	Вимірювання температури: термометр	Щоденно	Користувач
	Частота рухів: секундомір	Щомісяця	Користувач
Центрифуги для приготування компонентів крові	Атестований тахометр + секундомір для контролю швидкості, прискорення та гальмування	Кожні 12 місяців	Сервіс
Лабораторні центрифуги	Атестований тахометр + секундомір для контролю швидкості, прискорення та гальмування	Кожні 12 місяців	Сервіс
Центрифуга для виконання антиглобулінового тесту	Еритроцити зі слабковираженими антитілами анти-D	Кожний цикл роботи	Користувач
Гематологічні аналізатори	Калібрація: робочий еталон	Щоденно	Користувач
	Контроль якості: контрольний зразок крові	Щоденно	Користувач
Гемоглобінометри (вимірювачі гемоглобіну)	Калібрація: еталон (контрольна міра)	Щоденно	Користувач
	Контроль якості: контрольний зразок крові	Щомісяця	Користувач
Вимірювачі pH	Еталонні розчини з низьким (4–7) та високим (7–10) pH	При кожному використанні	Користувач
Автоматичні піпетки	Атестовані аналітичні ваги не менше ніж раз на 6 місяців	Кожна серія наконечників	Користувач
Манометри	Здійснення 6 вимірювань	Щомісяця	Користувач
	Зіставлення з атестованим манометром	Кожні 12 місяців	Користувач

Закінчення таблиці 1.1

Апаратура	Метод контролю	Частота контролю	Виконавець контролю
Ваги	Контроль аналітичних ваг (5 мг, 100 г, 200 г, 500 г)	Кожні 12 місяців	Сервіс
	Контроль ваг для приготування препаратів (100 мг — 100 г)	Кожні 12 місяців	Сервіс
Пружинні ваги	Контроль точності зважування (контейнер, наповнений водою)	Щомісяця	Користувач
Прилади для контролю донацій (ваги-помішувачі)	Контроль точності зважування	Щоденно	Користувач
	Контроль точності зважування та частоти помішування	Кожні 12 місяців	Сервіс
Камери з ламінарним потоком	Бактеріологічний контроль	Щотижня	Користувач
Діелектричні паяльники та паяльники для стерильного з'єднування	Контроль тиску, що чиниться на контейнер та дренажну трубку	Кожен контейнер	Користувач
Контейнери для транспортування крові	Термометр чи інший пристрій для фіксації температури	При кожному використанні	Користувач
Радіатор	Контроль герметичності джерела	Кожні 12 місяців	Сервіс
	Картографування ізодоз	Кожні 3 роки	Сервіс

** Апарати з опцією автотестування не вимагають калібрації за допомогою контрольної ванночки.*

Доказом легалізації або підтвердження достовірності є відповідне свідоцтво про легалізацію чи про достовірність або позначка, розміщена на приладі. Свідоцтва мають певний термін дії, після закінчення якого вимірювальні прилади мають бути повторно проконтрольовані.

Із поняттями «легалізація» та «підтвердження достовірності» тісно пов'язані такі поняття, як еталонування та калібрування.

Еталонування являє собою зіставлення зразка або вимірювального приладу невідомої точності з іншим приладом відомої точності для виявлення, оцінки або ж усунення шляхом регулювання якогось відхилення у точності до еталону або вимірювального приладу невідомої точності.

Калібрування — еталонування, що зводиться до дій, які встановлюють відхилення вимірювань у приладі, без жодного технічного втручання у цей прилад.

Прилади, що підлягають легалізації або підтвердженню достовірності:

- апарати для вимірювання тиску;
- термометри, що використовуються для моніторингу температури у пристроях для зберігання крові та її компонентів;
- ваги:
  - лікарські;
  - точні;
  - аналітичні;
- зонд для обстеження дози іонізуючого випромінювання;
- pH-метри;
- спектрофотометри;
- гемоглобінометри.

Для кожного з вищеназваних приладів слід встановити строк еталонування. Для кожного пристрою потрібно встановити відповідні способи і частоту контролю згідно з таблицею 1.1.

1.4.5.3. Поточний контроль

1.4.5.3.1. Поточний контроль реактивів

Поточний контроль реактивів полягає у щоденному візуальному оцінюванні стану та відповідності строку придатності кожного реактиву. Щоденно слід документувати номери серій та строки придатності всіх реактивів, що використовуються.

Слід здійснювати щоденний контроль якості реактивів, використовуючи контрольні сироватки, кров, контрольні стандарти тощо (п. 1.4.10.2.1.4).

1.4.5.3.2. Поточний контроль матеріалів, що використовуються для приготування компонентів крові

Поточний контроль матеріалів, що використовується для взяття крові та виготовлення її компонентів, полягає у щоденній перевірці строку придатності і візуальної оцінки медичних матеріалів і устаткування, що застосовується. Цей контроль має охоплювати знезаражувальні розчини, контейнери для взяття крові, комплекти для аферезу, рідини для аферезу, комплекти для переливання крові, комплекти для приготування компонентів крові, контейнери для транспортування, кріогенні контейнери, антилейкоцитарні фільтри, етикетки тощо.

Щодня слід документально підтверджувати номери серій та строки придатності використовуваних медичних матеріалів, устаткування та рідин.

1.4.5.3.3. Поточний контроль обладнання

Працівники зобов'язані систематично контролювати правильність роботи всього обладнання — так, як це описано у відповідних розділах щодо принципів роботи окремих відділів ЗСК.

1.4.5.3.4. Поточний контроль лабораторних досліджень

Поточний контроль лабораторних досліджень слід здійснювати щоденно перед початком роботи. Такий контроль охоплює:

– аналіз (згідно з інструкцією фірми-виробника) випадкових та стандартних проб;
– аналіз контрольних сироваток (2 контролі) із низьким та високим титром (біохімічні, клінічні, коагулологічні, вірусологічні, серологічні аналізи);
– аналіз контрольної крові (3 контролі) із низьким, нормальним та високим вмістом — у разі гематологічних аналізів.

Результати цих контролів слід зберігати, систематично наносити на графічну карту і щомісяця надсилати до відділу забезпечення якості у вигляді протоколу з висновками. У разі відхилень від закладених норм, слід негайно повідомити відділ забезпечення якості та терміново запровадити корегуючі заходи, описані у відповідній стандартній операційній процедурі (СОП).

1.4.5.3.5. Поточний контроль процесів виробництва компонентів крові

Поточний контроль процесів виробництва компонентів крові слід здійснювати систематично.

1. Контролювати та записувати тривалість кожної донації. Якщо кров заготовляється виїзною бригадою, то слід записувати годину та хвилину закінчення донації.
2. Візуально контролювати правильність процесу центрифугування крові, герметичність контейнерів, а також зовнішній вигляд компонентів крові.
3. Контролювати та записувати тривалість заморожування кожної серії контейнерів зі свіжозамороженою плазмою (ПСЗ).
4. Виймаючи контейнери, що містять ПСЗ, із заморожувального обладнання, візуально контролювати стан їх замороження.
5. Документувати час, що минув від моменту взяття крові до закінчення процесу заморожування кожної одиниці ПСЗ.
6. Перевіряти правильність та вичерпність інформації, що має міститися на етикетках компонентів крові.

1.4.5.3.6. Поточний контроль умов зберігання і транспортування

Слід систематично контролювати та реєструвати температуру зберігання всіх компонентів крові (або в постійному режимі, або двічі на добу), а стосовно пристроїв для КТ також періодично контролювати правильність процесу помішування.

Слід систематично контролювати та документувати температуру під час транспортування компонентів крові (контроль температури здійснювати через 5 хв. з моменту розміщення компонента крові в ізотермічному контейнері, а також після завершення транспортування).

1.4.6. Документація

Згідно із принципами GMP стосовно взяття крові та виготовлення її компонентів документація має забезпечувати:

– стандартизацію процесів взяття крові та виготовлення її компонентів;
– виконання всіх допоміжних та контрольних аналізів і досліджень у точній відповідності до чинної СОП;
– належний контроль технічного і санітарного стану приміщень, апаратури та вихідних матеріалів;
– дотримання персоналом відповідних гігієнічних стандартів;
– реєстрування та зберігання даних, необхідних для можливого майбутнього відтворення процесу виготовлення компонентів крові або виконання аналізу, які б уможливлювали ідентифікацію всіх вихідних матеріалів, а також осіб, відповідальних за кожний конкретний етап роботи.

Залежно від функції документацію відділу забезпечення якості можна поділити на такі групи:

– Книга якості;
– стандартні операційні процедури;
– специфікації, інструкції, рапорти, протоколи, листівки та етикетки.

Основним документом Системи якості у службі крові є Книга якості (п. 1.4), яка базована на політиці якості, є документом найвищого рангу, необхідним при проведенні акредитації ЗСК. Наступна група документів складається зі стандартних операційних процедур, що описують дії та діяльність окремих відділів і беруть участь у дотриманні встановлених вимог системи якості. Стандартні операційні процедури мають розроблятися керівниками окремих відділів, узгоджуватися з уповноваженою особою та затверджуватися керівником ЗСК.

Останню групу становлять різноманітні інструкції, рапорти, протоколи, специфікації, листівки та етикетки, тобто документи, що використовуються у поточній роботі (рис. 1.2).

Кожен ЗСК в організаційній процедурі або ж в інструкції «Різновиди документації, що використовується в організаційній структурі» повинен визначити різновиди документів, у яких має описуватися організація роботи. Слід добирати однорідну, специфічну термінологію і тільки нею керуватися. Не варто беззастережно приймати термінологію, запозичену з норм ISO 9001, — вона не є остаточною. Слід прагнути до побудови однорідної, прозорої документації, яка б зрозуміло відображала систему якості, впроваджену в ЗСК.

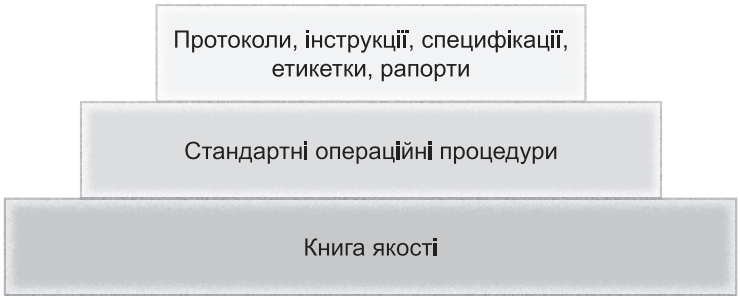


Рис. 1.2. Схема ієрархії документації системи якості

1.4.6.1. Поточний контроль

Керівництво ЗСК відповідає за опрацювання Книги якості, в якій зазначено взаємозв'язок між окремими відділами в системі якості, описано організацію роботи відповідно до схеми організаційної структури та сфери обов'язків персоналу.

1.4.6.1.1. Схема організаційної структури

На схемі організаційної структури мають бути зображені всі відділи, відділення, групи та організаційні дільниці ЗСК, взаємозв'язки між ними.

Рекомендована така організаційна структура:

– відділ забезпечення якості;
– відділ організації і трансфузіологічної допомоги;

– відділ комплектування донорів (реєстратура, лікарський кабінет);
– відділ заготівлі крові та її компонентів;
– клініко-імунологічна лабораторія;
– відділ діагностики та профілактики СНІД та інших інфекцій, які передаються гемотрансмісивним шляхом (гепатит, сифіліс тощо);
– відділ технічного контролю;
– відділ експедиції і зберігання компонентів та препаратів крові;
– адміністративно-технічний відділ.

Відділ забезпечення якості слід розмістити в організаційній схемі ЗСК таким чином, щоб однозначно підкреслити, що керівник відділу забезпечення якості відповідає безпосередньо перед керівником закладу за функціонування системи забезпечення якості в установі.

1.4.6.1.2. Сфера обов'язків

Кожен працівник повинен мати чинний документ, який містив би детальний опис сфери його обов'язків. Особливо докладно мають бути визначені обов'язки та відповідальність працівників ключових посад. Сфери обов'язків мають бути сформовані таким чином, щоб вони максимально охоплювали всю сферу діяльності ЗСК.

За розроблення та зберігання цих документів відповідає керівник відділу, до якого належить працівник, а також керівник відділу кадрів. Перед зарахуванням на роботу кожен працівник має ознайомитися з переліком майбутніх обов'язків. За потреби безпосередній начальник зобов'язаний поінформувати відділ кадрів про необхідність внесення змін до переліку обов'язків цього працівника. Опис сфери обов'язків має бути підписаний як керівником відділу, так і працівником. Працівник повинен мати копію переліку своїх обов'язків.

1.4.6.2. Стандартні операційні процедури (СОП)

СОП — це документи, що описують обов'язковий спосіб дій при виконанні різних операцій. СОП необхідні:

– для надання працівникам докладних письмових вказівок, що стосуються виконання усіх важливих операцій та дій;
– стандартизації типових, повсякденних дії та операції;
– визначення персональної відповідальностф за їх виконання;
– встановлення єдиного способу інтерпретації отриманих результатів (уніфікація способу інтерпретації);
– визначення способу документування отриманих результатів або виконаних дій.

Кожен процедурний документ слід виготовити щонайменше у 3-х примірниках: перший з них має знаходитися на робочому місці (у місці виконання певної дії), другий — у керівника відділу, який здійснює контроль за виконанням цієї дії. Якщо Центр крові має Книгу якості, то оригінали процедурних документів мають перебувати в ній. Якщо ж Книги якості немає, то всі оригінали процедурних документів мають знаходитися у відділі забезпечення якості.

СОП мають бути актуалізовані, підтверджені та належним чином заархівовані.

1.4.6.2.1. Розроблення СОП

Розроблення СОП має відбуватися за участю працівника відділу забезпечення якості та керівника відділу, якого ці процедури стосуються. Відділ забезпечення якості відповідає за надання інструкціям відповідної форми та за включення до них усієї необхідної інформації, тоді як керівники відділів відповідають за їх суттєвий аспект.

Необхідно розробити СОП для всіх відділень трансфузіології.

1.4.6.2.1.1. Формальні вимоги

СОП повинна мати форму документа, що містить:
– повну назву закладу і пункту, якого стосується;
– власний номер (на кожній сторінці);
– номер версії (на кожній сторінці);
– дати створення, узгодження та затвердження;

– підписи осіб, відповідальних за створення, узгодження та затвердження цієї процедури;
– підписи осіб, які пройшли навчання згідно з цією процедурою, дістали вповноваження виконувати дії, описані в СОП, та є відповідальними за правильне виконання цих дій;
– дати проведених навчань персоналу;
– нумерацію сторінок (із зазначенням повної кількості сторінок).
– дату щорічної верифікації та підписи про ознайомлення персоналу стосовно її виконання.

СОП не повинні бути написані вручну, не можуть містити жодних закреслень, поправок та доповнень. Найкраще розробляти СОП в електронній формі, що полегшить створення їх чергових версій.

1.4.6.2.1.2. Вимоги за змістом

Типова СОП має містити:
– предмет і мету процедури;
– сферу застосування;
– зазначення необхідних матеріалів, приладдя, устаткування;
– послідовний порядок дій;
– зразки та обчислення (разом із прикладами навіть дуже простих обчислень);
– опис способу ведення документації (комп'ютерна система, книги, протоколи);
– посилання на інші документи (СОП, специфікації) та перелік цих документів;
– посилання на інформативні джерела та нормативну базу.

1.4.6.2.1.3. Суттєві вимоги

У частині, де описано порядок дій, необхідно крок за кроком визначити дії, обов'язкові під час виконання окремих операцій, при цьому, крім опису основних дій, СОП має містити:
– опис порядку підготовчих дій (якщо вони необхідні);
– наголошення на проведення достовірної ідентифікації (зразків, компонентів крові, документації, етикеток) та візуального контролю.

Якщо певна дія може виконуватися різними способами, залежно від обставин (наприклад, якщо різні одержувачі висувають різні вимоги щодо умов заморожування/зберігання ПСЗ, центрифугування при виготовленні компонентів, особливості проведення фільтрації), то кожен варіант дії вимагає розробки окремої версії процедурного опису.

У процедурах, що стосуються обслуговування апаратів, обладнання, слід:
– описати спосіб проведення контролю та калібрування всіх використовуваних апаратів і обладнання;
– зазначити відповідальних осіб за періодичність проведення калібрування/контролю;
– надати діапазон правильних результатів контролю (за їх наявності);
– зазначити, що результати всіх проведених контролів мають бути задокументовані;
– описати спосіб дій на випадок відхилення результатів контролю від норми або аварії пристрою (здійснити калібрування, повідомити начальника, викликати сервісну службу, використати запасний пристрій);
– підкреслити необхідність складання протоколу з описом причини аварії та її наслідків у випадку аварії пристрою та передати цей протокол у відділ забезпечення якості;
– описати спосіб обслуговування апарата, обладнання (можливо, спосіб інтерпретації результатів).

1.4.6.2.2. Перелік обов'язкових СОП

Кожен ЗСК має до опису своєї діяльності включити перелік обов'язкових СОП, причому вони повинні охоплювати як мінімум такі аспекти:
1. Медичне обстеження донора.
2. Медичне обстеження донора та взяття крові для аутотрансфузії.
3. Взяття проб для лабораторних аналізів.
4. Здійснення кожного лабораторного аналізу.
5. Заготівля донорської крові та її компонентів.
6. Спосіб дій у разі, якщо в донора виникли ускладнення під час або внаслідок донації крові.
7. Виготовлення кожного компонента крові.

8. Етикетування.
9. Розміщення компонентів крові на складах.
10. Визначення придатності компонентів крові для подальшого застосування.
11. Знищення компонентів крові.
12. Процедуру «зворотного стеження».
13. Усунення недоліків і проведення корегувальних дій при виготовленні компонентів невідповідних вимогам якості.
14. Випробування та повторні випробування пристроїв, методів та процесів.
15. Калібрування та сервісне обслуговування пристроїв.
16. Гігієна приміщень, накопичення та утилізація медичних відходів.
17. Навчання персоналу.
18. Документування виконаних дій.
19. Складання СОП.
20. Керування СОП.
21. СОП, яка описує принципи ведення документації.
22. СОП, яка визначає принципи на момент запровадження тих чи інших змін, наприклад, у результаті розробки та впровадження коригувальних або запобіжних дій. Вона має описувати:
   - список лабораторій, яких стосуються зміни;
   - список необхідних випробувань;
   - необхідність створення нових версій СОП та їх прийняття;
   - підготовку персоналу;
   - внесення до нових СОП підписів працівників, які пройшли підготовку;
   - зразок протоколу, який документально підтверджує запровадження змін згідно з процедурою.
23. СОП стосовно створення, нумерування, затвердження, впровадження в життя, випробування, архівування інших СОП, внесення змін до них має визначати:
   - кількість примірників кожної СОП із указанням для кого вони призначені;
   - перелік осіб, уповноважених розробляти, затверджувати, впроваджувати в життя та випробовувати СОП;
   - порядок здійснення розроблення, затвердження, впровадження в життя та випробування СОП;
   - порядок проведення валідації та її періодичність;
   - відповідальних осіб за усунення вже не актуальних СОП і здійснення контролю за правильністю проведення процедури;
   - місце, умови і термін зберігання скасованих СОП.

Перед впровадженням СОП у життя на кожен примірник СОП треба ставити печатку (з кольоровою тушшю) з написом «ОРИГІНАЛ». На наступних примірниках, що друкуватимуться для керівників окремих відділів, мають бути позначки «КОПІЯ».

СОП має містити дату свого впровадження (можна її подати вже після затвердження керівником ВЗЯ, підготовки працівників та підписання ними СОП). Допустимим є створення ксерокопій оригіналу СОП разом із підписами осіб, які вже ознайомилися з цим документом. За необхідності створення додаткових примірників вони можуть бути видрукувані й без підписів працівників. Важливо, щоб спосіб виготовлення нових СОП, їх поширення та скасування було описано у відповідній СОП, а персонал ВЗЯ здійснював нагляд за всіма вищепереліченими діями.

1.4.6.2.3. Керування СОП

1.4.6.2.3.1. Актуалізація СОП

Після запровадження зміни в діях, що описує СОП, або в разі необхідності її розширення вимагається актуалізація цього документа. Це пов'язується з необхідністю впровадження нової версії цієї СОП та зміною номера версії.

1.4.6.2.3.2. Підтвердження (верифікація) СОП

Кожні 12 місяців треба здійснювати перегляд усіх СОП та перевіряти, чи є вони й досі актуальними. Доказом того має бути печатка та підпис особи, яка здійснює підтвердження; слід також зазначити дату підтвердження. За правильне здійснення підтвердження відповідає керівник ВЗЯ.

Усі СОП, що були змінені, необхідно повторно затвердити й надати їм новий номер версії.

1.4.6.2.3.3. Архівування СОП

Усі чинні СОП мають бути доступні на робочих місцях. СОП, що втратили актуальність, слід усунути з робочих місць та знищити.

Керівник кожного відділу повинен мати власний збірник чинних та скасованих СОП, при цьому чинні інструкції слід зберігати окремо.

У ВЗЯ має знаходитись збірник усіх чинних та скасованих СОП ЗСК і його територіальних відділень трансфузіології. Скасовані СОП треба заархівувати та зберігати у ВЗЯ впродовж 10 років.

1.4.6.3. Специфікації

ЗСК зобов'язаний розробляти специфікації для:

1. Вихідних матеріалів:
   а) тих, що купуються для використання у процесах виготовлення компонентів крові (діагностичні реактиви, контейнери для взяття крові, комплекти для аферезу, рідини, що використовуються під час аферезу та виготовлення компонентів, транспортувальні та кріогенні контейнери, антилейкоцитарні фільтри, етикетки тощо);
   б) діагностичних реактивів, що виробляються власними силами.
2. Консервованої крові та її компонентів.

1.4.6.3.1. Розроблення специфікацій

Специфікації мають розроблятися керівниками окремих відділів, а затверджувати їх та керувати ними зобов'язаний керівник відділу забезпечення якості.

1.4.6.3.1.2. Формальні вимоги

Специфікація повинна мати форму документа, який містить:

– повну назву закладу і пункту, якого стосується;
– власний номер;
– номер версії;
– офіційну назву матеріалу або продукту (у разі придбання матеріалу також його кодовий номер);
– дати створення, затвердження та підтвердження (верифікації);
– підписи відповідальних осіб за розробку, узгодження і затвердження специфікацій.

Специфікації не повинні бути написані вручну, не можуть містити жодних закреслень, поправок та доповнень. Найкраще розробляти специфікації в електронній формі, що полегшить створення їх чергових версій.

1.4.6.3.1.3. Суттєві вимоги

Специфікація матеріалу або продукту має містити щонайменше такі дані:

– коротку характеристику;
– обов'язкові вимоги/норми та методи аналізів, що здійснюються з метою контролю якості (у формі посилань на відповідні СОП);
– опис пакування та спосіб його етикетування;
– умови зберігання і транспортування;
– термін придатності до використання;
– список документів (СОП), пов'язаних із технологією виготовлення та контролем якості (якщо йдеться про донорську кров та її компоненти);
– список затверджених постачальників (якщо йдеться про матеріали, які постачаються).

1.4.6.3.1.4. Керування специфікаціями

Актуалізація специфікації має відбуватися за тими самими принципами, що й актуалізація СОП (п. 1.4.6.2.3.1).

Чинні специфікації і специфікації, що втратили свою чинність, мають знаходитися в керівника ВЗЯ. Їх слід зберігати в архіві впродовж 10 років.

1.4.6.4. Документи, що описують поточну роботу

Поточна документація — це записи всіх дій, що виконуються у ЗСК та пов'язані з процесом виготовлення компонентів крові. З огляду на наявність принципу особистої відповідальності за виконану роботу, ця документація повинна містити інформацію, хто виконав кожну дію. Слід дотримуватись постулату: чого не задокументовано — того й не виконано. Яка саме інформація вимагає документування, описано в розділах, у яких йдеться про принципи роботи окремих відділів.

Поточну документацію слід вести передусім у комп'ютерній системі, у вигляді протоколів або книг. Якщо дані, що стосуються виконаної роботи, вводяться в електронному вигляді — необхідно паралельно мати і зберігати документацію у вигляді протоколів. Якщо комп'ютерна система випробувана і працює добре, можна відмовитися від паралельного ведення книг і замінити їх протоколами, що будуть роздруковуватися з комп'ютерної системи. При веденні поточної документації слід звернути особливу увагу на збереження анонімності донора. Персональні дані донора можуть постійно зберігатися лише там, де це насправді необхідно (у реєстратурі та лікарському кабінеті). У лабораторному ж відділі та у відділі заготівлі крові треба перед донацією провести ідентифікацію донора за документом, що посвідчує особу, однак не слід вводити його персональні дані у документацію (виняток становить клініко-імунологічна лабораторія, де також здійснюються ідентифікація та внесення груп крові до документів, що засвідчують особу). У жодному разі персональні дані донора не можуть бути розміщені на протоколах/видруках/списках результатів лабораторних аналізів, що пересилаються між відділами/відділеннями ЗСК, а також на етикетках компонентів крові. З метою ідентифікації слід завжди використовувати самоклейні етикетки з номером донації (у разі потреби — зі штрих-кодом).

Документація, що містить інформацію про донорів (результати аналізів, види та кількість узятих компонентів крові), відомості про компоненти крові (вид компонента, кому він перелитий, контроль якості, процедура «зворотного стеження» тощо) має зберігатися протягом 30 років. Документація, що охоплює сервісний контроль, випробування, калібрування апаратури та приладів, які використовуються у ЗСК, має зберігатися протягом 10 років. У разі, якщо час експлуатації приладу, обладнання перевищує 10 років (наприклад, радіатор має час експлуатації до 15 років), документацію слід зберігати в архіві згідно з рекомендаціями фірми, яка здійснює технічний контроль. Направлення на аналізи, замовлення на компоненти крові слід зберігати впродовж 5 років.

У відділі забезпечення якості слід особливо дбайливо зберігати документацію, яка стосується:

- планових випробувань апаратури, обладнання, реактивів тощо;
- оцінки обладнання, реактивів тощо;
- внутрішніх та зовнішніх навчань персоналу;
- аудитів та перевірок;
- процедури «зворотного стеження»;
- знищення крові та її компонентів;
- валідації.

1.4.6.4.1. Документація в комп'ютерній системі

Усі дані, що занесені до комп'ютерної системи, мають одночасно записуватися у вигляді електронних копій та зберігатися у вогнетривкому сейфі (найкраще за межами будинку).

Комп'ютерна програма, що використовується для документування та переробки робочих даних, має бути схвалена ДУ «НДІ гематології та трансфузіології НАМН України» та МОЗ України, а крім того, описана у специфікації, складеній на підставі даних, які надав виробник цієї програми. Правильність дії цієї програми слід оцінювати під час випробування (п. 1.4.5.1).

1.4.6.4.1.1. Основні вимоги до комп'ютерної програми, яка використовується для ведення поточної документації

Комп'ютерна програма, яка використовується для ведення поточної документації у ЗСК, має відповідати таким вимогам:

– постійне та однозначне записування всіх необхідних даних таким чином, щоб забезпечити легке відстеження даних, внесених у минулому;

– мати систему захисту, яка б унеможливлювала стороннім особам доступ до захищених даних (пароль, що змінюється раз на місяць, а також самовимкнення кожні 10 хв. — процедура log off);

– забезпечити можливість автоматичного введення даних з лабораторної апаратури через сканер штрих-кодів;

– забезпечити автоматичну передачу необхідних даних між окремими відділами та лабораторіями;

– полегшувати роботу персоналу шляхом:

• створення необхідних каталогів (наприклад, реєстр донорів еритроцитів, тромбоцитів, реєстр донорів плазми, від яких заготовляють плазму методом плазмаферезу);

• автоматизації деяких процедур (наприклад, автоматична дискваліфікація донора у разі сумнівних результатів лабораторних аналізів; автоматичне відбракування крові та її компонентів у випадку позитивних результатів аналізів на носійство інфекційних захворювань; автоматизація проведення карантинізації ПСЗ);

– можливість роздрукування щоденних протоколів виконаних дій або періодичних рапортів;

– можливість роздрукування етикеток на контейнери з кров'ю та її компонентами (тільки у випадку компонентів, виготовлених із крові донорів, у яких не виявлено носійства інфекційних захворювань);

– можливість внесення до програми змін та її розширення;

– можливість взаємного обміну даних/рапортів Центру крові та його комп'ютеризованими територіальними відділеннями;

– уможливлювати передачу даних/рапортів до інших комп'ютерних програм інших центрів крові.

1.4.6.4.1.2. Зауваження стосовно ведення документації в комп'ютерній системі

Якщо дані у пам'ять комп'ютера вводяться вручну, а не через сканер штрих-кодів, то обов'язковим є проведення контролю правильності запису іншим працівником.

Здійснюючи документування у комп'ютерній системі, слід звернути особливу увагу на доступність даних для окремих груп працівників. Важливим є:

– блокування доступу до інформації про стан здоров'я донора для всіх працівників, окрім лікарського персоналу;

– обов'язкове документування результатів повторних лабораторних аналізів;

– обов'язкове документування результатів поточних контрольних перевірок лабораторних досліджень, виробничих процесів, умов зберігання та транспортування компонентів крові.

1.4.6.4.2. Документація у вигляді книг

Дані, що мають потрапити до книг окремих відділів Центру крові, описано в розділах, присвячених роботі цих відділів.

Здійснення поточних контрольних перевірок лабораторних досліджень, процесів виготовлення компонентів крові, умов зберігання та транспортування компонентів можна документувати в окремих зошитах або ж у формі протоколів (п. 1.4.6.4).

1.4.6.4.3. Протоколи

1. У формі протоколу слід документувати всі відхилення від повсякденного перебігу роботи, як-от:
   – недоліки та похибки медичного обладнання (посуду, комплектів для аферезу, дренажів тощо);
   – процедура «зворотного стеження»;
   – ускладнення, що виникають у донора під час донації;
   – усунення попередньо допущеного компонента крові (внаслідок процедури «зворотного стеження»;
   – повторне допущення в обіг компонента, поверненого ЛПЗ;
   – знищення крові та її компонентів;
   – аварія комп'ютерної системи;
   – аварія холодильного обладнання;
   – аварії інших пристроїв;
   – помилки персоналу, що спричинили якісь наслідки.

2. Слід складати збірний протокол результатів аналізів, на підставі яких кваліфікуються компоненти крові. Цей протокол має містити результати вірусологічних тестів: HBsAg, анти-HCV, анти-ВІЛ1/2, RNA HCV, DNA HBV та RNA ВІЛ; аналізів на венеричні захворювання, зокрема на сифіліс; тестів на АЛаТ і на резистентні антитіла. Рекомендовано, щоб цей протокол мав форму комп'ютерної роздруківки. Якщо це неможливо, то він має містити номери донацій у вигляді самоклейних етикеток (вони наклеюються у відділі заготівлі крові) та результати відповідних аналізів, внесені особами, які здійснювали ці аналізи, разом із підписами цих осіб.

3. Слід протоколювати усі дії, виконання яких не задокументовано в окремих книгах або зошитах:

- контрольні перевірки правильності роботи пристроїв, що здійснюються персоналом;
- контрольні перевірки якості реактивів для діагностичних аналізів;
- контрольні перевірки повторюваності дій персоналу та контрольні перевірки точності та відтворюваності лабораторних методик;
- контрольні перевірки якості компонентів крові;
- контрольні перевірки температури транспортування крові та її компонентів;
- внутрішні контрольні перевірки роботи персоналу;
- випробування та повторні випробування апаратури;
- випробування та повторні випробування процесів;
- проведення внутрішніх навчань;
- проведення зовнішніх навчань (якщо особа, яка проходила навчання, не отримала відповідного посвідчення).

4. Слід протоколювати або документувати в окремих зошитах виконання всіх дій, пов'язаних із дотриманням гігієни у приміщеннях заготівлі крові та виготовлення із неї компонентів. Ці протоколи мають охоплювати:

- миття підлог, стін, обладнання;
- миття та дезінфікування інструментів;
- стерилізацію інструментів, марлі, вати.

5. Замість лабораторних книг окремих аналізів рекомендується ведення протоколів виконаних лабораторних аналізів. Ці протоколи мають містити:

- дату проведення аналізу;
- номер серії використаного реактиву;
- термін придатності використаного реактиву;
- результати аналізованих проб та результати контрольних проб разом із порядковим номером аналізу та відповідним йому номером донації (найкраще у вигляді роздруківки із апарата, який здійснює аналіз);
- підпис особи, яка проводить аналіз;
- підпис особи, яка затверджує результати.

6. Замість книги донацій та книг препаратів можна ввести щоденні протоколи виконаних дій.

7. У вигляді протоколів слід документувати усі нетипові дії, які виконуються рідко або нестандартним способом, наприклад, взяття, виготовлення компонентів, заморожування рідких кровотворних клітин.

8. У кожному протоколі має міститися висновок, що випливає із результатів проведених аналізів.

1.4.6.4.4. Листівки-інформації про компоненти крові

Компоненти крові інколи призначаються без показань, транспортуються та зберігаються у невідповідних умовах, неправильно готуються до переливання. Щоб цього уникнути, рекомендується для кожного компонента крові, що видається для клінічного використання, додавати інформаційну листівку. Ця листівка має містити:

- назву закладу і пункту, де виготовлено цей компонент;
- назву компонента;
- тип консервуючої рідини (якщо йдеться про консервовану донорську кров, а також про всі еритроцитовмісні компоненти, окрім розморожених та відмитих еритроцитів);
- рекомендації щодо умов транспортування;

– вказівки щодо зберігання компонента, підготовки його до переливання та способу переливання;
– показання до використання;
– відомості стосовно протипоказань;
– відомості про необхідність дотримання застережних заходів під час використання (якщо такі застережні заходи рекомендуються);
– відомості про можливі ускладнення.

Детальні рекомендації щодо змісту інформаційних листівок вміщено в описах етикетування окремих компонентів крові, а також у зауваженнях стосовно показань і протипоказань до їх використання та щодо можливих ускладнень (Розділ 5).

1.4.7. Забезпечення якості у процесі заготівлі крові та виготовлення її компонентів

Рекомендується детально документувати кожну донацію з урахуванням ускладнень під час проведення процедури (погане самопочуття донора, несподівані проблеми з апаратурою тощо). Усі протоколи, що описують вищезгадані дії, мають бути підписані особою, яка здійснює нагляд за можливими ускладненнями.

Комплекти контейнерів для заготівлі крові та її компонентів повинні мати дані про їх державну реєстрацію в Україні, а постачальник контейнерів зобов'язаний надати відповідні супровідні документи: Сертифікати якості, Висновок Державної санепідекспертизи, Інструкцію про застосування, Висновок про якісний та кількісний склад, які користувач має перевірити. Контейнери мають зберігатися та використовуватися згідно з рекомендаціями виробника. Будь-який дефект контейнерів має бути описаний у протоколі, а у випадку виявлення нових вад слід повідомити про це постачальника та розпочати процедуру рекламації.

Перед донацією слід здійснити ідентифікацію донора.

Кожна медсестра, яка бере кров або здійснює аферез, принаймні раз на рік має проходити навчання та контрольну перевірку щодо проведення належної дезінфекції місця венепукції. Слід окремо перевіряти ретельність дезінфікування без попереднього повідомлення контрольованої особи (принаймні 10 разів на рік, під час повсякденної роботи). Якщо результат хоч однієї перевірки виявився незадовільним, то вся процедура контролю має бути повторена спочатку.

Критично важливим аспектом у процесі заготівлі крові та виготовлення її компонентів є тривалість донації, якої слід беззастережно дотримуватися. Донації, які перевищили максимально допущенний час (12 та 15 хв.), не повинні використовуватися для виготовлення КТ, з огляду на можливість збільшеної активації тромбоцитів, а також для виготовлення ПСЗ та кріопреципітату замороженого.

Перед заготівлею проб крові, призначених для проведення контролю якості, необхідно ретельно перемішати кров з антикоагулянтом, із попереднім уведенням крові з дренажної трубки до контейнера за допомогою роликового затискача. Це запобігає завчасному утворенню згустків та мікроагрегатів.

1.4.8. Забезпечення якості під час виготовлення компонентів крові

Виготовлення компонентів крові слід розпочинати якнайшвидше, а в разі пізньої доставки крові з територіальних відділень трансфузіології (пізніше 4 год. від моменту донації при заморожуванні плазми), слід удатися до реалізації відповідних процедур.

Еритроцитовмісні компоненти треба щонайшвидше перенести до холодильника.

Виготовлення компонентів слід здійснювати у замкнутій системі, використовуючи систематично випробовуваний зварювач для стерильного з'єднання дренажних трубок.

1.4.8.1. Виготовлення препаратів у відкритій системі

У разі необхідності виготовлення компонентів крові у відкритій системі (відмивання, об'єднання в дозу, фільтрування) всі дії слід виконувати у камері з ламінарним потоком повітря. Один раз на тиждень необхідно проводити мікробіологічний контроль повітря в камері, а час її роботи моніторувати (з оглядом стану фільтрів та їх періодичної заміни).

1.4.8.2. Метод інактивації інфекційних агентів в окремих дозах плазми

Метод спрямований на інактивацію інфекційних агентів в окремих дозах плазми, призначеної для клінічних цілей. Його можна застосовувати у ЗСК як альтернативу карантинізації плазми. Метод передбачає опромінення плазми у присутності метиленової сині, що виявляє високу спорідненість як із нуклеїновими кислотами, так і зі структурами поверхневих вірусів, особливо тих, що мають ліпідні оболонки. Інактивація метиленовою синню спричиняє втрату терапевтично активних білків (порядку 4–20%).

Система для інактивації інфекційних агентів у плазмі повинна моніторувати всі дії, пов'язані з ідентифікацією контейнера з плазмою (наприклад, сканування за допомогою сканера штрих-кодів). Також вона повинна мати можливість простеження за параметрами опромінювання: енергія, температура і тривалість. Система має забезпечити автоматичне роздрукування кінцевих етикеток зі штрих-кодом та протоколів, у яких описано умови опромінення і наведені дані щодо кожної інактивованої дози плазми. Протоколи у вигляді збірників мають передаватися у відділ забезпечення якості і зберігатися там.

1.4.8.3. Опромінення компонентів крові

Важливо, щоб період між опроміненням компонентів крові та їх переливанням був якомога коротшим, оскільки, особливо у випадку концентратів еритроцитів, тривалість зберігання після опромінення впливає на якість компонентів крові.

Рекомендується використання чутливих етикеток, що змінюють своє забарвлення під впливом випромінювання та, крім усього іншого, зменшують ризик переплутування контейнерів із тими, які не були піддані процесу опромінення.

Згідно з рекомендаціями GMP кожен радіатор, що працює у ЗСК, має періодично піддаватися контролю та випробуванням. Раз на рік, окрім планового огляду, треба проводити перевірку герметичності променеутворюючого джерела, а раз на 3 роки рекомендується проводити випробування джерела (картографування ізодоз). Повторні випробування треба проводити у разі зміни місця розташування пристрою або після великого ремонту.

1.4.8.4. Кваліфікація компонентів крові

Спосіб кваліфікування компонентів крові має бути детально описаний у СОП, випробуваний, задокументований і затверджений відділом забезпечення якості. Використовувана система повинна гарантувати, що компоненти крові, які не пройшли всі обов'язкові випробування, не будуть схвалені до використання.

Над кваліфікуванням компонентів крові здійснює нагляд ВЗЯ. Якщо кваліфікація проводиться у приміщенні ЗСК, активна участь представника названого відділу є обов'язковою.

Якщо під час випробування із застосуванням комп'ютерної системи відбувається відбракування компонентів, то слід перевірити:

– походження компонентів крові із донацій, які супроводжувалися позитивними або сумнівними результатами аналізів та блокування кваліфікації комп'ютерною системою;

– чи завжди результати аналізів, занесені до комп'ютерної системи вручну, пройшли перевірку ще 2 особи;

– дотримання процесу обмеження доступу кожного працівника тільки до тих відомостей, що належать до сфери його обов'язків (за винятком керівника ЗСК, оператора комп'ютерної системи та керівника відділу забезпечення якості, які повинні мати доступ до всієї інформації);

– наявність у кожного працівника свого коду і паролю для входу до системи (пароль має систематично змінюватись);

– чи діє в системі процедура log off — самовимкнення монітора.

У разі помилкового етикетування взятих на аналізи проб, що унеможливлює їх достовірну ідентифікацію, рекомендується:

– відокремлення цієї підозрілої групи донацій та їх проб і виключення їх із денної кваліфікації;

– здійснення серологічного контролю всіх донацій із критичної групи.

У разі унеможливлення ідентифікації проб із донаціями вони є непридатними до використання.

1.4.9. Забезпечення якості під час зберігання та експедиції

1.4.9.1. Зберігання

Умови транспортування крові та її компонентів, а також умови зберігання продуктів крові мають бути докладно описані у СОП. Температура у холодильних установках має систематично контролюватися і документуватися.

Якщо встановлено центральний моніторинг, то слід так запрограмувати пороги сигналів тривоги (поріг застереження і поріг тривоги), щоб можна було вжити запобіжні дії у разі виходу із ладу установки. Усі діючі системи застереження (візуальний та звуковий сигнали тривоги) мають контролюватися із врахуванням їхньої надійності.

Причини відхилень від установленої температури зберігання мають щоразу бути з'ясовані, письмово задокументовані і протокол повинен містити відповідний коментар. У процедурі слід детально прописати ремонтні та запобіжні дії.

Компоненти крові, призначені для аутотрансфузій, мають зберігатися в окремих холодильниках та морозильних шафах.

Усі ЗСК повинні мати добре функціонуючу систему архівування кожної донації. Системи ручного та автоматичного архівування мають бути зорганізовані таким чином, щоб забезпечити зберігання по два зразки з кожної донації, а кінцевий об'єм сироватки у кожній пробірці становив близько 1 мл (2 × по 500 мкл). Кількість пробірок має бути не менше трьох: 1–2 використовується для скринінгу, 1–2 передаються в архів. Відповідно промарковані проби зберігаються в архіві 2 роки від дати заготівлі донорської крові або її компонентів за температури від мінус 30 до мінус 40 оС у холодильниках з обмеженим доступом. Холодильники з маркуванням «Архівні проби» повинні бути пронумеровані. Допускається лише одноразове розморожування зразків сироватки або плазми із можливістю їх повної ідентифікації та оперативного розшуку у морозильних шафах. Зразки мають зберігатися так, щоб у разі вилучення одного з них, решта не розморозилися.

1.4.9.2. Експедиція

Рекомендації, пов'язані з видачею крові та її компонентів, а також із можливими поверненнями, подано у розділі 9.

1.4.10. Контроль якості

Система якості включає в себе контроль якості (Quality Control, QC), який, у свою чергу, є частиною GMP. Контроль якості охоплює:

- відбір проб, оцінку якості крові та її компонентів;
- нагляд над кваліфікуванням крові та її компонентів до застосування, їх вилучення та знищення;
- здійснення процедури зворотного відстеження;
- поточний контроль роботи.

1.4.10.1. Контроль якості крові та її компонентів

1.4.10.1.1. Взяття проб для контролю якості

Для збереження стерильності аналізованого компонента проби для контролю якості рекомендується брати у вигляді замкнутих відрізків з'єднувальних трубок контейнерів з компонентами. Проби для контролю якості не слід брати зі з'єднувальної трубки, яка з'єднана з контейнером через мембрани.

Для забезпечення репрезентативності аналізованої проби необхідно за допомогою роликового затискача перевести вміст усіх з'єднувальних трубок до середини контейнера, закрити вхідні отвори з'єднувальних трубок і ретельно перемішати матеріал, що знаходиться у контейнері, до однорідності. Тільки після цього можна відкрити вхідний отвір з'єднувальної трубки, щоб зробити можливим її наповнення. Після повторного виконання (3–4 рази) вищеописаних дій слід за допомогою діелектричного зварювача відокремити кінцевий відрізок з'єднувальної трубки близько 10–20 см завдовжки, який після відрізання і являтиме собою зразок для аналізу. Для того, щоб правильно герметизувати з'єднувальну трубку, яка веде до контейнера, треба зробити три суміжні пайки. Дві з них після відокремлення проби мають лишитися на кінці з'єднувальної трубки, яка веде до контейнера.

Зразки компонентів слід паспортизувати етикетками, ідентичними до етикеток досліджуваних гемосередовищ, до відокремлення їх від контейнерів.

Відбір зразків на стерильність донорської крові та її компонентів здійснювати в кількості 1% від загальної кількості заготовлених доз, але не менше одного зразка. Стерильність крові та її компонентів проводити методом прямого посіву у тіогліколеве середовище не менше 1 мл у дві пробірки з 20 мл середовища. Посіви інкубувати за температури 20–25 °С та 30–35 °С протягом 48 год. Потім зробити пересів по 0,5 мл кожного зразка у дві інші пробірки з 10 мл тіогліколевого середовища. Інкубувати 24 год.

1.4.10.1.1.1. Особливості взяття проб для контролю якості деяких еритроцитовмісних компонентів

1. При виготовленні компонента еритроцити відмиті проби на дослідження слід брати з контейнера, що містить відмиті еритроцити, завішені у розчині натрію хлориду 0,9%. Лабораторний зразок еритроцитів відмитих може бути відібраний у полімерну трубку магістральної системи. Вміст білка і рівня вільного гемоглобіну треба визначати у відмиваючому розчині після останнього циклу відмивання. Контролю якості підлягають усі дози.
2. При виготовленні компонента еритроцити, збіднені на лейкоцити, проби для визначення рівня гемоглобіну та гематокриту треба взяти після закінчення фільтрації. Якщо йдеться про компоненти, що фільтрувалися в замкнутій системі та зберігалися після фільтрації, проби для досліджень на гемоліз слід відбирати в кінці терміну зберігання.
3. При виготовленні компонента розморожені еритроцити пробу на дослідження слід брати з кожного компонента, готового до видачі.

1.4.10.1.1.2. Взяття проб для контролю якості КТ

Кількість тромбоцитів та лейкоцитів у слід визначати у пробі, взятій не пізніше 24 год. з моменту виготовлення компонента. Для цих досліджень придатні виключно дози/компоненти, що не містять видимих при макроскопічному дослідженні згустків клітин; pH же треба визначати у пробі, взятій на 3-й або 5-й день зберігання (залежно від різновиду контейнерів, що використовуються для зберігання КТ).

1. КТ збіднений на лейкоцити — пробу на дослідження треба брати безпосередньо після завершення фільтрації.
2. Заморожений КТ — пробу на дослідження треба брати дворазово: з компонента, підготовленого до заморожування (перед додаванням кріозахисної суміші), а також після його розмороження та відновлення. Контролю якості підлягають усі дози.

1.4.10.1.1.3. Взяття проб для контролю якості концентрату гранулоцитів (КГ)

Пробу для дослідження треба брати з кожного КГ безпосередньо після завершення аферезу.

1.4.10.1.1.4. Взяття проб для контролю якості ПСЗ

Проби для дослідження Ф. VIII у плазмі треба брати не менше як з 6 доз плазми протягом першого місяця зберігання після її замороження та розмороження. Аналізи наступних не менше 6 доз слід здійснювати кожні 3 місяці. З метою економії реактивів допустимо визначення вказаного параметра в пулі ПСЗ.

1.4.10.1.1.5. Взяття проб для контролю якості кріопреципітату

При виготовленні компонента із некарантинізованої плазми слід відбирати кожні 2 місяці по 3–4 дози кріопреципітату і зберігати їх у тих самих умовах, що й решту кріопреципітату. Визначення Ф. VIII треба здійснювати в перший і останній місяць зберігання.

При виготовленні компонента із карантинизованої плазми дослідження проводити в пулі із 3–4 доз кріопреципітату в терміни, викладені в п. 1.4.10.1.1.4.

У кріопреципітаті слід також визначати вміст фібриногену.

1.4.10.1.2. Визначення показників, пов'язаних із контролем якості

Стандартизація вимагає визначення в дозі всіх параметрів якості оцінюваних еритроцитовмісних компонентів та тромбоцитів.

Оцінка показників якості свіжозамороженої плазми здійснюється в перерахунку на 1 літр. З цією метою слід скористатися відповідними зразками (п. 1.4.10.1.3.1–1.4.10.1.3.8).

1.4.10.1.2.1. Визначення об'єму

Об'єм окремих компонентів встановлюється опосередковано шляхом перерахунку маси компонента на об'єм.

Масу контейнерів треба визначати наперед, із точністю до 1 г (лабораторні ваги).

Об'єм компонента слід визначити за формулою:

$$v = \frac{m_2 - m_1}{в_{пит.}},$$

де v — об'єм компонента (мл); m_2 — маса контейнера з компонентом (г); m_1 — маса порожнього контейнера (г); $в_{пит.}$ — питома вага компонента (г/мл).

Питома вага окремих компонентів крові становить:

Консервована донорська кров	1,06 г/мл
Еритроцити	1,08 г/мл
Еритроцити + збагачувальний розчин	1,07 г/мл
КТ	1,03 г/мл
Плазма	1,03 г/мл
Кріопреципітат	1,03 г/мл.

1.4.10.1.2.2. Визначення гематокриту

Принцип побудований на центрифугуванні еритроцитовмісних середовищ протягом визначеного часу при постійній кількості обертів центрифуги з подальшим визначенням результату за спеціальною шкалою.

Рекомендується визначати гематокрит методом мікроцентрифуги, оскільки автоматичне визначення дає менш докладні результати. Можна спиратися на результати гематологічного аналізатора після того, як метод буде випробувано із використанням методу мікроцентрифуги.

1.4.10.1.2.3. Визначення абсолютного вмісту гемоглобіну в еритроцитовмісних компонентах та донорській крові

Абсолютний вміст гемоглобіну встановлюється за формулою:

$$Hb_{абс.} = \frac{a \cdot v}{1000},$$

де $Hb_{абс}$ — абсолютний вміст гемоглобіну (г/д.); a — результат визначення гемоглобіну (г/л); v — об'єм еритроцитовмісного компонента або донорської крові (мл).

1.4.10.1.2.4. Визначення вмісту гемоглобіну в розморожених еритроцитах

Аналіз можна виконати за допомогою довільного методу, що повсякденно використовується для визначення морфології крові. Аналіз слід здійснити дворазово:

а) визначити вміст гемоглобіну безпосередньо у взятій пробі і встановити абсолютний вміст гемоглобіну

$$Hb_{абс.} = \frac{a \cdot v}{1000},$$

де $Hb_{абс.}$ — абсолютний вміст гемоглобіну (г/д.); a — результат визначення гемоглобіну (г/л); v — об'єм розморожених еритроцитів (мл);

б) частину проби відцентрифугувати, взяти супернатант і визначити в ньому гемоглобін (Hb у супернатанті):

$$Hb = \frac{a \cdot v(1 - Ht)}{100},$$

де Hb — вміст гемоглобіну в супернатанті (г/доза); a — результат визначення гемоглобіну (г/дл); v — об'єм розморожених еритроцитів (мл); Ht — гематокрит розморожених еритроцитів.

1.4.10.1.2.5. Визначення рівня гемолізу в еритроцитовмісних компонентах, що перебувають на зберіганні

Цей аналіз слід виконувати, використовуючи спеціальний апарат для визначення низьких показників гемоглобіну.

Пробу взяти після ретельного перемішування та відцентрифугувати її (2000 об./хв. × г, 10 хв.). Перенести супернатант до іншої пробірки та повторно відцентрифугувати (4000 об./хв., 15 хв.). В отриманому супернатанті визначити відсоток гемолізу за такою формулою:

$$\% \text{ гемолізу} = \frac{Hb_a(1-Ht)100}{Hb_c},$$

де Hb_a — вміст гемоглобіну в супернатанті (г/л); Ht — гематокрит (л/л); Hb_c — вміст гемоглобіну у вихідній пробі (г/л).

1.4.10.1.2.6. Визначення вмісту білка у відмитих еритроцитах та у плазмі

Рекомендується визначати вміст білка нефелометричним методом із реактивом Екстона (аналогічно визначенню вмісту білка у сечі), оскільки при низькому вмісті білка в аналізованій пробі чутливість біуретового методу може виявитися замалою. Концентрацію білка у плазмі можна визначати біуретовим методом або ж іншим, достатньо чутливим і випробуваним у лабораторії ЗСК.

Вміст білка в 1 дозі відмитих еритроцитів можна вирахувати, використовуючи формулу:

$$\text{б} = \frac{a \cdot v(1-Ht)}{1000},$$

де б — вміст білка у еритроцитах відмитих (г/доза); a — рівень залишкового білка у еритроцитах відмитих після останньої процедури відмивання, г/л; v — об'єм відмитих еритроцитів (л); Ht — гематокрит компонента л/л.

1.4.10.1.2.7. Визначення кількості лейкоцитів в еритроцитах із видаленим тромболейкоцитарним шаром та в еритроцитах, збіднених на лейкоцити

Аналіз можна виконати за допомогою довільного методу, що повсякденно використовується для визначення морфології клітин крові. Визначення кількості лейкоцитів в ЕЗЛ слід здійснювати за допомогою мікроскопа. У пробірці зробити 5-разове розведення аналізованої проби (0,4 мл 3% розчину оцтової кислоти + 0,1 мл ЕЗЛ). Інкубувати впродовж 10 хв. у кімнатній температурі, перемішати і нанести на сітку камери Фукса–Розенталя. Камеру розмістити у вологій камері та інкубувати при кімнатній температурі впродовж 1 хвилини. Лейкоцити слід лічити на всій поверхні сітки камери Фукса–Розенталя.

Вміст лейкоцитів підрахувати за формулою:

$$X = n \cdot 1{,}5625,$$

де X — кількість лейкоцитів/л ЕЗЛ; n — кількість лейкоцитів на всій поверхні сітки; 1,5625 — коефіцієнт, який враховує розведення проби та об'єм камери Фукса–Розенталя.

Використовуючи автоматичний метод, можна здійснити аналіз із проби, підготовленої для визначення гематокриту і гемоглобіну.

1.4.10.1.2.8. Визначення кількості тромбоцитів у КТ та КТЗЛ

Аналіз можна здійснити мікроскопічним або автоматичним методом. Використовуючи автоматичні аналізатори, спершу слід випробувати їх, перевірити чи правильно апарат зчитує показники у разі високого вмісту тромбоцитів. За необхідності пробу розводять перед аналізом у 3–4 рази розчином натрію хлориду 0,9% Вимір слід здійснити якнайшвидше після розведення. Під час виконання розрахунків врахувати ступінь розведення.

Використовуючи мікроскопічний метод, підрахувати тромбоцити в 5 великих квадратах, розміщених по діагоналі сітки камери Горяєва.

Кількість тромбоцитів обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 4000}{80} = n \cdot 10\,000,$$

де X — кількість тромбоцитів у 1 л; 200 — ступінь розведення зразка; A — кількість тромбоцитів, підрахованих в 5 великих квадратах; 1/4000 — об'єм малого квадрата в мкл; 80 — кількість малих квадратів.

Кількість тромбоцитів (Т) в дозі розрахувати за формулою:

$$T = X \cdot 1000 \cdot V,$$

де X — число тромбоцитів у 1 мкл; 1000 — коефіцієнт для переводу об'єму в мл; V — об'єм компонента в мл.

1.4.10.1.2.9. Визначення кількості лейкоцитів у КТ

Аналіз можна виконати за допомогою довільного методу, що повсякденно використовується для визначення морфології крові. Використовуючи автоматичний метод, можна здійснити аналіз із проби, підготованої для визначення тромбоцитів.

Визначення проводять за уніфікованим методом підрахунку лейкоцитів у периферичній крові. В суху пробірку відміряти 0,4 мл 3% оцтової кислоти та внести 0,1 мл заздалегідь перемішаного КТ. Ретельно перемішати. Залишити при кімнатній температурі на 10 хв. Заповнити лічильну камеру Горяєва.

Рахувати лейкоцити по поверхні всієї сітки під малим збільшенням (об'єктив 10×, окуляр — 10×).

Кількість залишкових клітин лейкоцитів слід обчислювати за формулою:

$$X = \frac{N \cdot 5 \cdot 250}{1000} = N \cdot 12,5,$$

де X — кількість лейкоцитів у 1 л; 5 — ступінь розведення плазми; N — кількість лейкоцитів в усьому об'ємі камери; 1/250 — об'єм одного великого квадрата (в мкл), 100 — число великих квадратів.

Кількість лейкоцитів у дозі можна розрахувати за формулою:

$$T = X \cdot V,$$

де X — число лейкоцитів у 1 мкл; V — об'єм компонента в мл.

1.4.10.1.2.10. Визначення кількості еритроцитів у ПСЗ

Аналіз можна виконати за допомогою довільного методу, що повсякденно використовується для визначення морфології клітин крові. Застосовуючи автоматичні гематологічні аналізатори, слід спершу випробувати їх, перевірити, чи достатньо чутливим є апарат при низькому вмісті еритроцитів. За потреби слід скористатися мікроскопічною методикою визначення і діяти таким чином: у пробірці зробити 20-разове розведення аналізованої проби (1,9 мл розчину натрію хлориду 0,9% + 0,1 мл плазми), розмішати й інкубувати при кімнатній температурі 10 хв. і нанести на сітку камери Фукса–Розенталя. Камеру слід розмістити у вологій камері та інкубувати при кімнатній температурі протягом 1 хв. Лічити еритроцити на всій поверхні сітки камери Фукса–Розенталя. Обрахувати вміст еритроцитів за формулою:

$$X = \frac{(N \cdot 20)}{3,2} = N \cdot 6,25 \cdot 10^6,$$

де X — кількість еритроцитів/л плазми; N — кількість еритроцитів на всій поверхні сітки; 20 — коефіцієнт, який враховує розведення проби; 3,2 — об'єм камери Фукса–Розенталя, мкл; 6,25 — коефіцієнт перерахунку.

УВАГА! *Визначення залишкових еритроцитів у плазмі можна здійснити також цитометричним шляхом, використовуючи антитіла проти глікофорину А, присутнього на оболонці еритроцитів людини.*

1.4.10.1.2.11. Визначення кількості лейкоцитів у ПСЗ

Аналіз можна виконати за допомогою довільного методу, що повсякденно використовується для визначення морфології крові. Застосовуючи автоматичні гематологічні аналізатори, слід спершу випробувати їх, перевірити, чи достатньо чутливим є апарат при низькому вмісті лейкоцитів. За потреби вдатися до довільного мікроскопічного методу, наприклад, після 5-разового розведення аналізованої проби (0,4 мл 3% кислоти оцтової + 0,1 мл плазми) підрахувати лейкоцити на всій поверхні сітки камери Фукса–Розенталя.

Вміст лейкоцитів слід підрахувати за формулою:

$$X = n \cdot 1,5625 \cdot 10^6/\text{л},$$

де X — кількість лейкоцитів у літрі плазми; n — кількість лейкоцитів на всій поверхні сітки; 1,5625 — коефіцієнт перерахунку.

1.4.10.1.2.12. Визначення кількості тромбоцитів у ПСЗ

Аналіз можна виконати за допомогою довільного методу (автоматичного чи мануального), що повсякденно використовується для визначення морфології крові. Застосовуючи автоматичні гематологічні аналізатори, слід спершу випробувати їх, перевірити, чи достатньо чутливим є апарат при низькому вмісті тромбоцитів.

При мануальному методі після розведення плазми у 200 разів (4,0 мл розчину натрію хлориду 0,9% + 0,02 мл плазми) і інкубації протягом 20–30 хв. лічити тромбоцити у 25 великих квадратах камери Горяєва (після 5-хвилинної експозиції).

Визначити кількість тромбоцитів можна за формулою:

$$X = A \cdot 2 \cdot 10^9/\text{л},$$

де X —кількість тромбоцитів у 1 л плазми; A — кількість тромбоцитів, підрахованих у 25 великих квадратах.

УВАГА! *Визначення залишкових тромбоцитів у плазмі можна здійснити також цитометричним шляхом, використовуючи антитіла проти комплексу глікопротеїну IIa/IIIb.*

1.4.10.1.2.13. Визначення активності Ф. VIII у ПСЗ/кріопреципітаті

Активність Ф. VIII у ПСЗ слід визначати в пулі з 3–6 доз ПСЗ, які відбирають в день заготівлі та кожні 3 місяці. Якщо визначення активності Ф. VIII здійснюється поза межами ЗСК, аналіз слід завершити до 8 год. з моменту донації або проведення плазмаферезу.

Активність Ф. VIII у кріопреципітаті слід визначати в пулі 3–4 доз компонента протягом першого і останнього місяця зберігання.

Визначення слід здійснювати шляхом одноступеневого вимірювання прокоагуляційної активності Ф. VIII, використовуючи аналізатор показників гемостазу реактиву згідно з інструкціями із застосування.

Прокоагуляційну активність Ф. VIII у 1 дозі кріопреципітату можна обрахувати за формулою:

активність МО/д. = активність (МО/мл) × об'єм компонента (мл).

1.4.10.1.2.14. Визначення концентрації фібриногену у кріопреципітаті

Визначення слід здійснювати шляхом одноступеневого вимірювання за допомогою аналізатора показників гемостазу методом Клауса.

1.4.10.1.2.15. Визначення pH

Виконувати цей аналіз треба за допомогою метрологічно повіреного pH-метра.

1.4.10.1.2.16. Визначення кількості лейкоцитів у КТЗЛ

Визначення кількості лейкоцитів у КТЗЛ слід здійснити мікроскопічним методом.

Визначення проводять за уніфікованим методом підрахунку лейкоцитів у периферичній крові. В суху пробірку слід відміряти 0,4 мл 3% оцтової кислоти та внести 0,1 мл заздалегідь перемішаного КТ. Ретельно перемішати. Залишити при кімнатній температурі на 10 хв. Заповнити лічильну камеру Горяєва.

Рахувати лейкоцити по поверхні всієї сітки під малим збільшенням (об'єктив 10×, окуляр — 10×).

Підрахувати кількість залишкових клітин лейкоцитів можна за формулою:

$$X = \frac{N \cdot 5 \cdot 250}{100} = N \cdot 12,5,$$

де X — кількість лейкоцитів у 1 л; 5 — ступінь розведення плазми; N — кількість лейкоцитів в усьому об'ємі камери; 1/250 — об'єм одного великого квадрата (в мкл); 100 — число великих квадратів.

Кількість лейкоцитів у дозі розраховують за формулою:

$$\text{T} = X \cdot V \cdot 1000,$$

де X — число лейкоцитів у 1 мкл; V — об'єм компонента у мл.

УВАГА! *У збіднених на лейкоцити компонентах крові лейкоцити можуть визначатися також методом проточної цитометрії з використанням моноклональних антитіл. Цей метод*

характеризується високою чутливістю та повторюваністю результатів, застосовується передусім для контролю якості компонентів крові, що містять невелику кількість клітинних забруднень. Для визначень потрібна невелика кількість матеріалу (25–200 µл). Рекомендується використовувати наявні у продажу тестові комплекти, випробувані на предмет адекватності визначення клітинних забруднень в окремих компонентах крові, що уможливлюють стандартизацію цих визначень. З метою визначення кількості лейкоцитів у збіднених на лейкоцити компонентах крові (ЕЗЛ, КТЗЛ) рекомендується використовувати йодид проріддію, який забарвлює нуклеїнові кислоти, що містяться у ДНК ядер лейкоцитів. Проби слід аналізувати впродовж 48 год. після фільтрації КЕ або КТ.

1.4.10.1.2.17. Визначення вмісту гранулоцитів у концентраті гранулоцитів

Застосовуючи довільний метод, що використовується повсякденно для визначення кількості лейкоцитів у крові, слід визначити вміст лейкоцитів та їх процентну формулу. Використовуючи автоматичні аналізатори, слід спершу випробувати їх, перевірити, чи правильно апарат зчитує показники у разі високого вмісту лейкоцитів. Якщо потрібно, треба перед аналізом 3- або 4-разово розвести пробу за допомогою розчину натрію хлориду 0,9% l і врахувати цю дію під час виконання обрахунків.

Опираючись на результати цих аналізів, слід підрахувати кількість гранулоцитів в 1 µл концентрату за формулою:

$$G = \frac{I \cdot a}{100},$$

де G — кількість гранулоцитів/µл; I — кількість лейкоцитів/µл; a — відсоток гранулоцитів (%).

1.4.10.1.2.18. Визначення вмісту гемоглобіну в супернатанті розморожених еритроцитів (Е)

Вміст гемоглобіну, який знаходиться у супернатанті, можна обрахувати за формулою:

$$Hb = \frac{a \cdot v(1 - Ht)}{100},$$

де Hb — вміст гемоглобіну у супернатанті (г/д.); a — результат визначення (г/л); v — об'єм розморожених E (мл); Ht — гематокрит розморожених E.

1.4.10.1.3. Оцінка якості крові та її компонентів

Критерії, яким мають відповідати окремі компоненти крові, а також необхідна частота контролю наведена в наступних таблицях.

Контроль якості консервованої донорської крові

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	450 ± 10% мл	4%
2	Гематокрит л/л	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/д.)	45	
4	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

Контроль якості еритроцитів

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	280 ± 50 мл	4%
2	Гематокрит л/л	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/д.)	45	
4	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

Контроль якості еритроцитів у додатковому розчині

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	4%
2	Гематокрит л/л	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/д.)	45	
4	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

Контроль якості еритроцитів із видаленим ТЛШ

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	250 ± 50	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,65–0,75(1)	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/од.)	≥ 43	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
4	Кількість лейкоцитів/од.	$< 1\times10^{9}$(1)	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
5	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 од./місяць

Контроль якості еритроцитів із видаленим ТЛШ у додатковому розчині

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	1% усіх од.
2	Гематокрит	0,50–0,70(2)	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/од.)	≥ 43	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
4	Кількість лейкоцитів/од.	$< 1\times10^{9}$(1)	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
5	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 од./місяць

Контроль якості відмитих еритроцитів

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	Усі дози
2	Гематокрит л/л	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/д.)	≥ 40	
4	Кількість лейкоцитів/од.	$< 1\times10^{6}$	
5	Вміст білка	< 0,5 г/д.	
6	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

Контроль якості еритроцитів, збіднених на лейкоцити

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	250 ± 50	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,65–0,75[1] 0,50–0,70[2]	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/од.)	≥ 43	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
4	Кількість лейкоцитів/од.	$< 1\times10^{6}$[1]	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
5	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 од./місяць

Контроль якості еритроцитів, збіднених на лейкоцити у додатковому розчині

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,50–0,70[2]	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/од.)	≥ 40	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
4	Кількість лейкоцитів/од.	$< 1\times10^{6}$[1]	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
5	Гемоліз у кінцевий період зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 од./місяць

Контроль якості тромбоцитів, відновлених із дози крові

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	> 50 мл ± 10%	Усі одиниці
2	Кількість тромбоцитів $\times10^{9}$/д.	> 60	1% усіх доз (не менш ніж 10 доз/місяць)
3	Кількість лейкоцитів $\times10^{9}$/од.	< 0,2[1] < 0,05[2]	
4	pH* за температури 22 °C у кінцевий період зберігання	6,4–7,4	1% усіх доз (не менш ніж 4 доз/місяць)

** Контроль здійснювати лише для тих одиниць, що зберігаються упродовж 5 днів (у «дихаючих» контейнерах).*

[1] *— КТ, отриманий методом збагачення тромбоцитами плазми (вимозі мають відповідати 75% досліджуваних одиниць).*

[2] *— КТ, отриманий метод лейкотромбошару (вимозі мають відповідати 75% досліджуваних одиниць).*

Контроль якості тромбоцитів (концентрату тромбоцитів), аферез

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	> 40 мл на 60×10^{9} тромбоцитів	Усі одиниці
2	Кількість тромбоцитів	> 200×10^{9}	1% усіх доз (не менш ніж 4 доз/місяць)
3	pH* за температури 22 °C у кінцевий період зберігання	6,4–7,4	

** Контроль здійснювати тільки для КТ, що отримані у закритій системі та зберігаються впродовж 5 днів.*

Контроль якості
свіжозамороженої плазми

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Герметичність	Протікань не повинно бути з будь-якої частини контейнера	Усі одиниці
2	Візуальна оцінка	Забарвлення ніде не змінене, згустки візуальні ознаки гемолізу відсутні	
3	Об'єм (мл)	Встановлений об'єм ± 10%[2]	
4	Загальний білок	> 50 г/л	4% всіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
5	Ф. VIIIс	У середньому (після замороження та розмороження) ≥ 70%	Кожні 3 місяці пул із 3–6 доз
6	Еритроцити × 10^9/л*	< 6,0	4% усіх одиниць (не менш ніж 4 дози/місяць)
7	Лейкоцити × 10^9/л*	< 0,1	
8	Тромбоцити × 10^9/л*	< 50	

[1] — *Візуальний контроль: під час відокремлення у пресі, перед заморожуванням, після розмороження.*
[2] — *Об'єм залежить від методу виготовлення препарату і встановлюється індивідуально для кожного центру донорства і гемотерапії.*
** Визначити показник перед заморожуванням.*

Контроль якості
свіжозамороженої лейкофільтрованої плазми

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Герметичність	Протікань не повинно бути з будь-якої частини контейнера	Усі одиниці
2	Візуальна оцінка	Забарвлення ніде не змінене, згустки візуальні, ознаки гемолізу відсутні	
3	Об'єм (мл)	Стандартний ± 10%[2]	
4	Загальний білок	> 50 г/л	4% всіх доз, але не менше 4 дози/тиждень
5	Ф. VIIIс	У середньому (після замороження та розмороження) ≥ 70%	Кожні 3 місяці пул із 3–6 доз
6.	Еритроцити	< 6,0 × 10^9/л	4% усіх одиниць (не менш ніж 4 дози/місяць)
7	Лейкоцити	< 0,1 ×10^6/л	
8	Тромбоцити	< 50 × 10^9/л	

Контроль якості
кріопреципітату замороженого

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	30–40	Усі одиниці
2	Ф. VIIIс (МО/д.)	≥ 70	Кожні 2 місяці — пул із 3–4 доз[3]
3	Фібриноген (мг/д.)	≥ 140	1% усіх доз

Контроль якості
плазми кріосупернатантної (без Ф. VIII)

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Візуальна оцінка	Не спостерігається ні зміни забарвлення, ні згустків	Усі одиниці
2	Об'єм (мл)	Такий, що відповідає усталеному значенню для цього методу отримування плазми ± 10%	
3	Вміст залишкових клітин	Еритроцити: менше 6,0 х 10^9/л, лейкоцити: менше 0,1×10^9/л, тромбоцити: менше 50,0×10^9/л	4 дози/місяць

1.4.10.1.4. Документація контролю якості крові та її компонентів

Документація контролю якості має охоплювати всі різновиди компонентів крові, які виготовляються у відділі заготівлі крові. Цю документацію треба вести у вигляді протоколів або книги. Вона має містити дату взяття проб на аналізи, номери компонентів, з яких узяті проби, результати визначень, аналізів, обрахунків. Слід складати щомісячні звіти щодо результатів контролю якості; у цих звітах компоненти, що відповідають, необхідним критеріям, мають бути позначені знаком (+), тоді як ті, що цим критеріям не відповідають, знаком (–).

Щонайменше 90% аналізованих компонентів мають відповідати вимогам, зазначеним у нормативних документах і СОП. Якщо цей відсоток зменшиться, слід детально переглянути процедуру виготовлення компонентів (спершу виключивши можливості лабораторної помилки або помилки під час взяття проб) та провести її повторне випробувати. Цю дію слід також задокументувати у протоколі/книзі відповідним записом.

1.4.10.1.5. Відбракування і знищення крові та її компонентів

Рішення про відбракування компонента крові ухвалює відділ забезпечення якості. Причини відбракування можуть бути такі:

– інфекція;
– невідповідність до вимог візуального контролю якості (порушення герметичності контейнерів, гемоліз, зміна забарвлення, згустки);
– перевищення терміну придатності;
– ізосерологічні причини (п. 7.6.7).

Відбраковані компоненти мають бути знищені.

Якщо об'єм донорської крові становить менш ніж 405 мл або більше 495 мл, слід після центрифугування знищити тільки еритроцити, а плазму використати як вихідну сировину для виробництва препаратів крові.

1.4.10.1.5.1. Відбракування через інфекцію

При отриманні позитивних результатів тестів діагностики гепатитів В, С, ВІЛ-1, ВІЛ-2, сифілісу, виявленні підвищеного рівня активності АлАт (більше ніж у 2 рази) або при проведенні аналізів, які виявляють наявність генетичного матеріалу HCV (РНК HCV), HBV (ДНК HBV) та ВІЛ (РНК ВІЛ), всі компоненти крові, отримані з цією донації, підлягають знищенню. Для компонентів з підвищеним рівнем АлАТ, слід здійснити повторне визначення ферменту з тієї самої проби крові.

1.4.10.1.5.2. Процедура ретроспективного аналізу (look back)

Ця процедура стосується всіх кадрових донорів, у яких виявлено позитивний результат одного з таких тестів:

– HBsAg;
– ДНК HBV;
– анти-HCV (позитивний результат додаткового тесту типу Western Blot при негативному результаті РНК HCV);
– РНК HCV;

– анти-ВІЛ-1, ВіЛ-2 в ІФА та в тесті типу Western Blot;
– РНК ВІЛ;
– Анти-trep.

Вона полягає у простеженні долі всіх компонентів крові, отриманих упродовж 6 місяців від останньої донації, яка супроводжувалася негативним результатом скринінгових тестів. Треба також повторно проаналізувати доступні архівні проби на предмет наявності генетичного матеріалу вірусу (аналіз в окремих донаціях). Якщо період між донацією з позитивним результатом та донацією з негативним результатом є довшим, ніж 24 місяці, то процедурою ретроспективного аналізу слід охопити тільки останню негативну донацію.

Після виявлення у донора щонайменше двох позитивних результатів у скринінговому тесті необхідно:

– затримати всі компоненти крові, одержані з цієї донації;
– розшукати всі компоненти крові з останньої донації, яка була з негативними результатами аналізів, а також із донацій, узятих упродовж 6 місяців від останньої негативної донації, та зберігати їх у виділеному для цієї мети місці.

У разі отримання позитивних результатів підтверджених тестів ЗСК зобов'язаний знищити всі попередньо вилучені компоненти крові і розпочати процедуру ретроспективного аналізу з метою виявлення реципієнтів компонентів крові, які потенційно могли бути заражені. Про початок ретроспективного аналізу слід повідомити споживачів та встановити, кому перелито потенційно інфіковані компоненти крові. У випадку плазми, переданої на фракціонування, принципи ретроспективного аналізу слід застосувати до специфіки відділу виробництва препаратів крові.

Здійснення процедури ретроспективного аналізу слід підтвердити протоколом, який має зберігатися у відділі забезпечення якості протягом 30 років.

1.4.10.1.5.3. Знищення крові та її компонентів

До моменту знищення всі відбраковані компоненти слід зберігати у спеціально виділеному місці, недоступному для більшості персоналу.

Знищення відбракованої крові або її компонентів має відбуватися згідно із принципами утилізації медичних відходів (найкраще — шляхом спалення). Ці дії має контролювати епідеміолог. Його обов'язком є також відповідальність за знищення всіх компонентів зараженої крові, забракованих з інфекційних причин.

Необхідно мати СОП безпечного і ефективного вилучення крові, її компонентів або проміжної продукції, вести облік знищень компонентів крові або заповнювати протоколи знищень. Документація має містити дату знищення, номери та назви компонентів, причину знищення, підпис відповідальної особи. Якщо знищення відбувається з інфекційних причин, то слід задокументувати знищення всіх компонентів із цієї донації. Документацію знищень слід зберігати у відділі забезпечення якості впродовж 30 років.

1.4.10.2. Контроль якості лабораторних досліджень

Працівники кожного відділу мають здійснювати щоденний або періодичний (у точно визначені строки) контроль якості реактивів, матеріалів та надійності функціонування апаратури. Поточний контроль лабораторної техніки мають здійснювати працівники, відповідальні за виконання даних аналізів.

Систематичний внутрішньолабораторний та зовнішній контроль служить для оцінки якості аналізів, що виконуються в цій лабораторії, і для випробування методів аналізування.

Спосіб здійснення цих контрольних перевірок має бути описаний у відповідних процедурних документах.

Результати поточних контрольних перевірок слід обговорити з керівником відділу забезпечення якості. Документація цих контрольних перевірок має зберігатися в архіві.

1.4.10.2.1. Внутрішньолабораторний контроль

Особою, відповідальною за здійснення внутрішньолабораторного контролю, є керівник відділу або уповноважена ним особа, а персонал повинен ознайомитися із запобіжними та коригувальними діями, до яких слід удаватися на випадок порушення прийнятих критеріїв правильності результатів.

Випробні критерії для методів визначення параметрів:
- специфіка;
- діапазон (найчастіше 90–110% орієнтовного показника);
- лінійність;
- точність методу;
- точність результату (повторюваність та відтворюваність).

1.4.10.2.1.1. Оцінка точності результату (прецизії)

Прецизія — це ступінь близькості один до одного незалежних результатів одиничного вимірювання (результатів аналізу), отриманих у конкретних, регламентованих методикою умовах. Двома крайніми випадками прецизії є повторюваність і відтворюваність.

1.4.10.2.1.2. Оцінка повторюваності (регулярності)

При проведенні послідовного дослідження однієї аналітичної серії, отримані результати будуть описувати так звану точність у серії, тобто повторюваність. Різниця між отриманими результатами має бути невеликою, зважаючи, що умови вимірювання за короткий час можуть змінитися лише незначною мірою.

Рекомендується проводити оцінку повторюваності роботи кожного з працівників щонайменше двічі на рік (як мінімум — 6-разовий аналіз того самого зразка).

1.4.10.2.1.3. Оцінка відтворюваності

Відтворюваність — це відсутність суттєвих відмінностей між результатами випробувань при дослідженнях, які виконуються в різних умовах, у різний час, у різних місцях.

Результати досліджень, отримані за декілька днів, різняться між собою більше, ніж результати, отримані за один день.

1.4.10.2.1.4. Оцінка точності вимірів

Точність вимірів характеризує відповідність отриманого показника до показників контрольних матеріалів. Характеризується як безвідносна різниця (Δ), а також відносна різниця (Δ%) між отриманим показником та показником контрольних матеріалів.

Контроль точності методу має здійснюватися на відповідним чином відібраному контрольному матеріалі. Для аналізів у сфері клінічної хімії використовують 2 або 4 контрольні матеріали. Гематологічні, коагулологічні, імунохімічні аналізи вимагають використання 3 або 6 контрольних матеріалів. Гемоглобінометри слід перевіряти щоденно, використовуючи так звану «контрольну міру», а раз на місяць — за допомогою трьох рівнів контрольної крові (низький, нормальний, високий).

Безвідносною мірою точності є різниця:

$$\Delta = x_{\text{сер.}} — x_{\text{заяв.}},$$

де Δ — точність; $x_{\text{сер.}}$ — середнє арифметичне результатів вимірювання; $x_{\text{заявл.}}$ — показник, заявлений виробником контрольного матеріалу.

Відносною мірою точності є відносна різниця між середнім арифметичним серії вимірів та реальним показником (Δ%). Відносна різниця обраховується за такою формулою:

$$\Delta\% = (x_{\text{сер.}} — x_{\text{реал.}}) \cdot 100\%/x_{\text{реал.}},$$

Відносна різниця являє собою міру точності методу вимірювання, завдяки якій можна порівнювати точність різних методів.

Точність роботи слід визнати задовільною, якщо результати, отримані на контрольному матеріалі, не виходять за межі діапазону, указаному виробником контрольного матеріалу. Якщо ці результати не збігаються із зазначеним діапазоном, слід переглянути метод роботи (реактиви, калібрування апаратури).

Результати контролю точності слід письмово задокументувати.

1.4.10.2.1.5. Лінійність

Лінійність — це можливість отримання результатів, прямо пропорційних до вмісту речовини, що міститься у пробі. Іноді ця пропорційна залежність виявляє себе безпосередньо в аналізах, і тоді можна це зобразити графічно, а інколи слід скористатися математичним перетворенням, тобто аналізом регресії та визначенням кривої регресії:

$$y = a + bx,$$

де y —визначальний показник; x — реальний показник; a та b — параметри прямої.

1.4.10.2.1.6. Діапазон

Діапазон — це інтервал між найвищим та найнижчим рівнями вмісту аналізованої речовини, при яких визначення відбуваються з належною точністю, прецизією та лінійністю.

1.4.10.2.1.7. Специфічність

Специфічность — здатність методу вступати у вибіркову реакцію тільки з аналізованою речовиною. Необхідно встановити, чи сигнал, отриманий на певному етапі вимірювання, походить насправді тільки від аналізованої речовини, а не від іншої субстанції, подібної у хімічному або фізичному плані та не є наслідком випадкового збігу обставин. Це являє собою підтвердження ідентичності аналізованої речовини. Специфічність, як і селективність (вибірковість), — це міри, що служать для оцінки достовірності виміру за наявності відхилень.

1.4.10.2.2. Міжлабораторний контроль

Метою міжлабораторного контролю є авторитетна оцінка впливу так званих сталих чинників, які впливають на достовірність отримуваних результатів.

Він передбачає:

– проведення оцінки у міжлабораторних та/або міжнародних програмах усіх аналізів, що виконуються в лабораторії;

– індивідуальний аналіз кожного результату, який перевищує допущенні межі похибки;

– ознайомлення керівника лабораторії з результатами кожного міжлабораторного контролю, підтвердження їх підписом із подальшим обговоренням цих результатів із задіяним персоналом;

– некритичне сприйняття меж допущенної похибки у міжлабораторних програмах для внутрішньолабораторного контролю.

1.4.11. Моніторинг якості

До завдань моніторингу якості належить:

– відстеження результатів випробувань усіх критичних процесів заготівлі крові та її компонентів, а також повторної їх переробки;

– збирання даних контролю якості компонентів крові та їх статистичне опрацювання з метою аналізу тенденцій.

Критерії схвалення мають бути визначені з посиланням на діапазони нормативних величин, що наведені у відповідних специфікаціях.

1.4.12. Управління контрактами

У ситуаціях, коли частина аналізів чи процесів виконується зовнішнім ЗСК (скринінг-тестування донорської крові, виготовлення компонентів, опромінення компонентів у ЗОЗ), в угоді, укладеній між закладами, слід підкреслити, що підрядник виконує всі процеси та аналізи згідно з принципами GMP з подальшим документальним підтвердженням. Замовник має право здійснював контроль за дотриманням умов угоди.

1.4.13. Побічні дії, рекламації, ускладнення після переливання, профілактичні та лікувальні дії (надання невідкладної допомоги)

1.4.13.1. Побічні дії (відхилення)

У кожному ЗСК мають бути розроблені процедури дій, які уможливлюють кваліфікацію компонентів крові, отриманих нестандартним способом, що не відповідає вимогам системи якості.

1.4.13.2. Рекламації

У відділі забезпечення якості має бути створена система ведення рекламацій. Вона полягає у збиранні всієї інформації щодо помилок апаратури, несправностей обладнання, особливо обладнання одноразового застосування, та в ініціюванні рекламаційної процедури.

1.4.13.3. Приймання повідомлень про реакції організму після переливання

Особа, яка приймає повідомлення про реакцію організму реципієнта на переливання або посттрансфузійне ускладнення, зобов'язана узгодити з лікарем, який складає це повідомлення, та головним лікарем ЗСК спосіб медичного відстеження цієї реакції. Усі дії мають узгоджуватися з нормативною базою МОЗ України щодо організації надання гемотрансфузійної допомоги в медичних закладах при застосуваннях компонетів крові.

1.4.13.4. Коригувальні та профілактичні дії

Усі помилки та екстраординарні випадки мають бути досліджені, задокументовані із зазначенням напрямку розробки коригувальних дій. До помилок слід зарахувати недоліки, які були виявлені та усунені перед переливанням компонентів крові.

Коригувальні та профілактичні дії мають гарантувати, що невідповідність або проблему якості усунено, а превентивні дії спрямовані на недопущення повторення проблеми.

Дані щодо якості мають повсякденно аналізуватися для ідентифікації проблем, які вимагають швидких запобіжних коригувальних дій.

1.4.14. Аудити, інспекції, самоперевірки

1.4.14.1. Аудит

Аудит — це систематичний, незалежний та документований аналіз даних, покликаний визначити правильність дій, що стосуються якості, та наскільки ці дії відповідають запланованим. Аудит має проводитися систематично з метою моніторингу якості процесів, що здійснюються у ЗСК.

Розрізняють 3 види аудиту:

– внутрішній, що здійснюється керівництвом ЗСК в його окремих відділах, філіях, територіальних відділеннях, лікарняних лабораторіях трансфузійної серології, а також у банках крові;
– зовнішній, що його здійснюють інспектори, не залежні від ЗСК;
– сертифікаційний — його проводить орган, який видає сертифікати (свідоцтва).

Кожен ЗСК зобов'язаний складати щорічні плани внутрішнього аудиту. Цей аудит має охоплювати всі відділи центру, філії, територіальні відділення трансфузіології, КДЛ ЗОЗ, а також лікарняні банки крові. У ЗСК має функціонувати процедура, яка детально описує принципи проведення аудиту. Колектив, що проводить внутрішній аудит, має складатися з представника відділу забезпечення якості, а також із керівників або призначених ними осіб із ключових відділів: відділу заготівлі крові, відділу виготовлення компонентів, клініко- імунологічної лабораторії. У разі, якщо контролю підлягають територіальні відділення трансфузіології, що діють на базі ЗОЗ і задіяні у заготівлі крові в аудиті можуть брати участь тільки представники відділу забезпечення якості та відділу заготівлі крові. Представник відділу заготівлі крові повинен також брати участь в аудиті тих територіальних відділень трансфузіології, які здійснюють виготовлення компонентів хоча б на базовому рівні.

План аудиту має бути затверджений головним лікарем ЗСК. Про місце, термін та сферу аудиту суб'єкти, що перевіряються, мають бути проінформовани не менш як за 10 днів.

Перед проведенням контролю аудитор може вимагати від контрольованої одиниці надання інформації про організацію роботи, систему якості, а також статистичні дані. З метою раціоналізації своєї роботи аудитор повинен мати підготовану відповідну анкету.

Аудит — це знаряддя в руках керівництва, що дозволяє:

– систематично перевіряти правильність робіт та їх узгодженість із СОП;
– локалізувати слабкі місця в організації роботи;
– вдаватися до розробки запобіжних та коригувальних дій.

1.4.14.2. Інспекція

Інспекція — це контроль без попередження, який здійснюється передусім у надзвичайній ситуації, тобто такій, коли треба оцінити або назвати причини відхилень у системі, що має суттєвий вплив на якість крові та її компонентів.

Мета інспекції — оцінити, якою мірою робота конкретного відділу чи багатьох окремих відділів ЗСК узгоджується із засадами GMP. Колектив, що проводить внутрішні інспекції, має складатися з представника відділу забезпечення якості та заступника головного лікаря, або ж особи, призначеної ним.

У донорстві можна відокремити низку так званих критичних моментів, помилки яких можуть мати суттєвий вплив на безпеку трансфузії. Згідно з рекомендаціями Ради Європи та Всесвітньої організації охорони здоров'я, положеннями нормативної бази МОЗ України у процесі заготівлі крові та її компонентів критичними моментами є такі:

- відбір донорів;
- дезінфекція місця венепункції;
- аналізи на вірусні маркери;
- аналізи на групу крові;
- кваліфікування крові та її компонентів до використання;
- зберігання крові та її компонентів (особливо КТ);
- міра застосування комп'ютерної системи.

Якщо будь-який із цих моментів не відповідає чинним СОП, слід терміново провести інспекцію відповідного відділу. Під час інспекції необхідно оцінити міру безпеки та розпочати коригувальні дії. Через певний період часу (визначений у відповідному протоколі) проводять аудит.

1.4.14.3. Самоперевірки

Самоперевірки (самоконтроль, самоінспекції) — це дії, що мають проводитися в окремих відділах Центру працівниками цього відділу за наказом керівника. Самоінспекцію проводять призначені компетентні особи із числа працівників ЗСК.

Самоінспектування необхідно регулярно проводити відповідно до заздалегідь визначеної програми для перевірки їх відповідності принципам забезпечення якості.

Проведення всіх самоінспекцій слід протоколювати та складати звіти. Звіти мають містити всі спостереження, зроблені під час інспекції і при необхідності пропозиції стосовно запобіжних і коригувальних дій.

Результати такої самоперевірки слід надати керівникові відділу забезпечення якості.

1.4.15. Валідація

Усі процеси і процедури, які не можуть бути перевірені за рахунок моніторингу або вимірювання, повинні пройти через процедуру валідації.

Валідація — процедура, що дає високий ступінь впевненості в тому, що конкретний процес, метод або система буде послідовно приводити до результатів, які відповідають заздалегідь встановленим критеріям прийнятності. До процесів валідації відносять:

- розділення крові на компоненти;
- заморожування компонентів;
- зберігання, транспортування;
- стерилізацію матеріалів і т.п.

Планування валідації містить:

- визначення мети валідації;
- визначення характеристик, що вимагаються та очікуваних характеристик;
- визначення критеріїв прийнятності;
- визначення необхідної кількості зразків, випробувань;
- відповідність обладнання і кваліфікації персоналу;
- визначення умов і методів валідації.

Для проведення валідації процесів необхідно використовувати:

а) обладнання, що відповідає таким умовам:
   - термін експлуатації не повинен перевищувати ресурс, встановлений виробником, у випадку перевищення ресурсу має бути проведена консультаційна комісія з виробником;

– наявність даних про державну реєстрацію;
– відповідність до вимог НД;
– проведення регулярного технічного обслуговування;
– забезпечення витратними матеріалами;
– безпечна експлуатація.

б) Реагенти, які використовуються для дослідження зразків крові донора і контролю якості донорської крові та її компонентів:
– зареєстровані в установленому порядку;
– отримані від затвердженого постачальника;
– з характеристиками (зовнішній вигляд, специфічність, чутливість, титр і т.п), які відповідають встановленим вимогам, та за наявності супровідної документації;

в) тест-системи, які використовуються для скринінгу донорської крові, що забезпечують виявлення всіх інфікованих осіб з вірогідністю, зазначають в паспорті;

г) імуногематологічні реактиви, які забезпечують можливість достовірного визначення групової та резус-належності, алоанти еритроцитарних антитіл з вірогідністю, вказаній в паспорті;

д) контейнери для забору крові:
– зареєстровані у встановленому порядку;
– отримані від затвердженого постачальника;
– з характеристиками які відповідають встановленим вимогам.

е) програмне забезпечення:
– забезпечення відповідною комп'ютерною технікою;
– не суперечить іншим програмам;
– захищені і мають різні види доступу користувачів.

Виконання валідації:

– валідація повинна виконуватись відповідно до плану;
– зібрані дані необхідно аналізувати і за результатами приймати рішення, яке має бути задокументоване.

Документація з валідації: в ЗСК має бути розроблена СОП на проведення валідації.

Записи з валідації:
– плани валідації;
– протоколи валідації;
– акти та звіти.

Розділ 2
ПРИНЦИПИ ВІДБОРУ ДОНОРІВ

ЗМІСТ

2.1. Управління донорськими кадрами. Вимоги до кандидатів у донори та донорів ... 58
2.2. Відомості, що мають бути надані кандидатам у донори та донорам ... 58
2.3. Принципи відбору кандидатів у донори та донорів ... 59
2.3.1. Медичне обстеження ... 60
2.3.1.1. Вік ... 60
2.3.1.2. Професійні особливості та заняття ... 61
2.3.1.3. Постійні і тимчасові протипоказання до здавання крові та її компонентів ... 61
2.3.1.3.1. Критерії постійного відведення для донорів алогенної крові ... 61
2.3.1.3.2. Критерії тимчасового відведення для донорів алогенної крові ... 62
2.3.1.3.2.1. Інфекційні захворювання ... 62
2.3.1.3.2.2. Небезпека зараження хворобами, що переносяться через кров ... 62
2.3.1.3.2.3. Щеплення ... 63
2.3.1.3.2.4. Інші причини тимчасового відведення ... 63
2.3.1.3.2.5. Відведення з огляду на особливу епідеміологічну ситуацію ... 63
2.3.1.3.3. Спеціальні рекомендації щодо донорів аферезу ... 63
2.3.2. Об'єктивне обстеження ... 64
2.3.3. Лабораторні аналізи ... 64
2.3.3.1. Частота лабораторних аналізів ... 64
2.3.3.2. Норми лабораторних аналізів ... 65
2.3.3.2.1. Концентрація гемоглобіну у крові донора ... 65
2.3.3.2.2. Показник гематокриту ... 65
2.3.3.2.3. Кількість тромбоцитів у крові донора ... 65
2.3.3.2.4. Кількість та процентна формула лейкоцитів у крові донора ... 65
2.3.3.2.5. Концентрація загального білка у сироватці крові донора, фракційний склад білків ... 66
2.3.3.2.6. Рівень аланін-амінотрансферази ... 66
2.3.4. Різновиди, об'єм та частота донацій ... 66
2.3.4.1. Частота, різновиди та об'єм донацій ... 66
2.3.4.2. Донорська кров ... 66
2.3.4.3. Плазма ... 66
2.3.4.4. Аферез ... 66
2.3.4.5. Інші маніпуляції ... 67
2.3.5. Направлення хворих на лікувальні процедури ... 67
2.4. Анкета для донорів крові (приклад) ... 67

Управління донорськими кадрами необхідне для розробки та проведення ефективної програми мотивації та агітаційної роботи серед населення для залучення їх в донорство, планування, координації, обліку донорських кадрів, контролю за правильністю їх медичного огляду та клінічного обстеження; застосовується у відділенні комплектування донорських кадрів (ВКДК). Відповідальність за управління донорськими кадрами покладено на завідувача відділу. Дії ВКДК мають відповідати існуючим вимогам щодо порядку реагування на випадок:

– невідповідності здоров'я донора існуючим критеріям;

– отримання позитивних результатів стосовно будь-якого маркера інфекцій з попереднім негативним результатом;

– розвитку у донора інфекційного захворювання, обумовленого збудником, що потенційно може передаватися через кров;

– розвитку у реципієнта інфекційного захворювання, яке може бути пов'язане з використанням ГС.

Уся донорська інформація є конфіденційною і зберігається у відповідних умовах без доступу сторонніх осіб. З метою збереження анонімності донорів та кандидатів у донори ЗСК мають:

– запровадити процедури захисту даних, картотек як донорів, так і донорів, які знаходяться в базі браку, захисту цих документів від необґрунтованих доповнень, виправлень, знищень, а також від переказу даних неуповноваженими особами;

– запровадити процедури з'ясування невідповідностей у сфері даних;

– захищати дані від доступу сторонніх осіб, одночасно забезпечуючи можливість відстеження використання крові та її компонентів.

У цьому розділі вміщено принципи, які визначають:

– вимоги до стану здоров'я, яким має відповідати кандидат у донори і донор;

– перелік медичних та лабораторних аналізів, які необхідно провести кандидатам у донори і донорам;

– протипоказання до взяття крові або її компонентів;

– допустиму частоту та об'єм крові або її компонентів, що вилучається під час процедури.

2.1. Управління донорськими кадрами. Вимоги до кандидатів у донори та донорів

Кандидат у донори або донор повинен:

– мати належний стан здоров'я, який відповідає існуючим критеріям та дозволяє на підставі медичного огляду та лабораторних аналізів установити, що регулярне взяття крові не призведе до негативних наслідків для нього і стану здоров'я майбутнього реципієнта;

– надати документ із фотокарткою, який би посвідчував його особу (паспорт та ідентифікаційний номер);

– повідомити адресу прописки, та адресу проживання.

2.2. Відомості, що мають бути надані кандидатам у донори та донорам

Кандидат у донори крові або донор має одержати доступні відомості:

– про роль крові в організмі, перебіг процесу взяття крові, різновиди компонентів, що їх отримують із цільної крові, або таких, що відокремлюються методом аферезу, їх цінність для хворого (відповідні інформаційні матеріали);

– різновиди маніпуляцій, пов'язаних із донацією крові (цільна кров, плазма, процедура аферезу або інші маніпуляції), способи їх проведення, а також передбачувані наслідки для стану здоров'я;

– можливість відмови від здачі крові перед та/або під час донації, а також про можливість повідомлення після здачі крові про те, що вона непридатна для переливання;

– ситуації про небажану участь у донорстві з огляду на стан здоров'я донора;

– необхідність проходження медичного обстеження, медичних та лабораторних досліджень, а також необхідність письмової згоди на донорство;

– можливість тимчасового або постійного відведення чи самоусунення в ситуації, коли переливання взятої крові може створити загрозу для реципієнта;

– право на з'ясування всіх питань, що викликає можливі сумніви;

– принципи захисту персональних даних донора, що стосуються його ідентичності, стану здоров'я та результатів лабораторних аналізів;

– необхідність інформування ЗСК у разі зміни адреси;

– причини, з яких ЗСК має бути поінформований донором про кожну подію, що сталася після здачі крові й може ставити під сумнів придатність крові для переливання;

– обов'язок ЗСК проінформувати донора про результати аналізів, що можуть мати значення для його здоров'я, а також про потенційну необхідність термінового отримання результатів аналізів на випадок одержання відповідного повідомлення;

– дискваліфікацію донора та знищення зданої ним крові у разі виявлення зараження ВІЛ, гепатитів В, С, сифілісу та іншими хворобами, що переносяться гемотрансфузійним шляхом;

– можливість розміщення в реєстрі донорів ЗСК даних, які не відповідають вимогам стану здоров'я, необхідним для здачі крові та подальшої участі в донорстві;

Нижче подано приклад призначеної для донорів інформаційної листівки про інфекційні захворювання.

Щоб полегшити донорові ознайомлення з цією інформацією, найкраще розмістити листівку поряд із анкетою для донорів, запропонованою у п. 2.4.

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ДОНОРІВ ПРО ІНФЕКЦІЙНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

Про що ти маєш знати, перш ніж здавати кров

Твою кров візьмуть на аналізи, щоб пересвідчитися, що ти не заражений сифілісом, СНІДом, інфекційним гепатитом В або С. Якщо один із тестів виявиться позитивним — кров не будуть нікому переливати. Однак при кожній інфекції між моментом зараження та моментом, коли це зараження вже можна виявити шляхом лабораторних аналізів, минає певний час. У цей період у жодному разі не можна здавати кров: вона вже може бути джерелом зараження, хоча лабораторні тести ще є негативними. Отже, не здавай крові, якщо ти мав сумнівні контакти або вдавався до дій, що створюють ризик.

Ризик створюють:

1) вживання наркотиків у вигляді ін'єкцій, що мало місце раніше або має місце нині;
2) сексуальні контакти з особами, які вживають наркотики у вигляді ін'єкцій;
3) сексуальні контакти з багатьма партнерами/партнерками;
4) сексуальні контакти з партнером/партнеркою, якого/яку знаєш недавно;
5) сексуальні контакти з метою заробітку;
6) сексуальні контакти з особами, чиї аналізи на СНІД, сифіліс або інфекційний гепатит В або С виявилися позитивними.

Ми усвідомлюємо, що, ставлячи ці запитання, втручаємося у твою приватну сферу. Однак ризик перенесення інфекційних захворювань через кров можна зменшити, лише якщо донор ретельно обміркує ситуацію і дає правдиві відповіді на поставлені тут запитання. Твої дані залишаться конфіденційними. У разі позитивних результатів аналізів (тих, що свідчать про зараження) тебе про це поінформує лікар.

Дякуємо за співпрацю.

2.3. Принципи відбору кандидатів у донори та донорів

Кожна особа, яка звертається до ЗСК, має бути зареєстрована, а мета її візиту записана.

Відбір донорів відбувається за критеріями, затвердженими чинними нормативними документами (наказ МОЗ України від 01.08.2005 р. №385). Дані медичного обстеження та лабораторного обстеження донорів реєструються у відповідних формах облікової документації (наказ МОЗ України від 07.07.2003 р. №301) за підписом виконавця та заносяться до комп'ютерної бази донорських даних.

Реєстрації підлягають:

– ідентифікаційні дані (ПІБ, дата народження, адреса проживання);
– інформація про тимчасові та постійні протипоказання (за медичними показаннями, на основі належності до групи ризику);
– медична інформація (результати освідування та аналізів);
– історія кроводач (кількість, дати, реакція під час кроводач, інтервал між кроводачами).

У момент реєстрації донора або кандидата у донори йому надається унікальний номер донації, який дозволяє однозначно ідентифікувати як його особу, так і місце здачі крові. Особи, які приходять до ЗСК із метою здачі крові, отримують для заповнення анкету донора. Під час реєстрації слід перевірити відсутність донора/кандидата у донори у списку осіб, яким заборонено виконувати донорські функції (відбракованих осіб).

Кандидат у донори крові або донор крові має пройти відбір, який здійснює лікар на підставі заповненої донором або кандидатом у донори анкети, медичного обстеження та результатів лабораторних аналізів.

Дані медичного обстеження, результат об'єктивного обстеження та результати лабораторних досліджень необхідно внести до документації донора/кандидата в донори.

Відомості в документації донора мають бути записані таким чином, щоб можна було ідентифікувати й відповідальних осіб, які внесли ці відомості.

У разі позитивних результатів лабораторних аналізів, лікар або уповноважені особи профільних ЗОЗ мають повідомити про них особу, яка ці аналізи здавала. Факт повідомлення слід занотувати в медичній документації донора/кандидата в донори.

Донор/кандидат у донори перед кожною донацією крові чи плазмоздачі (взяття плазми методом мануального плазмаферезу або методом автоматичного плазмаферезу, взяття клітин крові методом автоматичного аферезу та ін.) у присутності лікаря підписує анкету, цим виявляючи письмову згоду на процедуру. Цей підпис підтверджує, що донор:

– ознайомився з наданими інформаційними матеріалами і зрозумів їх зміст;
– мав змогу з'ясувати все, що викликало в нього сумніви;
– дістав задовільні відповіді на всі свої питання;
– свідомо дає згоду на здачу крові;
– підтверджує, що всі надані ним відомості є правдивими, принаймні в міру його обізнаності.

Донор повинен також зобов'язатися про термінове отримання результатів аналізів, якщо в них виявляться зміни, що можуть мати значення для його здоров'я. Таке зобов'язання можна додати до анкети донора, приклад якого наведено в п. 2.4.

Умовою відбору особи для здачі крові, плазми, процедур аферезу чи інших маніпуляцій є належний стан здоров'я.

Лікар ухвалює рішення про взяття крові або її компонентів після того, як упевниться, що така процедура є безпечною для донора, а переливання отриманої крові або її компонентів є безпечним для реципієнта.

Медичне обстеження дозволяє виявити низку ситуацій, при яких здавати кров протипоказано. Протипоказання можуть бути абсолютні (вони дискваліфікують особу назавжди) або відносні (дискваліфікують особу тимчасово).

Рішення про постійну або тимчасову дискваліфікацію має бути занотоване в документації донора/кандидата в донори.

У випадку, якщо медичне обстеження виявить суттєві відхилення від норми, пацієнта слід направити до лікаря або сімейного лікаря ЗОЗ за місцем проживання з метою подальшої діагностики та можливого лікування. До направлення слід долучити результати аналізів.

Обстеження донора/кандидата в донори перед здачею крові включає:

– медичне обстеження;
– об'єктивне обстеження.

2.3.1. Медичне обстеження

У медичній анкеті слід урахувати наведені нижче фактори.

2.3.1.1. Вік

Вік	18–60 років

2.3.1.2. Професійні особливості та заняття

Особи, що мають такі професії, як пілот, машиніст, водій автобуса, оператор крана, а також особи, які працюють на висоті, займаються альпінізмом, дайвінгом, можуть повернутися до своїх занять не раніш ніж через 12 год. після здачі крові.

2.3.1.3. Постійні і тимчасові протипоказання до здавання крові та її компонентів

2.3.1.3.1. Критерії постійного відведення для донорів алогенної крові

Хвороби кровоносної системи	Потенційні донори з активною або перенесеною серйозною хворобою кровоносної системи, окрім вроджених вад, що цілком вилікувані
Хвороби нервової системи	Перенесення серйозної хвороби ЦНС
Схильність до патологічних кровотеч	Потенційні донори із порушеннями згортання крові
Поворотні стани непритомності або напади судом	Усі випадки судом
Хвороби системи травлення	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Хвороби дихальної системи	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Хвороби сечостатевої системи та нирок	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Хвороби імунної системи	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Хвороби метаболізму та ендокринної системи	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Хвороби крові та кровотворної системи	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Хвороби шкіри	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Системні захворювання, наприклад, колагенози	Потенційні донори з хворобою в активній, хронічній або рецидивуючій фазах
Цукровий діабет	
Ракові захворювання	Злоякісні новоутворення
Інфекційні захворювання	Вірусний гепатит типу В,
	Вірусний гепатит типу С
	Вірусний гепатит в анамнезі, жовтуха неясної етіології
	ВІЛ-1/2
	Туберкульоз
	Токсоплазмоз
	Лейшманіоз
	Трипаносомоз
	Актиномікоз
	Туляремія
Губчаста енцефалопатія (TSE) (наприклад, хвороба Крейтцфельдта–Якоба)	Особи, чий родинний анамнез вказує на загрозу TSE
Сифіліс	
Сексуальна поведінка	Особи, які внаслідок своєї сексуальної поведінки належать до груп підвищеного ризику зараження серйозними хворобами, що можуть поширюватися шляхом переливання крові
Психічні порушення та порушення поведінки, спричинені вживанням психоактивних засобів (речовин)	

2.3.1.3.2. Критерії тимчасового відведення для донорів алогенної крові

2.3.1.3.2.1. Інфекційні захворювання

Після перенесення інфекційного захворювання потенційні донори мають бути дискваліфіковані щонайменше на 4 тижні з моменту повного одужання. Однак у випадку хвороб, наведених нижче у таблиці, слід вдаватися до триваліших періодів дискваліфікації.

Температура понад 38 °С		1 місяць від зникнення симптомів
Грип, грипоподібна інфекція		1 місяць від зникнення симптомів
Малярія	**Особи, які у будь-який життєвий період безперервно мінімум 6 місяців проживали на територіях ендемічного вияву малярії**	3 роки після останнього повернення з територій ендемічного вияву малярії; умовою є негативні результати аналізів на малярію, проведених імунологічними методами або методами молекулярної біології
	Особи, які перенесли малярію	3 роки за умови одержання негативних результатів аналізів на малярію, проведених імунологічними методами
	Особи, які повертаються з територій ендемічного вияву малярії без ознак хвороби	3 роки з моменту від'їзду з територій ендемічного вияву малярії
	Особи, у яких під час перебування на територіях ендемічного вияву малярії або в період 6 місяців після повернення виявлялася температура (лихоманка) неясного походження	3 роки з моменту зникнення симптомів/завершення лікування. За умови одержання негативних результатів аналізів на малярію, проведених імунологічними методами
Гонорея		У період хвороби та 12 місяців після завершення лікування
Інфекційний мононуклеоз		12 місяців з часу одужання

Оскільки дані щодо країни народження, проживання чи тимчасового перебування донора мають суттєве значення для профілактики деяких хвороб, що переносяться через кров, рекомендується, щоб ЗСК мали в розпорядженні чинні географічні мапи та алфавітні списки країн, ендемічних за деякими інфекційнними хворобами (наприклад, малярія, тропічні хвороби). Дані щодо цього можна дістати, наприклад, на Інтернет-сторінках Всесвітньої організації охорони здоров'я.

2.3.1.3.2.2. Небезпека зараження хворобами, що переносяться через кров

Ендоскопічний аналіз із використанням фіброендоскопа **Контакт слизової оболонки з кров'ю або укол голкою** **Переливання компонентів крові** **Пересадка клітин або тканин людини** **Серйозна хірургічна операція** **Татуаж або прокол частини тіла (пірсинг)** **Акупунктура, виконана некваліфікованим лікарем або нестерильними одноразовими голками**	Відведення на період 12 місяців
Особи, що наражаються на ризик через близькі домашні контакти з хворими на вірусний гепатит	Гепатит А — 3 місяці; Гепатит В, С — 1 рік
Особи, які, з огляду на свої дії або діяльність, особливо наражаються на ризик зараження хворобами, що переносяться шляхом переливання	Після припинення ризикованих дій — дискваліфікація на період, що залежить від роду хвороби та від доступності відповідних тестів (аналізів)
Примусове позбавлення волі (перебування у карному закладі, слідчому ізоляторі чи в іншому місці, де перебувають особи, позбавлені волі)	Період примусового позбавлення волі та ще 6 місяців після його закінчення або 4 місяці, якщо проведені методами молекулярної біології аналізи на вірусний гепатит типу В і С, а також ВІЛ дають негативні результати
Перебування в країнах, у яких спостерігається велика частота виявлення носіїв антитіл анти-ВІЛ, а також хворих на СНІД	12 місяців з дня повернення

Контакт із хворим на іншу інфекційну хворобу (окрім гепатиту)	Відведення на час, який відповідає інкубаційному періоду, а якщо він невідомий — на 4 тижні
Повернення з території, на якій ендемічно виявляють себе тропічні хвороби	12 місяців з дня повернення, якщо за цей період не зафіксовано необґрунтованого підвищення температури чи інших хворобливих симптомів

2.3.1.3.2.3. Щеплення

Живими вакцинами: БЦЖ, краснуха, жовта лихоманка, запалення привушних слинних залоз (свинка), дитячий спинномозковий параліч (поліомієліт), щеплення з живими збудниками черевного тифу та щеплення з живими збудниками холери	1 місяць
Інактивовані/вбиті віруси, бактерії чи рикетсії: холера, черевний тиф, коклюш, висипний тиф, дитячий спинномозковий параліч (поліомієліт) (парентеральне щеплення), грип	10 днів
Анатоксини (дифтерія, правець)	10 днів
Гепатит типу В	10 днів
Сказ	1 місяць У разі ризику зараження — дискваліфікація на 1 рік
Кліщовий енцефаліт	1 місяць
Пасивна імунізація за допомогою сироваток тваринного походження	Відведення на 3 місяці

2.3.1.3.2.4. Інші причини тимчасового відведення

Вагітність	12 місяців після пологів або завершення вагітності
Менструація	Під час менструації та 5 днів після її закінчення
Невелике хірургічне втручання	10 днів
Стоматологічне лікування	Стоматологічне лікування або візит до стоматолога-гігієніста — відстрочка на 1 день. Увага: видалення зуба, лікування каналів тощо вважається невеликим хірургічним втручанням
Вживання ліків	Залежно від різновиду ліків, способу їх дії та захворювання, що лікується
Гострі захворювання дихальної системи	До завершення лікування
Гострі захворювання системи травлення	До завершення лікування
Гломерулонефрит	5 років після абсолютного одужання
Інші гострі хвороби сечовидільної системи	До завершення лікування
Хвороби шкіри (запалення, алергії)	До завершення лікування
Гострі алергійні стани	До моменту зникнення симптомів
Загострення хронічної алергійної хвороби	До моменту зникнення симптомів
Період десенсибілізації в алергії	Весь період

2.3.1.3.2.5. Відведення з огляду на особливу епідеміологічну ситуацію

Особлива епідеміологічна ситуація (наприклад, спалах епідемії якоїсь хвороби)	Час залежить від епідеміологічної ситуації

2.3.1.3.3. Спеціальні рекомендації щодо донорів аферезу

Донори, які здають компоненти крові методом аферезу, мають відповідати тим самим критеріям, що й донори крові. В особливих ситуаціях рішення про придатність донора ухвалює відповідальний лікар.

Під час обстеження особливу увагу слід звернути:

– на схильність до надмірних кровотеч;
– симптоми, що можуть вказувати на порушення водно-електролітного обміну;
– вживання ліків, що містять ацетилсаліцилову кислоту (наприклад, аспірин), впродовж 5 днів перед процедурою тромбаферезу;

– симптоми виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки;
– ускладнення, що мали місце під час попередніх донацій.

2.3.2. Об'єктивне обстеження

Об'єктивне обстеження має включати:

1) оцінку загального виду, який може свідчити про залежність особи від алкоголю, наркотиків, ліків або про надмірне психічне збудження;
2) з'ясування, чи є надмірна диспропорція між вагою тіла та зростом;
3) з'ясування, чи наявні відхилення від:
   – нормальних показників кров'яного тиску;
   – нормальних показників пульсу, в тому числі і його рівномірності;
   – нормальної температури тіла;
4) визначення стану лімфовузлів та шкіри, зокрема навколо місця уколу у вену.

Критерії об'єктивного обстеження

Вага тіла	≥ 50 кг для донорів цільної крові або її компонентів, що добуваються методом аферезу ≥ 70 кг для донорів, 2 одиниць концентрату еритроцитів (КЕ) методом еритроаферезу (подвійний еритроаферез)
Пульс	Пульс треба вимірювати щонайменше впродовж 15 секунд. Пульс має бути ритмічним, частотою від 60 до 90 ударів на хвилину. Нижчі показники пульсу можливі у натренованих людей із високою фізичною витривалістю
Кров'яний тиск	Показники кров'яного тиску не повинні перевищувати: – 170 мм рт. ст. для систолічного тиску; – 100 мм рт. ст. для діастолічного тиску
Температура тіла	Температура тіла, вимірювана під пахвою, не повинна перевищувати 37 °С
Лімфатичні вузли	Особливу увагу слід звернути на стан периферичних лімфатичних вузлів, передусім шийних (спереду і ззаду), надключичних та пахових. Збільшення периферичних лімфатичних вузлів являє собою протипоказання до здачі крові
Стан шкіри	Місце навколо венепункції без патологічних змін

Надмірна диспропорція між вагою тіла та зростом або втрата ваги тіла з невизначених причин являють собою протипоказання до здачі крові.

2.3.3. Лабораторні аналізи

Клінічне обстеження донорів крові, клітин крові та плазми має здійснюватися відповідно до вимог наказу МОЗ України від 01.08.2005 р. №385 і затверджених СОП. Якість лабораторних досліджень донорів (визначення групової належності за системою АВ0, проведення скринігу швидкими тестами, вміст гемоглобіну, гематокрит, кількість еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів і лейкоцитарна формула, загальний білок у сироватці крові) здійснюється з використанням метрологічно повірених ЗВТ із зазначенням назви апаратури, моделі, фірми-виробника, дати отримання і введення в експлуатацію, наявності інструкції виробника та інструкції з експлуатації обладнання, даних про технічне обслуговування і наявності дозволу про подальшу експлуатацію, документальне підтвердження дати та результатів метрологічної повірки, зареєстрованих в Україні реактивів, тест-реагентів і витратних матеріалів. Останні повинні використовуватись тільки після отримання письмового дозволу Уповноваженої особи з якості. Персонал лабораторії повинен систематично і регулярно проходити підготовку профільних питань. У посадових інструкціях (розділ функціональні обов'язки) має бути відображене питання забезпечення якості і проведення контролю якості. Якість щоденних досліджень моніторується проведенням внутрішньолабораторного контролю і участю в програмі зовнішньої оцінки якості.

2.3.3.1. Частота лабораторних аналізів

1. Перед кожним узяттям крові слід визначити концентрацію гемоглобіну.
2. Перед процедурою тромбаферезу або лейкаферезу необхідно визначити:
   – концентрацію гемоглобіну;

– кількість еритроцитів;
– кількість лейкоцитів;
– кількість тромбоцитів.

3. Зразки крові кожної особи, направленої на донацію крові, плазми, еритроцитовмісних компонентів, для тромбаферезу, лейкаферезу або інших процедур, мають бути обстежені:
– на маркери гепатиту В;
– маркери гепатиту С;
– маркери ВІЛ-1, ВІЛ-2;
– маркери сифілісу;
– рівень АлАТ.

4. Зразки для вірусологічних аналізів від донорів слід брати перед донацією крові або під час взяття її компонента.

5. Донорам, які регулярно здають цільну кров або клітинні компоненти крові, треба проводити:
– загальний клінічний аналіз крові;
– визначення кількості тромбоцитів;
– визначення кількості лейкоцитів;
– процентний склад лейкоцитів.

6. Донорам, які регулярно здають плазму, слід додатково визначати концентрацію загального білка і процентний склад білків або ж альбуміново-глобуліновий показник.

2.3.3.2. Норми лабораторних аналізів

Норми лабораторних аналізів, які дозволяють кваліфікувати особу для взяття цільної крові, для аферезу та інших процедур, а також норми аналізів для активних донорів становлять:

2.3.3.2.1. Концентрація гемоглобіну у крові донора

Гемоглобін	Жінки ≥ 120 г/л	Чоловіки ≥ 130 г/л	Стосується донорів цільної алогенної крові або її компонентів
	≥ 140 г/л		Стосується донорів 2 одиниць КЕ, заготовлених методом еритроаферезу

2.3.3.2.2. Показник гематокриту

Гематокрит	Жінки ≥ 0,38	Чоловіки ≥ 0,40	Стосується донорів цільної алогенної крові або її компонентів
	≥ 0,42		Стосується донорів 2 одиниць КЕ методом еритроаферезу

2.3.3.2.3. Кількість тромбоцитів у крові донора

Кількість тромбоцитів	$\geq 150 \times 10^9$/л	Ця кількість вимагається для донорів, які проходять тромбаферез

2.3.3.2.4. Кількість та процентна формула лейкоцитів у крові донора

Кількість лейкоцитів	$4–9 \times 10^9$/л
Лейкоцитарна формула	Палочкоядерні нейтрофіли: 1–6% Сегментоядерні нейтрофіли: 47–72% Базофіли: 0–1% Еозинофіли: 0,5–5% Лімфоцити: 25–38% Моноцити: 3–10%

2.3.3.2.5. Концентрація загального білка у сироватці крові донора, фракційний склад білків

Загальний білок	60–85 г/л
Фракційний склад білків	Альбумін: 56–66,5% Глобуліни: 33,5–44,0% α_1: 3,5–6,0% α_2: 6,9–10,5% β: 7,6–12,5% γ: 12,0–19,0%
Альбуміново-глобуліновий показник	Норми залежать від застосованого методу аналізу

2.3.3.2.6. Рівень аланін-амінотрансферази

Рівень аланін-амінотрансферази в межах 0,1–0,68 мкмоль/год. л при дослідженні методом Райтмана–Френкеля.

2.3.4. Різновиди, об'єм та частота донацій

2.3.4.1. Частота, різновиди та об'єм донацій

Частоту, різновид та об'єм крові або її компонентів, що мають бути взяті, встановлює лікар залежно від загального стану здоров'я донора.

2.3.4.2. Донорська кров

Донорську кров можна заготовляти не частіше 5 разів на рік у чоловіків і не частіше 4 разів на рік у жінок, при цьому перерва між донаціями не повинна бути коротшою 60 днів.

За один раз у людини з вагою 50 кг або більше можна взяти 450±45 мл крові (1 доза).

Після процедури аферезу донором донорської крові можна бути через 14 днів після цієї маніпуляції.

2.3.4.3. Плазма

Об'єм плазми (без антикоагулянту), що береться за один раз, не повинен перевищити 16% від прийнятого абсолютного об'єму крові, обрахованого на підставі статі, зросту і маси тіла донора. Це приблизно відповідає 10 мл узятого об'єму на 1 кг маси тіла.

У одного донора впродовж року можна взяти не більше 12 літрів плазми.

Одноразово методом плазмаферезу можна взяти 600 мл плазми, в разі її скерованості на виробництво препаратів крові — до 800 мл.

Перерва між донаціями плазми методом апаратного плазмаферезу не повинна бути коротшою 2 тижнів.

Після донації донорської крові брати плазму методом плазмаферезу можна мінімум через 30 днів.

2.3.4.4. Аферез

Процедури тромбаферезу та лейкаферезу можуть здійснюватися не частіше 12 разів на рік.

Перерви між цими процедурами повинні бути некоротшими 14 днів.

У випадку проведення методом аферезу з одночасною заготівлею плазми і тромбоцитів або еритроцитів, сумарний об'єм взятих компонентів крові не повинен перевищувати 13% абсолютного об'єму крові донора і водночас не перевищувати 650 мл.

Перерва між двома черговими донаціями концентрату еритроцитів (КЕ) методом еритроаферезу має бути ідентичною, що й для донацій цільної крові.

Перерва між донацією донорської крові та донацією 2 доз КЕ методом еритроаферезу повинна бути не менше 3 місяців.

Перерва між донацією доз КЕ методом еритроаферезу та донацією донорської крові або наступною процедурою подвійного еритроаферезу повинна бути не менше 6 місяців. Абсолютна втрата еритроцитів упродовж року не повинна перевищувати показника, дозволеного для донорів донорської крові.

Перерва між донацією донорської крові або здачею 1 дози КЕ методом еритроаферезу та наступною донацією методом аферезу, яка вже не включатиме здачі КЕ, не може бути коротшою 1 місяця.

2.3.4.5. Інші маніпуляції

Частота виконання інших процедур має встановлюватися лікарем.

2.3.5. Направлення хворих на лікувальні процедури

Рішення про направлення хворого на ту чи іншу лікувальну маніпуляцію (кровопускання, лікувальний аферез) ухвалює лікар, який веде цього хворого, однак остаточне рішення про маніпуляцію ухвалює лікар, який безпосередньо керує проведенням цієї маніпуляції. Пацієнти, направлені на лікувальну маніпуляцію, не повинні відповідати критеріям, обов'язковим для донорів.

Лікарі мають надати хворому інформацію про те, як має проходити запланована маніпуляція, яка від неї очікується користь, які можливі ризики з нею пов'язані, а також про альтернативні методи лікування.

2.4. Анкета для донорів крові (зразок)

Таблиця

Анкета для донорів крові Ім'я та прізвище_____ Номер донації_____ Дата народження_____ Ідентифікаційний код_____		
	Правильну відповідь позначити	
	Так	Ні
1. Ви раніше здавали кров? Якщо так, то в якому році це було востаннє?	□	□
2. На сьогодні Ви почуваєтеся здоровою людиною?	□	□
3. Впродовж останніх 7 днів Ви проходили якісь стоматологічні процедури?	□	□
4. Чи впродовж останніх 4 тижнів Ви хворіли? Чи були під наглядом лікаря? Чи мали температуру понад 38 °С?	□	□
5. а) Впродовж останніх 4 тижнів Ви вживали ліки (у вигляді таблеток, ін'єкцій, свічок тощо)? Якщо вживали, то які саме?_____	□	□
б) Впродовж останніх 3 днів Ви вживали аспірин або інші ліки, до складу яких входить аспірин?	□	□
6. Впродовж останніх 4 тижнів Вам робили щеплення? Якщо так, то які? _____ Коли?_____	□	□
7. Чи помічали Ви в себе такі симптоми: а) □ непоясненне зменшення ваги тіла; б) □ непоясненне підвищення температури; в) □ збільшення лімфатичних вузлів?	□	□
8. Чи хворієте/хворіли Ви на одне з нижчезгаданих захворювань, чи відчуваєте/відчували нижчевказані симптоми?	□	□
а) хвороби кровоносної системи (гіпертонія), болі в серці, інфаркт, задишка, інсульт Якщо так, то коли?_____	□	□
б) хвороби шкіри, висипки, діатези, поліноз, астма Якщо так, то коли?_____		
□ хвороби крові; □ важкозупинна кровотеча; □ хвороби кровоносних судин; □ хвороби нирок; □ хвороби шлунково-кишкового тракту;		

Продовження таблиці

□ хвороби легень; □ нервові хвороби; □ хвороби щитоподібної залози; □ епілепсія; □ неоплазія (новоутворення); Якщо так, то коли?_____ г) □ сифіліс; □ гонорея; □ токсоплазмоз; □ бруцельоз; □ туберкульоз; □ інфекційний мононуклеоз Якщо так, то коли?_____ ґ) □ лихоманка; Якщо так, то коли?_____		
9. Чи впродовж останніх 12 місяців Вам робили гастроскопію, біопсію чи інші діагностичні аналізи?	□	□
10. Чи впродовж останніх 12 місяців або з моменту останньої донації крові Ви переживали тяжку хворобу, серйозне оперативне втручання або нещасний випадок? Якщо так, то що саме це було і коли_____	□	□
11. Чи Вам коли-небудь переливали кров або її компоненти? Якщо так, то які, коли і де?_____	□	□
12. Ви були коли-небудь реципієнтом пересадки тканин (наприклад, рогівки або інших тканин)? Якщо так, то яких_____	□	□
13. Ви коли-небудь приймали гормон росту?	□	□
14. Чи хтось із Вашої родини хворіє або хворів на недугу Крейтцфельдта–Якоба?_____	□	□
15. Чи були Ви впродовж останніх 6 місяців у країнах Середньої та Західної Африки або у Таїланді?	□	□
16. Чи проживали Ви (або перебували тимчасово) на територіях ендемічного вияву малярії або інших тропічних хвороб? Якщо так, то коли?_____	□	□
17. Чи хворіли Ви коли-небудь на малярію, інші тропічні хвороби? Якщо так, то коли_____	□	□
18. Чи робили Ви впродовж останніх 12 місяців: □ татуаж; □ акупунктурні процедури; □ косметичну депіляцію; □ прокол вух або інших частин тіла? Якщо так, то коли і що саме?_____	□	□
19. Чи впродовж останніх 6 місяців або з моменту останньої донації крові Ви мали випадковий контакт із кров'ю людини або інструментами, забрудненими людською кров'ю?	□	□
20. Чи хворіли Ви коли-небудь на жовтуху? Якщо так, то коли?_____	□	□
21. Ваш супутник життя або сексуальний партнер упродовж останніх 6 місяців хворів на жовтуху?	□	□
22. Чи впродовж останніх 12 місяців Ви контактували із заразним хворим?	□	□

Закінчення таблиці

а) Ви прочитали і зрозуміли листівку «Інформація для донорів про інфекційні захворювання»?	□	□
б) Ви наражалися на ризик інфікування (див. «Інформація для донорів...»)?	□	□
23. Впродовж останніх 6 місяців Ви перебували у слідчому ізоляторі або в тюрмі?	□	□
24. Вам коли-небудь рекомендували відмовитися від здавання крові?	□	□
25. Ви виконуєте небезпечну роботу (наприклад, водій автобуса, пілот) чи маєте небезпечне хобі?	□	□
Тільки для жінок		
26. Чи на сьогодні Ви вагітні і чи були вагітні впродовж останніх 12 місяців або з моменту останньої донації крові?	□	□
27. Чи є у Вас місячні? Якщо так, то коли вони були попереднього разу?	□	□

Виявляю згоду на процедури:

– *взяття цільної крові;*
– *взяття плазми методом мануального плазмаферезу;*
– *взяття плазми методом автоматичного плазмаферезу;*
– *взяття тромбоцитів методом автоматичного тромбаферезу;*
– *взяття лейкоцитів методом автоматичного лейкаферезу.*

Водночас я підтверджую, що мене поінформовано про різновид процедури, її частоту, а також про те, що я будь-якої миті можу відкликати свою згоду на взяття крові. Мене поінформовано про спосіб проведення процедури взяття крові та про ті наслідки для мого здоров'я, які можливо передбачити. Згідно з моїм сумлінням та наявними на сьогодні знаннями підтверджую, що вищенаведені відомості про перенесені мною хвороби та нинішній стан мого здоров'я є точними і правдивими. Я розумію, що надав/ла цю інформацію заради охорони мого власного здоров'я як донора і для гарантій безпеки реципієнта крові. Я вважаю, що моя кров придатна для використання з лікувальною метою.

Якщо впродовж 48 год. після закінчення донації я виявлю у себе ті чи інші хворобливі симптоми, зобов'язуюся в телефонному режимі повідомити про це лікаря, який дав згоду на взяття моєї крові.

Якщо я отримаю повідомлення про те, що необхідно ознайомитися з результатами аналізів, зобов'язуюся негайно звернутись до закладу служби крові.

Дата..... Підпис донора.....

У разі зміни місця проживання (адреси) просимо повідомити про це заклад служби крові .....,
адреса.....,
телефон.....

Повідомляємо, що надані в анкеті особові дані будуть розміщені у реєстрі донорів, які збираються для потреб служби крові.

Підтверджую, що ознайомився/лась із вищенаведеною інформацією.

Дата..... Підпис донора.....

Дата..... Підпис відповідальної особи.....

Розділ 3
ПРИНЦИПИ РОБОТИ ЛАБОРАТОРНОГО ВІДДІЛУ

ЗМІСТ

3.1. Взяття матеріалу на аналізи 71
3.2. Підготовка зразків до аналізів 72
3.3. Проведення досліджень 72
3.4. Документація лабораторного відділу (клінічної лабораторії) 73
3.4.1. Організація роботи ЗСК, що самостійно виконують аналізи 73
3.4.2. Організація роботи закладів, що самостійно виконують частину аналізів 74
3.4.3. Інша документація 74

Лабораторія має бути атестованою на право проведення вимірювань у сфері поширення державного метрологічного нагляду та діяти згідно із затвердженою нормативною базою. Керівний та технічний персонал цієї лабораторії має складатися з осіб, які пройшли спеціальну підготовку та мають відповідний сертифікат.

До завдань такої лабораторії належить:

– взяття матеріалу на аналізи;
– підготовка зразків до аналізів;
– здійснення певних досліджень або передача дослідного матеріалу в іншу лабораторію;
– контроль якості роботи;
– ведення документації здійснених аналізів.

Лабораторія має діяти згідно з принципами Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice, GLP): апаратура, що використовується, має систематично проходити метрологічний контроль, лабораторні методики повинні бути дозволені МОЗ України та піддаватися систематичному контролю. Обов'язковим є вхідний та поточний контроль реактивів, їх випробування. Лабораторія повинна проводити внутрішньо лабораторний контроль якості та брати участь у зовнішніх контрольних перевірках якості аналізів у відповідності до вимог, описаних у Розділі 1.

Лабораторія може надавати платні послуги — виконувати аналізи не тільки для донорів, а й для інших осіб (за наявності Ліцензії на медичну практику). Ці аналізи слід документувати так само, як аналізи донорів.

Якщо у відділі забезпечення якості немає окремої лабораторії, до завдань клінічної лабораторії належить також співпраця з цим відділом.

3.1. Взяття матеріалу на аналізи

Прийом донорів/кандидатів у донори, а також взяття матеріалу на аналізи має відбуватися за направленням, яке видає реєстратура (ф.ф. 430/о, 431/о).

Проведення клінічного та біохімічного (за потребою) аналізів крові проводиться перед кожною донацією крові або плазмодачі згідно з вимогами діючої нормативної бази.

Незалежно від статусу донора (донор резерву, чи активний) при їх обстеженні визначається вміст гемоглобіну та (або) гематокрит, група крові за системою АВ0 (прямою реакцією). Визначення цих показників проводиться у зразку капілярної крові.

Під час первинного обстеження кандидатів у донори плазми проводяться такі дослідження: загальний клінічний аналіз крові, визначення кількості тромбоцитів та ретикулоцитів, визначення вмісту загального білка у сироватці крові, визначення білкових фракцій сироватки крові, визначення групи крові за системою АВ0 (прямою реакцією). Ці дослідження доцільно проводити у зразках венозної крові. Можливе використання зразка капілярної крові, якщо це дозволено інструкцією фірми-виробника з використування апаратури або з проведення того чи іншого тесту.

При повторних процедурах плазмаферезу (до проведення процедури) визначають вміст гемоглобіну та гематокрит, ШОЕ, кількість лейкоцитів, вміст загального білка в сироватці крові, білкові фракції сироватки крові (після кожного 5-го плазмаферезу).

У подальшому донорам плазми проводиться клінічний аналіз крові з підрахунком тромбоцитів та ретикулоцитів один раз на рік. При цьому, якщо інтервал між процедурами плазмаферезу більше двох місяців, донор обстежується як первинний.

Зразки крові, призначені для аналізів на вірусні захворювання (гепатити В, С, ВІЛ-1, ВІЛ-2) та сифіліс, а також для проведення імуногематологічних аналізів (визначення антигенів системи АВ0, резус) і визначення активності АлАт мають братися виключно під час донації у відділі заготівлі крові.

Перелік аналізів, необхідних для визначення показань донора для того чи іншого різновиду донації, наведено у Розділі 2. Із нього випливає, що клінічна лабораторія має виконувати зокрема такі аналізи:

1) дослідження гематолологічних показників:
   – вміст гемоглобіну (Hb);
   – значення гематокриту (Ht);
   – кількість еритроцитів;

- показники еритроцитів;
- кількість лейкоцитів;
- абсолютний склад лейкоцитів;
- кількість тромбоцитів;

2) дослідження біохімічних показників:
   - рівень загального білка;
   - білкові фракції (або показник альбуміну/глобуліну A/G).

УВАГА! *Під час заготівлі крові у виїзних умовах слід користуватися портативними апаратами для визначення рівня гемоглобіну.*

Окрім вищеназваних аналізів, кожна лабораторія ЗСК може виконувати й інші аналізи, які дозволяють характеризувати стан здоров'я донора або точніше оцінити якість компонентів крові, отриманих із певної донації.

Призначені на аналізи зразки крові слід брати із ліктьової вени у або з пучки пальця (визначення рівню гемоглобіну), користуючись при цьому виключно приладдям одноразового призначення.

Узяту кров слід розлити у пробірки, попередньо позначені відповідними етикетками. Ці етикетки повинні містити номер донації та назви аналізів, які мають бути виконані. Додатково вони можуть містити порядковий номер аналізу в даній серії. Рекомендується позначати пробірки етикетками зі штрих-кодом, а для їх ідентифікації використовувати сканер штрих-кодів. Після перенесення крові у пробірки слід перевірити правильність етикетування пробірок та ідентичність, звіряючи етикетки з документом донора та первинною пробою крові.

На прохання донора клінічна лабораторія зобов'язана надати йому результати всіх виконаних аналізів.

3.2. Підготовка зразків до аналізів

У разі потреби взяту кров слід відцентрифугувати для відокремлення з неї зразка сироватки або плазми.

Якщо методика виконання аналізу вимагає перенесення крові/сироватки з первинної пробірки, позначеної номером донації/штрих-кодом, у пробірку чи на пластинку, що використовується безпосередньо для дослідження, слід забезпечити повну ідентифікацію дослідного зразка на кожному етапі:

– первинні пробірки, що містять матеріал для перенесень, та пробірки, що містять залишки перенесеного матеріалу, слід розміщувати на окремих штативах;

– усі пробірки, що використовуються безпосередньо для дослідження, слід позначити порядковим (який не повторюється у цьому році) номером аналізу, а на кожну пластинку нанести початковий та кінцевий номер аналізу;

– щонайменше в одному місці у документації (лабораторна книга, комп'ютерна система обліку даних або роздруківка з апарата) має фігурувати паралельний запис номерів донацій та номерів аналізів, що їм відповідають.

Якщо проведення досліджень безпосередньо після взяття крові неможливо, слід забезпечити матеріал способом, описаним у стандартній операційній процедурі, яка стосується проведення аналізів, наприклад, відокремити сироватку/плазму, зберігати за температури від 2 °С до 6 °С, заморозити тощо.

3.3. Проведення досліджень

Кожне з досліджень може виконуватися методом, який дозволений МОЗ України, описаний у спеціалізованій літературі чи відповідно задокументований (інструкція фірми-виробника з використання апаратури, інструкція фірми-виробника з проведення того чи іншого тесту). Вибір методу залежить від потреб, устаткування лабораторії та досвіду персоналу. Рекомендується, щоб зразки донорської крові маркувалися з використанням штрих-кодів; на кожному етапі (від реєстрації донора до видачі

результатів) проводилася ідентифікація з використанням обладнаної сканерами штрих-кодів апаратури, яка дозволяє автоматично передавати до комп'ютерної системи всі відомості, що стосуються виконуваних аналізів.

На робочих місцях мають бути розміщені описи всіх процедур (копії СОП). Ці документи повинні містити посилання на інформаційні джерела, з яких узято методи аналізів.

Слід пам'ятати, що часто діапазон норми того чи іншого аналізу залежить від методу, який був застосований для проведення досліджень. З огляду на це, у Розділі 2 не наведено норм щодо білкових фракцій. Кожна лабораторія у цьому випадку зобов'язана орієнтуватися на норми, властиві тому методу, яким вона, зазвичай, користується (з урахуванням даних спеціальної літератури, інструкції фірми-виробника з використування певної апаратури, інструкції фірми-виробника з проведення певного тесту). У випадку визначення білкових фракцій рекомендується встановлювати індивідуальну норму для кожного апарата та застосованих реактивів (наприклад, на підставі результатів аналізів 100 донорів і використання реактиву пурпурного).

У разі отримання результату, який відрізняється від норми, встановленої для донорів, слід повторити аналіз для переконливості, що його проведено правильно:

– визначення загального білка та білкових фракцій слід здійснити повторно з того самого зразка крові;

– для гематологічних аналізів (гемоглобін, гематокрит, аналіз морфології клітин крові, кількість тромбоцитів та інших клітин) слід повторно взяти аналітичний матеріал. Якщо є така можливість, рекомендується також виконати аналіз іншим методом, використовуючи іншу апаратуру.

Територіальні відділення, які не виконують аналізів власними силами, мають передавати взятий на аналізи матеріал у ЗСК або в атестовану лабораторію клінічної лікарні, з якою ЗСК підписав угоду стосовно виконання аналізів. У цій угоді має бути зазначено, що лабораторія зобов'язується виконувати аналізи згідно з принципами GLP, здійснювати контроль якості роботи, піддавати випробуванням методики та реактиви, що застосовуються, документувати результати аналізів згідно з вимогами ЗСК. Керівник клінічної лабораторії разом із представником ВЗЯ зобов'язані щонайменше один раз на рік ретельно інспектувати лабораторію ЗОЗ, стежачи за виконанням умов угоди.

3.4. Документація лабораторного відділу (клінічної лабораторії)

Усі аналізи, що виконуються у лабораторії, повинні документуватися згідно з вимогами чинної нормативної бази.

3.4.1. Організація роботи ЗСК, що самостійно виконують аналізи

Організація роботи ЗСК, що самостійно виконують аналізи (філії, відділення трансфузіології), мають проводити реєстрацію аналізів обстеження донорів з відображенням таких даних:

– різновид узятого матеріалу;
– різновид аналізів, що виконуються для цього донора;
– дату взяття матеріалу;
– номер донації.

Результати аналізів зразків (включаючи аналізи сліпих проб, дослідних проб, аналізи контрольної сироватки/крові, результати контролю якості крові та її компонентів) слід документувати. З метою ідентифікації зразка слід фіксувати номер донації (аналізу донора) або номер компонента крові (зазначаючи різновид компонента), а також порядковий номер аналізу в цій серії. Щоденно, перш ніж розпочати роботу, слід записувати номери серій та термін придатності реактивів, що використовуються для досліджень. Крім того, у документації лабораторних аналізів мають зазначатися:

– дані (ПІБ) про виконуючу особу;
– дані (ПІБ) про контролюючу особу отриманих результатів.

У разі виконання кількох паралельних досліджень матеріалу із одного зразка слід зафіксувати всі отримані результати, зазначити, котрий із них визнано остаточним, навести причину вибору саме цього результату та відхилення інших (наприклад, «середній результат» або «помилка апаратури»). Ця послідовність дій має бути описана в СОП.

Якщо з того самого зразка виконуються паралельні дослідження з використанням різної апаратури, то в документації слід зафіксувати із застосуванням якого саме пристрою отримано той чи інший результат.

Якщо робоча документація ведеться у вигляді протоколів, то кожен з них повинен мати свій індивідуальний номер (порядковий у цьому році) і дату складання; протоколи повинні містити всі дані, про які йшлося вище. Рекомендується вести протоколи у вигляді роздруківок з апаратури або з комп'ютерної системи. Слід прагнути, щоб усі відомості, що стосуються виконуваних досліджень, фіксувались в електронному вигляді. Якщо ж дані вводяться до комп'ютерної системи вручну, правильність записів має перевіряти інша особа. Найкращим рішенням є автоматична передача даних з пристрою, який виконує аналіз, безпосередньо до комп'ютерної системи. Автоматичні системи, для яких це можливо, мають бути обладнані також сканерами штрих-кодів, що забезпечують ідентифікацію зразків. Це дозволяє виключити можливість лабораторних помилок, пов'язаних із неправильною ідентифікацією аналізованого матеріалу, а також із ручним переписуванням результатів.

Документація аналізів має зберігатися щонайменше 15 років або протягом затвердженого МОЗ терміну зберігання.

3.4.2. Організація роботи закладів, що самостійно виконують частину аналізів

Підрозділи, що самостійно виконують тільки деякі аналізи, мають вести документацію аналогічну до вимог, описаних у п. 3.4.1; мають фіксувати результати аналізів кожного донора, які виконані власними силами та зроблені у зовнішній лабораторії.

УВАГА! *Результати досліджень донорів на носійство вірусних захворювань та сифілісу (у вигляді комп'ютерних роздруківок чи протоколів) мають зберігатися в даному закладі протягом щонайменше 30 років або протягом терміну зберігання, затвердженого МОЗ України.*

3.4.3. Інша документація

У лабораторному відділі (клінічній лабораторії) треба зберігати також документацію, яка стосується поточних випробувань реактивів, правильності роботи персоналу, внутрішньолабораторних та зовнішніх контрольних перевірок.

Розділ 4
ВЗЯТТЯ КРОВІ ТА МЕТОДИ АФЕРЕЗУ

ЗМІСТ

3.1. Взяття матеріалу на аналізи 71
3.2. Підготовка зразків до аналізів 72
3.3. Проведення досліджень 72
3.4. Документація лабораторного відділу (клінічної лабораторії) 73
3.4.1. Організація роботи ЗСК, що самостійно виконують аналізи 73
3.4.2. Організація роботи закладів, що самостійно виконують частину аналізів 74
3.4.3. Інша документація 74

4.1. Загальні вимоги до донації крові

Взяття крові має відбуватися у чистому, добре освітленому, провітрюваному та опалюваному приміщенні, умов боксованого приміщення не вимагається. У ЗСК ці приміщення повинні бути обладнані кондиціонерами. У донаційних мають знаходитись тільки необхідні для роботи меблі та устаткування, які легко піддаються вологому прибиранню та обробці. При розміщенні робочих місць необхідно забезпечити послідовність проходження донорами всіх етапів, пов'язаних із взяттям крові, виключити зустрічний потік донорів і скупчення їх великими групами на окремих етапах роботи. Послідовність дій, спрямованих на підтримання належних гігієнічних умов у приміщеннях, що служать для взяття крові, має бути прописана у відповідній СОП.

Взяття крові має проводитися кваліфікованим персоналом, який пройшов спеціальну підготовку, що засвідчено відповідними документами, під наглядом лікаря. Стерильні контейнери для крові повинні мати дані про їх державну реєстрацію в Україні.

Перед взяттям крові слід здійснити візуальний контроль кожного контейнера, щоб упевнитись у його цілісності, відсутності контамінації та придатності до використання. Цей контроль також має полягати у перевірці зовнішнього вигляду контейнерів, кількості та вигляду консервуючого розчину. Не слід використовувати контейнери, зовнішні поверхні яких надмірно вологі. Консервуючий розчин має бути прозорим, без змін забарвлення.

Перед взяттям крові слід попередньо позначити на контейнері індивідуальний номер донації, який можна легко зчитувати як візуально, так і в автоматичному режимі, у вигляді етикетки-самоклейки, що містить дату донації, позначку групи крові за системою АВ0 та Rh. На всіх порожніх контейнерах із комплекту для взяття крові слід також розмістити ідентичні етикетки для проведення ідентифікації даної донації. Водночас так само слід позначити пробірки, призначені для взяття зразків крові донора на лабораторні аналізи. Етикетуванням контейнерів та пробірок має займатися медичний реєстратор.

Безпосередньо перед початком процедури слід перевірити ідентичність особи донора на підставі документа з фотокарткою чи іншим способом, який виключав би можливість помилки (наприклад, за допомогою одноразового браслета зі штрих-кодом, який би однозначно ідентифікував особу донора). Номери серій та терміни зберігання всіх матеріалів (контейнери, голки, дезінфекційні засоби) мають записуватися у відповідних журналах або заноситися до комп'ютерної системи.

4.1.1. Підготовка місця для венепункції

Готуючи місце для венепункції, слід ретельно вимити з милом область ліктьового згину, а потім обробити цю ж ділянку антисептичним розчином. Для знезараження шкіри слід застосовувати засоби, зареєстровані в Україні. Виробник препаратів, що містять ізопропіловий спирт та хлоргексидин, рекомендує надійність знезараження операційного поля щонайменше за 30 секунд до контакту зі шкірою.

Для знезараження місця венозного доступу слід застосовувати випробуваний двоступеневий метод (п. 1.4.5.1.3.2). Незалежно від методу знезараження, перш ніж уводити голку до вени, слід переконатися, що шкіра на цій ділянці висохла; уводити голку до вени слід не раніше, як через 30 секунд (цей час може бути й довшим, згідно з рекомендаціями виробника щодо використання антисептика для знезараження операційного поля). Не можна доторкатися підготовленої ділянки до введення голки. Якщо після обробки ліктьового згину донора необхідно провести додаткову пальпацію вени в місці венепункції або до шкіри ліктьового згину доторкнувся нестерильний предмет, то процедуру обробки ліктьового згину потрібно провести повторно.

Препарати, що служать для знезараження шкіри, мають зберігатися у контейнерах із чіткими етикетками, з нанесеним терміном зберігання та датою відкриття контейнера.

4.1.2. Взяття крові

Обладнання та допоміжні матеріали, що використовуються під час взяття крові, мають бути простерилізовані або використовуватись одноразово. Весь процес взяття крові має здійснюватися в одноразових рукавичках. Рукавички слід змінювати, починаючи роботу з кожним черговим донором, а також у разі їх пошкодження чи забруднення.

Рекомендується користуватися комплектами, обладнаними додатковим малим контейнером для взяття перших 20–30 мл крові.

Голку необхідно вводити у вену з першої спроби. У разі невдачі допускається зробити другу чисту венепункцію за допомогою нової голки з нового комплекту контейнерів, попередньо обробивши місце венозного доступу.

Під час здачі кров має витікати постійним, неперервним струменем. Узята кров має належним чином змішуватися з антикоагулянтом. Найкращим рішенням є використання автоматичних вагів-помішувачів, які забезпечують постійне змішування, контроль об'єму крові, а також контроль тривалості донації. Якщо застосувати такі ваги-помішувачі неможливо, то під час донації слід щохвилинно вручну перемішувати вміст контейнера, щоб забезпечити рівномірний доступ крові до антикоагулянту і запобігти виникненню згустків. Об'єм взятої крові можна контролювати за допомогою метрологічно повірених електронних вагів. Правильність функціонування апаратури, яка використовується під час взяття крові, має систематично контролюватися працівниками відділу/лабораторії, а також працівниками сервісу (Розділ 1).

Слід контролювати тривалість донації. Процедура взяття однієї стандартної дози крові (450 мл ± 10%, не враховуючи кількості антикоагулянту) триває зазвичай 5–10 хв. Якщо донація тривала довше 12 хв., то взята кров не може бути використана для приготування концентрату тромбоцитів, а при перевищенні цього терміну більше 15 хвилин кров не слід використовувати для отримання факторів згортання крові. У випадку невідповідності дози за параметром об'єм виконуються дії, описані в Розділі 1.

Якщо необхідно взяти кров у особи, яка важить менш ніж 50 кг, слід діяти за такою схемою:

1. Розрахувати об'єм крові, яку треба взяти (*a*), (п. 2.3.4.1.2).
2. Визначити потрібну кількість антикоагулянту (*b*) за формулою:

$$b = \frac{a}{100 \cdot 14}.$$

3. Підрахувати кількість антикоагулянту, яку слід видалити з контейнера, призначеного для взяття 450 мл (с), можна за формулою:

$$c = 63 - b.$$

4. Надлишок антикоагулянту перевести у сполучений супутній контейнер та закрити магістральні трубки.

4.1.3. Взяття зразків на лабораторні дослідження

Зразки для лабораторних досліджень на наявність маркерів інфекційних захворювань слід брати під час донації крові або її компонента, при виконанні тієї самої венепункції, з якої взята доза крові. Зразки з кожної донації слід архівувати для того, щоб надалі кожен із цих зразків можна було перевірити у випадку нововиявлених маркерів інфекційних захворювань у донорів, або при ретроспективному розгляді направлень із профільних ЗОЗ (Розділ 1).

1. Перед взяттям необхідного об'єму крові слід гемостатичним затискачем закрити вхідну з'єднувальну трубку між місцем для взяття зразків та контейнером із кров'ю.
2. Далі, використовуючи вакуумну систему взяття крові (згідно з рекомендаціями фірми-виробника та відповідною СОП, чинною у конкретному ЗСК), взяти зразки крові для вірусологічних та інших аналізів, передбачених для цієї донації.
3. Вийняти голку з вени, дезінфікувати та захистити місце венепункції.
4. Перевірити, чи етикетки на пробірках відповідають етикеткам на контейнері з кров'ю.

У разі використання комплектів, до яких входить додатковий малий контейнер, призначений для перших 20–30 мл крові, зразки крові для аналізів слід брати згідно з рекомендаціями виробника та відповідною СОП, чинною у конкретному ЗСК. У звичайних випадках, беручи зразки крові, слід діяти за описаним нижче алгоритмом:

1. Дезінфікувати місце венепункції згідно зі встановленою процедурою.
2. Закрити з'єднувальну трубку, що веде до головного контейнера з консервованою кров'ю, і відкрити з'єднувальну трубку, яка веде до контейнера для зразків.
3. Виконати венепункцію.
4. Наповнити контейнер для зразків, діючи за рекомендаціями виробника.
5. Наповнивши контейнер для зразків, закрити затискач на з'єднувальній трубці, яка веде до цього контейнера.

6. Відкрити затискач на з'єднувальній трубці, що веде до основного контейнера.
7. Далі, використовуючи вакуумну систему взяття крові (згідно з рекомендаціями виробника та відповідною СОП, чинною у ЗСК), взяти з малого додаткового контейнера зразки крові для вірусологічних та інших аналізів, передбачених для цієї донації.
8. Після закінчення донації закрити затискачі згідно з рекомендаціями виробника, герметично роз'єднати трубки, використовуючи діелектричний запаювач магістралей.
9. Вийняти голку з вени, дезінфікувати та захистити місце венепункції.
10. Перевірити ідентичність етикеток на пробірках та етикетків на контейнері з кров'ю.

4.1.4. Зразок для контролю якості

Контроль якості має виконуватися на матеріалі цільної крові, тож зразок для цього слід виділити безпосередньо після взяття крові, або виготовлення її компонентів. Цей зразок має братися без порушення стерильності контейнера; кров, призначену для контролю якості, слід ретельно перемішати з консервуючим розчином. Готуючи цей зразок, слід діяти так, як описано нижче.

- На вхідній з'єднувальній трубці, нижче від затискача, зробити за допомогою діелектричного запаювача 2 запайки, попередньо зав'язавши вузол.
- Відрізати ножицями відкритий наконечник з'єднувальної трубки.
- Використовуючи роликовий затискач, перевести вміст з'єднувальної трубки всередину контейнера з кров'ю.
- Не послаблюючи затискача ролера, ретельно перемішати вміст контейнера.
- Послабити затискач ролера й наповніть з'єднувальну трубку кров'ю.
- Діючи так само, повторно спорожнити з'єднувальну трубку за допомогою ролера й знову наповнити її (процедуру провести 3–4 рази).
- Користуючись діелектричним запаювачем, зробити 2 запайки на відстані близько 3 см від кінця з'єднувальної трубки.

4.2. Взяття плазми методом мануального плазмаферезу

Під час взяття плазми методом мануального плазмаферезу слід керуватися тими самими принципами роботи, що й при взятті цільної крові (п. 4.1.1 та 4.1.2). Донор має поставити свій підпис на етикетці контейнера, в який братиметься кров, і перед зворотним переливанням еритроцитів провести ідентифікацію цього контейнера. Перш ніж розпочинати зворотне переливання еритроцитів, слід ретельно встановити ідентичність донора.

Мануальний плазмаферез слід здійснювати згідно з процедурою (СОП), що є в межах даного ЗСК.

Беручи зразки для лабораторних аналізів, слід чинити так, як описано в п. 4.1.3, причому у випадку подвійного плазмаферезу зразки слід брати лише один раз.

З кожного контейнера, що містить плазму, взяту методом мануального плазмаферезу, слід також виділити зразок для контролю якості.

4.3. Автоматичний аферез

Автоматичний плазмаферез, тромбаферез, лейкаферез, еритроцитаферез, а також взяття стовбурових клітин із крові, взятої із судин, здійснюється за допомогою сепараторів плазми або клітинних сепараторів, а також комплектів одноразового використання, що зареєстровані в Україні.

Готувати місце венозного доступу треба так само, як і перед звичайним взяттям крові (п. 4.1.1).

Детальні інструкції щодо виконання аферезу надають виробники сепараторів. Рекомендується точно дотримуватися цих вказівок, особливо тих, що стосуються різновиду та кількості використовуваного антикоагулянту та/або інших інфузійних рідин, а також тривалості маніпуляції. Відхилення від установленої процедури можуть призвести до виникнення ускладнень у донора або негативно вплинути на якість отриманого компонента крові. Використання під час тромбоцитаферезу

комплектів, які вимагають під'єднання голки/голок, призведе до скорочення строку придатності взятого КТ до 24 год.

Після закінчення донації треба взяти зразки крові донора, призначені для лабораторних досліджень (п. 4.1.3).

Якщо плазма береться у виїзних умовах, на первинній етикетці контейнера слід вказати відомості про час (година, хвилина) завершення донації; на підставі цих відомостей можливо буде зробити висновок, чи можна цю плазму вважати СЗП.

Кожний контейнер, що містить компонент крові, отриманий методом автоматичного аферезу, має супроводжуватися зразком для серологічного контролю.

4.4. Правила поведінки під час взяття крові або її компонентів, а також після закінчення процедур

Під час донації слід уважно спостерігати за станом донора. У приміщенні, де проводиться донація крові та виготовлення її компонентів, має бути СОП, де повинні бути прописані всі дії на випадок появи реакцій чи ускладнень у донорів.

У разі появи ускладнень під час донації їх слід описати у відповідному протоколі, а також розмістити запис про ускладнення в карті донора або текст в комп'ютерний варіант.

4.5. Документація, що стосується взяття крові

Документація, що стосується взяття крові або її компонентів, може вестися у формі журналу заготівлі крові та її компонентів або протоколів донацій. Вона повинна містити такі відомості:

- дату донації;
- номер донації;
- вид процедури;
- кількість взятої крові або компонента крові;
- групу крові за системами АВ0 та Rh;
- тривалість донації (у випадку, якщо донація тривала більше 10 хв.);
- підпис/печатка працівника, який відповідальний за взяття крові/здійснював аферез.

Слід також систематично документувати всі дії, пов'язані з гігієною приміщень, стерилізацією інструментів та перев'язувальних матеріалів, контролем використовуваної апаратури та обладнання одноразового застосування (назва обладнання, назва виробника, номер серії та термін придатності контейнерів, комплектів, розчинів для аферезу тощо).

Рекомендується вести і зберігати документацію в комп'ютерній системі. Якщо комп'ютерна система випробувана і діє надійно, слід зберігати надруковані щоденні протоколи донацій за підписом відповідальної особи.

Розділ 5
АУТОЛОГІЧНА ТРАНСФУЗІЯ

ЗМІСТ

5.1. Організація заготівлі аутологічної крові у лікувальному закладі 81
5.2. Методики заготівлі аутокрові 81
5.2.1. Передопераційна заготівля аутокрові 81
5.2.2. Інтраопераційна заготівля аутокрові 82
5.2.3. Методика реінфузії аутокрові 83
5.3. Показання 83
5.4. Протипоказання 84
5.5. Обстеження аутодонора 85
5.6. Інформування пацієнта 85
5.7. Документація 85
5.8. Зразки для лабораторних досліджень 86
5.9. Етикетування 86
5.10. Зберігання і строк придатності 86
5.11. Переливання аутологічної крові 86
5.12. Порядок дій з невикористаною кров'ю та її компонентами 86

5.1. Організація заготівлі аутологічної крові у лікувальному закладі

Аутотрансфузія (аутологічна трансфузія) — це безпечний метод гемотерапії, що дозволяє уникати ризику алоімунізації, зараження вірусними і бактеріальними захворюваннями та інших ускладнень після переливання. Аутотрансфузії є цінним джерелом крові для імунізованих осіб, для яких важко підібрати кров, що підходила б за груповою належністю.

Існує два види аутодонорства. Перший, коли у пацієнтів в передопераційному періоді проводиться заготівля власної крові або її компонентів та зберігання для подальшого їх використання зв'язку з небезпекою крововтрати під час оперативного втручання.

Другий вид аутодонорства — самозапобіжний. Він передбачає, що за бажанням будь-якої дієздатної особи за її рахунок здійснюється заготівля та довготривале зберігання власної крові, її компонентів з метою використання в разі необхідності при наданні медичної допомоги даній особі.

Запровадження в клінічну практику лікарських препаратів (еритропоетинів), які стимулюють еритроцитопоез, дозволяє використовувати організм людини як власний «банк аутокрові» для забезпечення достатнього рівня клітинних елементів при проведенні заготівлі аутокрові.

Широке і ефективне запровадження заготівлі аутологічної крові в клінічну практику вимагає відповідної підготовки медперсоналу та організації самого процесу заготівки аутологічної крові, її компонентів, зберігання і проведення трансфузії.

Застосування аутологічної крові, її компонентів хворим має бути частиною програми зі зменшення використання донорської крові і кровозбереження.

Вона включає дотримання в лікувальному закладі обґрунтованих показань до переливання крові та її компонентів, застосування терапевтичних методів підготовки кровотворної системи хворого (препарати заліза, вітамінотерапія тощо), своєчасну діагностику можливих порушень згортання крові в передопераційному періоді, безкровну техніку операції, оптимальну анестезіологічну тактику, включаючи положення тіла хворого, застосування джгута на кінцівках тощо.

Проблема збереження крові хворого і обмеження донорських трансфузій має бути доведена до свідомості кожного учасника лікувального процесу — хірургічного і анестезіологічного персоналу. Навчання і підготовка персоналу з цих питань, розуміння своєї ролі і завдань кожним учасником є запорукою успіху.

У тактичному відношенні заготівля аутокрові та її компонентів може бути:

– передопераційна (ексфузія крові здійснюється у передопераційному періоді);
– інтраопераційна (кров у хворого для трансфузій беруть на операційному столі перед початком оперативного втручання при цьому проводять інфузійну нормоволемічну гемодилюцію);
– післяопераційна (проводять реінфузію компонентів крові зібраних із дренажних пристроїв, або з апарату штучного кровообігу (АШК).

5.2. Методики заготівлі аутокрові

Організація заготівлі аутологічної крові або її компонентів покладається на лікарняний банк крові під керівництвом відповідальної особи за організацію надання трансфузійної допомоги в ЗОЗ. Методику заготівлі аутокрові призначає та проводить лікуючий лікар при узгодженні з відповідальною особою.

5.2.1. Передопераційна заготівля аутокрові

Методика передопераційної заготівлі аутологічної крові її компонентів полягає в одноразовій ексфузії цільної крові до операції в об'ємі 450 мл за 4–5 днів до операції.

Сама ексфузія крові в дозі 450 мл має стимулюючу дію на організм хворого. Після ексфузії відбувається стимуляція кровотворення, активізується діяльність системи гіпофіз-кора наднирників. Як правило, більшість хворих після ексфузії крові відмічають покращення загального стану. Погіршення загального стану хворого після ексфузії (поява слабкості, адинамія, пітливість) розглядається як прогностично несприятливий чинник. Реакція хворого на ексфузію крові є істотним пробним моментом в оцінці операційного ризику і післяопераційних ускладнень. Через 2 доби (якщо немає погіршення стану хворого) проводять контрольне дослідження показників червоної крові (гемоглобін, еритроцити, гематокрит, кольоровий показник) та оцінку загального стану хворого-аутодонора.

Підвищити ефективність застосування аутогемотрансфузії дозволяє призначення препаратів заліза (сорбіфер, гемофер тощо) за 3–5 днів до ексфузії в дозі 200–300 мг/добу, що приводить

до купування легких форм анемій і швидкого поповнення депо крові перед оперативним лікуванням. При масивній крововтраті, яка виникла в період оперативного втручання, відміняти застосування препаратів заліза необхідно через 4 тижні після операції.

Заготівлю свіжозамороженої аутоплазми слід проводити методом плазмаферезу. Заготівля аутоплазми проводиться у хворих та у вагітних з метою використання її як аутотрансфузійного засобу волемічної і гемостатичної дії. Кількість етапів, об'єм та термін заготівлі встановлюються індивідуально. Максимально допустимою дозою разового забору плазми являється 500,0–750,0 мл з інтервалами не менше 3–5 днів. Забір плазми здійснюють методами мануального або апаратного (автоматизованого) плазмаферезу. Заморожування аутоплазми проводять не пізніше 2-х год. після її забору при температурі мінус — 75–80 °С, зберігають при температурі мінус — 20 °С (до одного року) та при –30 °С (до двох років).

Метод поєднаної заготівлі аутоплазми та аутокрові. **М**етод є комбінацією окремих різновидів заготівлі аутогемотрансфузійних середовищ. Дає змогу заготовити значні об'єми свіжозамороженої плазми та короткотривалого зберігання аутокрові для компенсування операційної та післяопераційної гіповолемії. Метод передбачає заготівлю аутоплазми плазмаферезом у кілька етапів, а на останньому етапі (за 1–3 дні до операції) — цільної консервованої аутокрові. Кількість етапів і дози заготівлі аутоплазми та цільної консервованої крові визначають індивідуально, при обов'язковому контролі рівня білків у плазмі крові та кількості еритроцитів.

Кріоконсервування еритроцитів аутодонорів. Кріоконсервування є найбільш перспективним методом довготривалого зберігання еритроцитів і плазми аутодонорів.

5.2.2. Інтраопераційна заготівля аутокрові

При інтраопераційній нормоволемічній гемодилюції (ІНГ) у хворого після його інтубації і переходу на дихання газовою сумішшю з високим вмістом кисню проводять ексфузію 600,0–800,0 мл аутокрові (ексфузія проводиться дрібно по 300,0–400,0 мл при постійному контролі стану хворого) з паралельним одночасним заміщенням вилученого об'єму плазмозамінюючими розчинами (кристалоїдними, або колоїдними), або раніше заготовленою аутоплазмою. Мінімально допустимий рівень гемодилюції: гематокрит не менше 0,28 л/л; гемоглобін 90–100 г/л.

Проведення ІНГ є безпечним при постійному моніторингу показників гемоглобіну і гематокриту периферичної крові, основних параметрів гемодинаміки, ЦВТ, газотранспортної функції крові. З огляду на те, що компенсаторний механізм при ІНГ допускає збільшення ударного об'єму серця і відповідно навантаження на лівий шлуночок, необхідний ретельний контроль за станом коронарного кровообігу. Рекомендується додатково у хворих з кардіопатологією визначати перед ІНГ фракцію викиду лівого шлуночка, при значенні менше 40% необхідно корегувати об'єми взяття аутокрові та застосовувати альтернативні варіанти трансфузійного забезпечення. Однією з переваг ІНГ перед звичайною передопераційною ексфузією крові є сприятлива дія на гемодинаміку і гемореологію аутодонора. Поліпшуються реологічні властивості крові, зростає транспорт кисню до тканин. ІНГ дозволяє забезпечити резерв свіжозаготовленої аутокрові з підвищеним вмістом кисню і активним гемостатичним потенціалом. Крім того, виключаються психоемоційні реакції хворого на ексфузії. При проведенні інтраопераційної гіперволемічної гемодилюції (ІГГ) заміщення взятого об'єму аутокрові проводиться з перевищенням об'єму ексфузії на 10%–40% і досягненням показника гематокриту 0,23–0,25, що сприяє зменшенню втрати клітинного об'єму крові, стабільності гемодинаміки і стимулює функцію нирок. Небезпекою ІГГ є можливість перевантаження системи кровообігу введеним об'ємом рідини. ІНГ і ІГГ бажано застосовувати при планових операціях з прогнозованою крововтратою не менше 1000,0 мл (або 20% ОЦК).

Розрахунок об'єму взяття аутокрові проводиться на підставі ОЦК (7% маси тіла у чоловіків, 6,5% — у жінок; або за номограмою), початкового гематокриту, мінімально допустимого гематокриту і середнього гематокриту. При цьому рекомендується використовувати таку формулу:

$$V = \text{ОЦК} \times (Ht_{\text{поч.}} - Ht_{\text{кінц.}}) : Ht_{\text{сер.}}$$

Наприклад, у чоловіка вагою 70 кг ОЦК дорівнює 5 л. У цьому випадку при початковому гематокриті 0,45, кінцевому гематокриті 0,30 і середньому гематокриті 0,38 об'єм заготовленої аутокрові може становити 1979,0 мл.

Зберігання заготовленої при ІНГ/ІГГ аутологічної крові можливе при кімнатній температурі не більше 6 годин, при перевищенні цього терміну — кров повинна бути розміщена в холодильнику при температурі (4–6 °С).

5.2.3. Методика реінфузії аутокрові

Реінфузія крові — переливання хворому крові, що вилилася в серозні порожнини, рану або виділилася через дренажі, в результаті одержаної травми, захворювання і/або операції. Таким чином, кров одержують не шляхом ексфузії, а збором крові, що вилилася, а також залишкова кров з контура АШК.

Показанням до реінфузії є планове або екстрене оперативне втручання, яке супроводжується масивною крововтратою. Найбільш часто реінфузія проводиться при таких ситуаціях: розриві селезінки, розриві трубної вагітності, розриві аневризми судин, закритій травмі органів грудної і черевної порожнин, ортопедичних і кардіохірургічних операціях. Абсолютно протипоказана реінфузія при бактерійному і пухлинному забрудненні, пошкодженні порожнинних органів, вираженій нирковій і печінковій недостатності, масивному гемолізі (вільний гемоглобін більше 2,0 г/л), ДВЗ-синдромі.

Реінфузія крові має проводитися на безпечному технологічному рівні. Це пов'язано з тим, що кров, яка вилилася в порожнини, містить у плазмі велику кількість активованих факторів згортання, продуктів деградації фібрину, вільного гемоглобіну, мікроагрегатів та інших патологічних домішок. Тому оптимальною технологією може бути визнана тільки реінфузія відмитих еритроцитів за допомогою спеціальної апаратури. Реінфузія дренажної крові в післяопераційному періоді застосовується лише при використанні спеціальних закритих дренажних систем, які здатні забезпечити стерильність аутологічної крові. Рекомендується провести фільтрацію дренажної крові або відмивання еритроцитів із застосуванням спеціальної апаратури (центрифуг).

Рішення про проведення реінфузії ухвалюється:

– у разі екстренної операції — оперуючим хірургом разом з анестезіологом (рішення записується в протоколі операції і анестезії);

– у разі планової операції — оперуючим хірургом разом з анестезіологом і трансфузіологом, який забезпечує роботу апаратури для реінфузії Cell Saver, або його аналогами (рішення записується в передопераційному епікризі хірурга і в доопераційному огляді анестезіолога).

Аутокров, заготовлена інтраопераційно методом нормоволемічної гемодилюції, повертається хворому в операційній під час або після операції без проведення проб на індивідуальну сумісність.

При виникненні в автодонорів реакцій та ускладнень їм надають невідкладну медичну допомогу відповідно до положень, викладених в «Інструкції з донорського плазмаферезу», «Інструкції з застосування компонентів крові».

В усіх випадках проведення реінфузії оформляється Карта аутодонора (заповнюнюється в скороченому варіанті за фактом реінфузії і зберігається в ВТ). До карти стаціонарного хворого вклеюється протокол проведеної реінфузії. Реінфузія фіксується в журналі реєстрації переливань крові і компонентів із зазначенням способу реінфузії, об'єму крові, стабілізуючого (відмиваючого) розчину із поміткою «реінфузія».

5.3. Показання

Передопераційна та інтраопераційна заготівля аутологічної крові з проведенням нормоволемічної гемодилюції застосовується:

– при всіх планових хірургічних втручаннях з прогнозованою крововтратою більше 20% ОЦК за умови відсутності протипоказань до аутодонорства;

– у хворих з рідкісними групами крові та неможливості підбору сумісного гемотрансфузійного середовища;

– у хворих з сенсибілізацією до донорських компонентів та виявленими алоантитілами;

– жінкам із ускладненим трансфузійним акушерським анамнезом.

Реінфузія аутокрові проводиться:

– під час операції при любому виді оперативного втручання, в разі виключення бактеріальної і пухлинної контамінації крові та її гемолізу;

– після оперативного втручання при необхідності проведення гемотрансфузії та використання спеціальних дренажних систем.

Викладені нижче методики заготівлі аутокрові застосовуються у випадку відмови пацієнта від трансфузії компонентів донорської крові та з релігійних мотивів і за наявності письмової згоди на використання аутологічних компонентів крові.

5.4. Протипоказання

Критерії усунення донорів від аутологічних донацій:

– гепатит В, окрім HbsAg-негативних осіб з ознаками специфічного імунітету;
– гепатит С;
– ВІЛ-1, ВІЛ-2;
– сифіліс;
– активна бактерійна інфекція;
– вік хворого менший 8 та старший 70 років;
– гіпотонія (артеріальний тиск нижче 110/70 мм рт. ст.);
– посилені прояви (симптоми) хвороби або її ускладнень у день кроводачі;
– анемія (рівень гемоглобіну нижче 120 г/л, кількість еритроцитів нижче $3{,}8 \times 10^{12}$/л, гематокрит менше 0,38 л/л — у чоловіків; рівень гемоглобіну нижче 115 г/л, кількість еритроцитів нижче $3{,}6 \times 10^{12}$/л, гематокрит менше 0,36 л/л — у жінок);
– лейкопенія (кількість лейкоцитів нижче $3{,}8 \times 10^{9}$/л), тромбоцитопенія (кількість тромбоцитів нижче 150×10^{9}/л);
– кахексія, термінальна стадія онкозахворювання;
– гіпопротеїнемія (загальний білок нижче 60 г/л);
– декомпенсація серцево-судинної системи, нестабільна стенокардія, нещодавно перенесений інфаркт міокарда, шлуночкова аритмія, AV-блокада;
– аортальний стеноз;
– виражений атеросклероз коронарних та мозкових судин, епілепсія;
– глибокі ураження печінки та нирок з білірубінемією та азотемією;
– спадкові та набуті коагулопатії, рецидивуючі мігруючі флеботромбози, застосування антикоагулянтної терапії;
– гострі запальні захворювання, бактеріємія, сепсис;
– позитивні тести на гепатити В, С, сифіліс, ВІЛ тощо;
– серповидноклітинна анемія;
– менструація (за 3 дні до початку і 3 дні після закінчення).

Необхідність і можливість (відсутність протипоказань) проведення реінфузії в ході операції вирішується оперуючим хірургом із залученням анестезіолога, а при необхідності трансфузіолога. Відповідальність за стан пацієнта несе оперуючий хірург і анестезіолог. Трансфузіолог або лікар з трансфузіологічною підготовкою відповідає за роботу апаратури для реінфузії.

При оцінці показів і протипоказів до аутодонорства слід враховувати:

1. У цілому вимоги до аутодонора повинні бути менш жорсткими, ніж до донора алогенної крові, оскільки ризик, пов'язаний з трансфузією алогенної крові більший, ніж ризик, зв'язаний з кроводачею.

2. Більшість хворих, яким належить провести оперативне лікування, можуть бути аутодонорами, оскільки кроводача представляє менший ризик і небезпеку, ніж операція і анестезіологічний супровід оперативного втручання.

3. При взятті 400,0–450,0 мл аутологічної крові на фоні прийому препаратів заліза і відсутності порушення системи кровотворення відновлення показників гемоглобіну і еритроцитів відбувається протягом 72–96 год.

4. Поняття «відносні протипоказання» при заготівлі аутологічної крові повинне розцінюватися як необхідність проведення лікувальних заходів щодо стабілізації і поліпшення стану хворого (терапія залізом, еритропоетином, вітамінотерапія і дієтотерапія) для нормалізації лабораторних показників периферичної крові. Ексфузія аутокрові можлива лише після успішно проведених лікувальних заходів.

5. Наявність злоякісного новоутворення в стадії, яка піддається лікуванню, не є абсолютним протипоказанням до заготівлі і застосування аутологічної крові. Прогрес сучасних методів лікування онкопатології дозволяє використовувати аутологічні гемокомпоненти як найраціональніші, що не провокують вторинну імуносупресію і не створюють ризик трансфузійного інфікування.

6. Верхнє вікове обмеження (вік більше 70 років) слід розглядати тільки як орієнтовне для поглибленої оцінки стану серцево-судинної та інших систем організму відповідно до «Керівництва за програмами гарантії якості в службі крові» ВООЗ (1995), згідно з яким верхній віковий ценз не обмежується.

7. Об'єм взятої крові має залежати від маси тіла. Для людей, які важать менш як 50 кг, об'єм крові (з метою аутотрансфузії) не повинен перевищувати 12% (близько 8 мл/кг) ОЦК.

8. Застосування аутологічних гемокомпонентів і питання їх заготівлі у вагітних регулюються окремою нормативною документацією. Допустимо взяття крові у вагітних жінок з метою аутотрансфузії або ж трансфузії у плід, яка теж розглядається як аутотрансфузія. Умовою для взяття крові є нормальний перебіг вагітності та отримання згоди лікаря-гінеколога, який наглядає за вагітною жінкою. Рекомендується також брати кров у тих вагітних жінок, у яких наявні антитіла до антигенів із високою частотою появи в популяції.

9. Діти можуть здавати власну кров за наявності письмової згоди батьків. Нижня вікова межа не визначена точно. Однак діти, які важать менш ніж 10 кг, не повинні направлятися на аутотрансфузію з огляду на технічні труднощі під час взяття у них крові (доступ до вени) і на відсутність співпраці з боку дитини. У випадку дітей, які важать 10–20 кг, зазвичай необхідно компенсувати втрачений об'єм крові переливанням інфузійних розчинів.

5.5. Обстеження аутодонора

Заготівля аутологічної крові або її компонентів для лікування хворого можлива лише на вимогу його лікаря та за погодженням хворого, яке відображене у медичній документації та завірене його підписом.

Для осіб, які здають кров для аутотрансфузії, треба провести:

– визначення групи крові за системою АВ0, визначення антигена D у системі Rh;

– аналіз на імунні антитіла проти еритроцитів (на випадок потреби переливання алогенної крові);

– аналізи на носійство сифілісу та вірусних захворювань (HBsAg, антитіла анти-ВІЛ 1/2, антитіла анти-HCV, а також АлАТ).

Для визначення можливих протипоказів і тактики заготівлі аутологічних гемокомпонентів проводиться комплекс клінічних, лабораторних, інструментальних досліджень, виходячи із основного захворювання, супутньої патології, віку пацієнта.

Обов'язковим є дослідження системи гемостазу — час згортання крові, тривалість кровотечі, протромбіновий індекс, АПТЧ, фібриноген, показник тромбоцитів.

Аналізувати генетичний матеріал вірусів ВІЛ, HBV та HCV методами молекулярної біології у крові, призначеній до аутотрансфузії, немає потреби.

5.6. Інформування пацієнта

Пацієнт, який здає кров із метою аутотрансфузії, має бути поінформований про можливі ускладнення, пов'язані зі здачею та переливанням аутологічної крові, а також про можливу потребу переливання алогенної крові. У випадку дискваліфікації хворого, як донора аутологічної крові, його слід повідомити про причини такого рішення. Хворий має дати письмову згоду на процедуру аутотрансфузії. Він має бути поінформований про аналізи (з вірусологічними включно), які будуть робитися принагідно, а також про те, що дози крові, не використані для аутотрансфузії, будуть знищені.

5.7. Документація

Особа, яка здає кров для аутотрансфузії, має бути зареєстрована за тими самими правилами, що є чинними для алогенних донорів. У журналі реєстрації донорів слід записати різновид донації (аутологічна). Аутологічна кров та її компоненти на етикетці повинні мати попередження «ТІЛЬКИ ДЛЯ АУТОЛОГІЧНОЇ ТРАНСФУЗІЇ».

Документація, що стосується аутологічних донацій, має вестися за тими самими принципами, за якими ведеться документація алогенної крові.

5.8. Зразки для лабораторних досліджень

Необхідно відбирати зразки для серологічного контролю, здійснення проб на сумісність. Подальше обстеження взятої донорської крові проводиться в лабораторіях закладів переливання крові за такими показниками:

- група крові та резус-належність, Rh-типування, визначення антиеритроцитарних антитіл;
- маркерів ВІЛ-1, ВІЛ-2;
- маркерів гепатиту С;
- маркерів гепатиту В;
- маркерів до сифілісу;
- активність аланін-амінотрансферази (АЛТ).

5.9. Етикетування

Етикетка аутологічного компонента має містити такі дані:

1) назву установи;
2) назву крові або її компонента;
3) обсяг, вагу або кількість клітин;
4) дату заготівлі;
5) дату або термін придатності;
6) назву, склад та обсяги антикоагулянтів та/або допоміжного розчину (якщо є).
7) однозначну цифрову або цифрово-буквенну ідентифікацію;
8) групу АВ0; групу Rh D, позитивну Rh D або негативну Rh D;
9) температуру зберігання;
10) результати аналізів на сифіліс та вірусні захворювання (їх треба розмістити на етикетці вже після проведення відповідних аналізів).
11) Додаткові ідентифікаційні відомості:

- «Аутологічна донація»;
- «Призначено виключно для: (ім'я, прізвище, дата народження донора/реципієнта)»;
- «Отримувач: (назва закладу, в якому відбуватиметься переливання)».

5.10. Зберігання і строк придатності

Умови зберігання і строки придатності компонентів аутологічної крові такі самі, як і алогенних компонентів. Аутологічні компоненти слід зберігати у спеціально виділених для цього місцях, щоб вони не зберігалися разом з алогенними компонентами.

5.11. Переливання аутологічної крові

Використовуючи аутологічну кров, слід дотримуватися всіх правил, рекомендованих для алогенної крові. Не слід проводити аутотрансфузію без клінічних показань. Перш ніж переливати аутологічну кров, обов'язково треба виконати всі ідентифікаційні дії, зокрема ретельно перевірити ідентичність хворого і порівняти його дані з відомостями, розміщеними на кожному контейнері крові або компонента, що переливається. Перш ніж переливати аутологічну кров, необхідно провести всі проби на сумісність, так само, як це робиться у випадку алогенної крові (коли йдеться про сумісність між донором та реципієнтом).

5.12. Порядок дій з невикористаною кров'ю та її компонентами

Невикористаний аутологічний компонент не може бути застосований ні для переливання іншому реципієнтові, ні для промислового фракціонування. Невикористана аутологічна кров або її компоненти знищуються зі складанням актів списання та утилізуються шляхом спалювання.

Розділ 6
ЗАГОТІВЛЯ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ ТА ВИГОТОВЛЕННЯ ЇЇ КОМПОНЕНТІВ

ЗМІСТ

6.1. Загальні принципи виготовлення компонентів крові 95
6.1.1. Контейнери для заготівлі крові та виготовлення її компонентів 95
6.1.1.1. Консервуючі і додаткові розчини 96
6.1.1.1.1. Розчин CPDA-1 96
6.1.1.1.2. Розчин CPD 96
6.1.1.1.3. Розчин ACD-A 96
6.1.1.1.4. Розчин «Глюгицир» 97
6.1.1.1.5. Додаткові розчини для зберігання компонентів крові 97
6.1.1.2. Принципи виготовлення компонентів крові та препаратів у полімерних контейнерах 97
6.1.1.2.1. Робота у відкритій системі 97
6.1.1.2.2. Робота у закритій системі 98
6.1.1.2.3. Розділення компонентів крові на дози для педіатричного використання 98
6.1.1.3. Зберігання крові та її компонентів у полімерних контейнерах 98
6.1.2. Відбір зразків крові та її компонентів для обстеження 99
6.1.2.1. Маркування зразків для обстеження 100
6.1.3. Розділення крові на компоненти 100
6.1.3.1. Центрифугування 101
6.1.3.2. Фільтрація 101
6.1.3.2.1. Капілярні фільтри 101
6.1.3.2.2. Адсорбційні та адгезивні фільтри 101
6.1.4. Заморожування компонентів крові 102
6.1.4.1. Заморожування плазми 102
6.1.4.2. Заморожування клітин крові 102
6.1.5. Зберігання крові та її компонентів 102
6.1.6. Карантин плазми та кріопреципітату 102
6.1.7. Опромінювання компонентів крові 103
6.1.8. Компоненти крові, очищені від цитомегаловірусу 103
6.1.9. Бактеріологічний контроль крові та її компонентів 104
6.1.10. Інактивація інфекційних агентів у компонентах крові 104
6.1.10.1. Методи інактивації інфекційних агентів у плазмі 105
6.1.10.1.1. Метод з метиленовою синню 105
6.1.10.1.2. Метод із гідрохлоридом амотосалену (S-59) 105
6.1.10.1.3. Метод із рибофлавіном 105
6.1.10.2. Методи інактивації інфекційних агентів у тромбоцитах 105
6.1.10.2.1. Метод із рибофлавіном 105
6.1.11. Оснащення відділу заготівлі крові та її компонентів 106
6.1.12. Документація відділу заготівлі крові та її компонентів 106
6.1.12.1. Заклади служби крові (ЗСК) 107
6.1.12.2. Відділення трансфузіології 111
6.1.13. Кваліфікація компонентів крові до використання 111
6.2. Стандартні компоненти крові 115
6.2.0. Загальні принципи виготовлення і застосування еритроцитовмісних компонентів крові 115
6.2.0.1. Визначення і властивості 115
6.2.0.2. Методи виготовлення 115
6.2.0.3. Маркування компонента 115
6.2.0.4. Зберігання і термін придатності 115
6.2.0.5. Транспортування 116

6.2.0.6. Контроль якості ... 116
6.2.0.7. Показання для застосування ... 116
6.2.0.8. Протипоказання ... 116
6.2.0.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 116
6.2.0.10. Ускладнення ... 116
6.2.1. Консервована донорська кров ... 117
6.2.1.1. Визначення і властивості ... 117
6.2.1.2. Спосіб отримання ... 117
6.2.1.3. Маркування ... 117
6.2.1.4. Зберігання і термін придатності ... 117
6.2.1.5. Транспортування ... 117
6.2.1.6. Контроль якості консервованої донорської крові ... 118
6.2.1.7. Показання для застосування ... 118
6.2.1.8. Протипоказання ... 118
6.2.1.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 118
6.2.1.10. Ускладнення ... 118
6.2.2. Еритроцитовмісні компоненти крові ... 118
6.2.2.1. Еритроцити ... 118
6.2.2.1.1. Визначення і властивості ... 118
6.2.2.1.2. Виготовлення методом центрифугування ... 118
6.2.2.1.2.1. Розділення на еритроцити та плазму ... 118
6.2.2.1.2.2. Розділення на еритроцити, плазму та ТЛШ ... 119
6.2.2.1.2.3. Розділення на еритроцити, тромбоцити та плазму ... 119
6.2.2.1.3. Макроскопічна оцінка еритроцитів ... 119
6.2.2.1.4. Маркування компонента ... 119
6.2.2.1.5. Зберігання і термін придатності ... 119
6.2.2.1.6. Транспортування ... 119
6.2.2.1.7. Контроль якості еритроцитів ... 119
6.2.2.1.8. Показання для застосування ... 120
6.2.2.1.9. Протипоказання ... 120
6.2.2.1.10. Засоби безпеки при застосуванні ... 120
6.2.2.1.11. Ускладнення ... 120
6.2.2.2. Еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром ... 120
6.2.2.2.1. Визначення і властивості ... 120
6.2.2.2.2. Метод виготовлення ... 120
6.2.2.2.3. Маркування еритроцитів із видаленим ТЛШ ... 120
6.2.2.2.4. Зберігання і термін придатності ... 120
6.2.2.2.5. Транспортування ... 121
6.2.2.2.6. Контроль якості еритроцитів із видаленим ТЛШ ... 121
6.2.2.2.7. Показання для застосування ... 121
6.2.2.2.8. Протипоказання ... 121
6.2.2.2.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 121
6.2.2.2.10. Ускладнення ... 121
6.2.2.3. Еритроцити у додатковому розчині (завись еритроцитів) ... 121
6.2.2.3.1. Визначення і властивості ... 121
6.2.2.3.2. Метод виготовлення ... 121
6.2.2.3.3. Маркування ... 122
6.2.2.3.4. Зберігання і термін придатності ... 122
6.2.2.3.5. Транспортування ... 122
6.2.2.3.6. Контроль якості еритроцитів у додатковому розчині ... 122
6.2.2.3.7. Показання для застосування ... 122
6.2.2.3.8. Протипоказання ... 122
6.2.2.3.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 122
6.2.2.3.10. Ускладнення ... 122
6.2.2.4. Еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром у додатковому розчині (завись еритроцитів із видаленим тромболейкоцитарним шаром) ... 122
6.2.2.4.1. Визначення і властивості ... 122
6.2.2.4.2. Метод виготовлення ... 123
6.2.2.4.3. Маркування компонента ... 123
6.2.2.4.4. Зберігання і термін придатності ... 123

6.2.2.4.5. Транспортування ... 123
6.2.2.4.6. Контроль якості еритроцитів із видаленим ТЛШ у додатковому розчині ... 123
6.2.2.4.7. Показання для застосування ... 123
6.2.2.4.8. Протипоказання ... 124
6.2.2.4.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 124
6.2.2.4.10. Ускладнення ... 124
6.2.2.5. Еритроцити, аферез ... 124
6.2.2.5.1. Визначення і властивості ... 124
6.2.2.5.2. Метод виготовлення ... 124
6.2.2.5.3. Маркування компонента ... 124
6.2.2.5.4. Зберігання і термін придатності ... 124
6.2.2.5.5. Транспортування ... 125
6.2.2.5.6. Контроль якості еритроцитів, аферез ... 125
6.2.2.5.7. Показання для застосування ... 125
6.2.2.5.8. Протипоказання ... 125
6.2.2.5.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 125
6.2.2.5.10. Ускладнення ... 125
6.2.2.6. Еритроцити відмиті ... 125
6.2.2.6.1. Визначення і властивості ... 125
6.2.2.6.2. Методи виготовлення ... 125
6.2.2.6.2.1. Відмивання еритроцитів мануальним методом у відкритій системі ... 126
6.2.2.6.2.2. Відмивання еритроцитів автоматичним методом ... 126
6.2.2.6.3. Маркування компонента ... 127
6.2.2.6.4. Зберігання і термін придатності ... 127
6.2.2.6.5. Транспортування ... 127
6.2.2.6.6. Контроль якості відмитих еритроцитів ... 127
6.2.2.6.7. Показання до застосування ... 127
6.2.2.6.8. Протипоказання ... 127
6.2.2.6.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 127
6.2.2.6.10. Ускладнення ... 127
6.2.2.7. Еритроцити, збіднені на лейкоцити ... 128
6.2.2.7.1. Визначення і властивості ... 128
6.2.2.7.2. Метод виготовлення ... 128
6.2.2.7.3. Маркування компонента ... 128
6.2.2.7.4. Зберігання і термін придатності ... 128
6.2.2.7.5. Транспортування ... 128
6.2.2.7.6. Контроль якості еритроцитів, збіднених на лейкоцити ... 128
6.2.2.7.7. Показання для застосування ... 129
6.2.2.7.8. Протипоказання ... 129
6.2.2.7.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 129
6.2.2.7.10. Ускладнення ... 129
6.2.2.8. Еритроцити, збіднені на лейкоцити у додатковому розчині ... 129
6.2.2.8.1. Визначення і властивості ... 129
6.2.2.8.2. Метод виготовлення ... 129
6.2.2.8.3. Маркування компонента ... 130
6.2.2.8.4. Зберігання і термін придатності ... 130
6.2.2.8.5. Транспортування ... 130
6.2.2.8.6. Контроль якості еритроцитів, збіднених на лейкоцити у додатковому розчині ... 130
6.2.2.8.7. Показання для застосування ... 130
6.2.2.8.8. Протипоказання ... 130
6.2.2.8.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 130
6.2.2.8.10. Ускладнення ... 130
6.2.2.9. Еритроцити заморожені ... 131
6.2.2.9.1. Визначення і властивості ... 131
6.2.2.9.2. Методи виготовлення ... 131
6.2.2.9.2.1. Підготовка еритроцитів до заморожування ... 132
6.2.2.9.2.1.1. Еритроцити, заморожені при температурі від –140 °С і нижче ... 132
6.2.2.9.2.1.2. Еритроцити, заморожені при температурі –65 °С та –80 °С ... 133
6.2.2.9.3. Маркування компонента ... 133
6.2.2.9.4. Зберігання і термін придатності ... 134

6.2.2.9.5. Транспортування ... 134
6.2.2.9.6. Контроль якості еритроцитів заморожених ... 134
6.2.2.9.7. Показання для застосування ... 134
6.2.2.9.8. Протипоказання ... 134
6.2.2.9.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 134
6.2.2.9.10. Ускладнення ... 135
6.2.2.10. Еритроцити, заморожені для імунізації ... 135
6.2.2.10.1. Визначення та властивості ... 135
6.2.2.10.2. Методи виготовлення ... 135
6.2.2.10.3. Маркування компонента ... 135
6.2.2.10.4. Зберігання і термін придатності ... 135
6.2.2.10.5. Транспортування ... 135
6.2.2.10.6. Контроль якості еритроцитів, заморожених для імунізації ... 136
6.2.2.10.7. Показання для застосування ... 136
6.2.2.10.8. Протипоказання ... 136
6.2.2.10.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 136
6.2.2.10.10. Ускладнення ... 136
6.2.2.11. Еритроцити опромінені ... 136
6.2.2.11.1. Визначення і властивості ... 136
6.2.2.11.2. Метод виготовлення ... 136
6.2.2.11.3. Етикетування компонента ... 137
6.2.2.11.4. Зберігання і термін придатності ... 137
6.2.2.11.5. Транспортування ... 137
6.2.2.11.6. Контроль якості ... 137
6.2.2.11.7. Показання для застосування ... 137
6.2.2.11.8. Протипоказання ... 137
6.2.2.11.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 137
6.2.2.11.10. Ускладнення ... 137
6.2.3. Тромбоцитовмісні компоненти крові ... 138
6.2.3.1. Тромбоцити, відновлені з дози крові ... 138
6.2.3.1.1. Визначення і властивості ... 138
6.2.3.1.2. Методи виготовлення ... 138
6.2.3.1.2.1. Отримання тромбоцитів, відновлених з дози крові, із плазми, збагаченої на тромбоцити ... 138
6.2.3.1.2.2. Отримання тромбоцитів, відновлених з дози крові методом лейкотромбошару ... 138
6.2.3.1.3. Маркування компонента ... 139
6.2.3.1.4. Зберігання і термін придатності ... 139
6.2.3.1.5. Транспортування ... 139
6.2.3.1.6. Контроль якості тромбоцитів, відновлених із дози крові ... 140
6.2.3.1.7. Показання для застосування ... 140
6.2.3.1.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 140
6.2.3.1.9. Ускладнення ... 140
6.2.3.2. Тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу ... 140
6.2.3.2.1. Визначення і властивості ... 140
6.2.3.2.2. Методи виготовлення ... 141
6.2.3.2.2.1. Об'єднання окремих доз тромбоцитів (із плазми, збагаченої на тромбоцити) ... 141
6.2.3.2.2.2. Отримання тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу методом лейкотромбошару ... 141
6.2.3.2.3. Маркування компонента ... 141
6.2.3.2.4. Зберігання і термін придатності ... 142
6.2.3.2.5. Транспортування ... 142
6.2.3.2.6. Контроль якості тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу ... 142
6.2.3.2.7. Показання для застосування ... 142
6.2.3.2.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 142
6.2.3.2.9. Ускладнення ... 142
6.2.3.3. Тромбоцити (концентрат тромбоцитів), аферез ... 142
6.2.3.3.1. Визначення і властивості ... 142
6.2.3.3.2. Метод виготовлення ... 143
6.2.3.3.3. Маркування компонента ... 143

6.2.3.3.4. Зберігання і термін придатності 143
6.2.3.3.5. Транспортування 143
6.2.3.3.6. Контроль якості тромбоцитів (концентрату тромбоцитів), аферез 144
6.2.3.3.7. Показання для застосування 144
6.2.3.3.8. Засоби безпеки при застосуванні 144
6.2.3.3.9. Ускладнення 144
6.2.3.4. Тромбоцити, збіднені на лейкоцити 144
6.2.3.4.1. Визначення і властивості 144
6.2.3.4.2. Методи виготовлення 144
6.2.3.4.2.1. Із використанням клітинних сепараторів 144
6.2.3.4.2.2. Видалення лейкоцитів з тромбоцитів, відновлених із дози крові 144
6.2.3.4.3. Маркування компонента 145
6.2.3.4.4. Зберігання і термін придатності 145
6.2.3.4.5. Транспортування 145
6.2.3.4.6. Контроль якості концентрату тромбоцитів, збідненого на лейкоцити 145
6.2.3.4.7. Показання для застосування 145
6.2.3.4.8. Засоби безпеки при застосуванні 145
6.2.3.4.9. Ускладнення 145
6.2.3.5. Тромбоцити заморожені 145
6.2.3.5.1. Визначення і властивості 145
6.2.3.5.2. Методи виготовлення 145
6.2.3.5.3. Маркування компонента 147
6.2.3.5.4. Зберігання і термін придатності 147
6.2.3.5.5. Транспортування 148
6.2.3.5.6. Контроль якості тромбоцитів заморожених 148
6.2.3.5.7. Показання для застосування 148
6.2.3.5.8. Засоби безпеки при застосуванні 148
6.2.3.5.9. Ускладнення 148
6.2.3.6. Тромбоцити відмиті, ресуспендовані 148
6.2.3.6.1. Визначення і властивості 148
6.2.3.6.2. Методи виготовлення 149
6.2.3.6.2.1. Виготовлення тромбоцитів відмитих, ресуспендованих із компонента КТ, отриманого методом аферезу, та тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу 149
6.2.3.6.2.2. Виготовлення тромбоцитів відмитих, ресуспендованих із компонента тромбоцитів, відновлених методом з ТЛШ 149
6.2.3.6.3. Маркування компонента 149
6.2.3.6.4. Зберігання і термін придатності 149
6.2.3.6.5. Транспортування 150
6.2.3.6.6. Контроль якості тромбоцитів відмитих, ресуспендованих 150
6.2.3.6.7. Показання для застосування 150
6.2.3.6.8. Засоби безпеки при застосуванні 150
6.2.3.6.9. Ускладнення 150
6.2.3.7. Тромбоцити відмиті 150
6.2.3.7.1. Визначення і властивості 150
6.2.3.7.2. Методи виготовлення 150
6.2.3.7.3. Маркування компонента 150
6.2.3.7.4. Зберігання і термін придатності 150
6.2.3.7.5. Транспортування 150
6.2.3.7.6. Контроль якості тромбоцитів відмитих 151
6.2.3.7.7. Показання для застосування 151
6.2.3.7.8. Засоби безпеки при застосуванні 151
6.2.3.7.9. Ускладнення 151
6.2.3.8. Тромбоцити опромінені 151
6.2.3.8.1. Визначення і властивості 151
6.2.3.8.2. Метод виготовлення 151
6.2.3.8.3. Маркування компонента 151
6.2.3.8.4. Зберігання і термін придатності 151
6.2.3.8.5. Транспортування 151
6.2.3.8.6. Контроль якості 151
6.2.3.8.7. Показання для застосування 151
6.2.3.8.8. Засоби безпеки при застосуванні 152

6.2.3.8.9. Ускладнення ... 152
6.2.4. Лейкоцитарні компоненти крові ... 152
6.2.4.1. Гранулоцити, аферез ... 152
6.2.4.1.1. Визначення і властивості ... 152
6.2.4.1.2. Метод виготовлення ... 152
6.2.4.1.3. Маркування компонента ... 152
6.2.4.1.4. Зберігання і термін придатності ... 152
6.2.4.1.5. Транспортування ... 153
6.2.4.1.6. Контроль якості гранулоцитів, аферез ... 153
6.2.4.1.7. Показання для застосування ... 153
6.2.4.1.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 153
6.2.4.1.9. Ускладнення ... 153
6.2.5. Компоненти плазми ... 154
6.2.5.1. Плазма свіжозаморожена ... 154
6.2.5.1.1. Визначення і властивості ... 154
6.2.5.1.2. Методи виготовлення ... 154
6.2.5.1.2.1. Заготівля плазми методом фракціонування консервованої донорської крові ... 154
6.2.5.1.2.2. Заготівля плазми методом мануального плазмаферезу ... 154
6.2.5.1.2.3. Заготівля плазми методом автоматичного плазмаферезу ... 154
6.2.5.1.3. Маркування компонента ... 155
6.2.5.1.4. Зберігання і термін придатності ... 155
6.2.5.1.5. Транспортування ... 156
6.2.5.1.6. Контроль якості свіжозамороженої плазми ... 156
6.2.5.1.7. Показання для застосування ... 156
6.2.5.1.8. Протипоказання ... 156
6.2.5.1.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 157
6.2.5.1.10. Ускладнення ... 157
6.2.5.2. Кріопреципітат заморожений ... 157
6.2.5.2.1. Визначення і властивості ... 157
6.2.5.2.2. Методи виготовлення ... 157
6.2.5.2.2.1. Отримання кріопреципітату сифонним методом ... 157
6.2.5.2.2.2. Виробництво кріопреципітату методом центрифугування ... 157
6.2.5.2.3. Маркування компонента ... 158
6.2.5.2.4. Зберігання і термін придатності ... 158
6.2.5.2.5 Транспортування ... 158
6.2.5.2.6. Контроль якості кріопреципітату замороженого ... 158
6.2.5.2.7. Показання для застосування ... 158
6.2.5.2.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 158
6.2.5.2.9. Ускладнення ... 158
6.2.5.3. Плазма, збіднена кріопреципітатом (кріосупернатантна плазма) ... 159
6.2.5.3.1. Визначення і властивості ... 159
6.2.5.3.2. Метод виготовлення ... 159
6.2.5.3.3. Маркування компонента ... 159
6.2.5.3.4. Зберігання і термін придатності ... 159
6.2.5.3.5. Транспортування ... 159
6.2.5.3.6. Контроль якості плазми кріосупернатантної ... 159
6.2.5.3.7. Показання для застосування ... 159
6.2.5.3.8. Протипоказання ... 159
6.2.5.3.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 159
6.2.5.3.10. Ускладнення ... 160
6.2.5.4. Плазма заморожена ... 160
6.2.5.4.1. Визначення і властивості ... 160
6.2.5.4.2. Методи виготовлення ... 160
6.2.5.4.3. Маркування компонента ... 160
6.2.5.4.4. Зберігання і термін придатності ... 160
6.2.5.4.5. Транспортування ... 160
6.2.5.4.6. Контроль якості замороженої плазми ... 160
6.2.5.4.7. Показання для застосування ... 160
6.2.5.4.8. Протипоказання ... 160
6.2.5.4.9. Засоби безпеки при застосуванні ... 161

6.2.5.4.10. Ускладнення ... 161
6.2.5.5. Плазма для фракціонування ... 161
6.2.5.5.1. Визначення і властивості ... 161
6.2.5.5.2. Методи виготовлення ... 161
6.2.5.5.3. Маркування компонента ... 161
6.2.5.5.4. Зберігання і термін придатності ... 161
6.2.5.5.5. Транспортування ... 161
6.2.5.5.6. Контроль якості ... 161
6.2.5.5.7. Показання для застосування ... 161
6.3. Компоненти крові для трансфузій у плід, замінного переливання новонародженим та переливання дітям раннього віку ... 162
6.3.1. Еритроцити для трансфузії у плід ... 162
6.3.1.1. Визначення і властивості ... 162
6.3.1.2. Метод виготовлення ... 162
6.3.1.3. Маркування компонента ... 162
6.3.1.4. Зберігання і термін придатності ... 163
6.3.1.5. Транспортування ... 163
6.3.1.6. Контроль якості ... 163
6.3.1.7. Показання для застосування ... 163
6.3.1.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 163
6.3.1.9. Ускладнення ... 163
6.3.2. Тромбоцити для трансфузій у плід ... 163
6.3.2.1. Визначення і властивості ... 163
6.3.2.2. Методи виготовлення ... 163
6.3.2.2.1. Виготовлення тромбоцитів для трансфузії у плід із донорської плазми, збагаченої на тромбоцити ... 163
6.3.2.2.2. Виготовлення тромбоцитів для трансфузії у плід із компонента, отриманого від донора автоматичним методом ... 164
6.3.2.2.3. Виготовлення тромбоцитів для трансфузії у плід зі збагаченої на тромбоцити плазми матері ... 164
6.3.2.3. Маркування компонента ... 164
6.3.2.4. Зберігання і термін придатності ... 164
6.3.2.5. Транспортування ... 164
6.3.2.6. Контроль якості ... 164
6.3.2.7. Показання для застосування ... 164
6.3.2.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 164
6.3.2.9. Ускладнення ... 165
6.3.3. Консервована донорська кров для замінного переливання ... 165
6.3.3.1. Визначення і властивості ... 165
6.3.3.2. Спосіб отримання ... 165
6.3.3.3. Маркування компонента ... 165
6.3.3.4. Зберігання і термін придатності ... 165
6.3.3.5. Транспортування ... 165
6.3.3.6. Контроль якості ... 165
6.3.3.7. Показання для застосування ... 165
6.3.3.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 165
6.3.3.9. Ускладнення ... 165
6.3.4. Еритроцити, відмиті, ресуспендовані для замінного переливання ... 165
6.3.4.1. Визначення і властивості ... 165
6.3.4.2. Метод виготовлення ... 166
6.3.4.3. Маркування компонента ... 166
6.3.4.4. Зберігання і термін придатності ... 166
6.3.4.5. Транспортування ... 166
6.3.4.6. Контроль якості ... 166
6.3.4.7. Показання для застосування ... 166
6.3.4.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 166
6.3.4.9. Ускладнення ... 166
6.3.5. Еритроцити для неонатологічного використання (поповнювальні трансфузії) ... 167
6.3.5.1. Визначення і властивості ... 167
6.3.5.2. Метод виготовлення ... 167

6.3.5.3. Маркування компонента ... 167
6.3.5.4. Зберігання і строк придатності ... 167
6.3.5.5. Транспортування ... 167
6.3.5.6. Контроль якості ... 167
6.3.5.7. Показання для застосування ... 167
6.3.5.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 167
6.3.5.9. Ускладнення ... 167
6.3.6. Тромбоцити для трансфузій новонародженим ... 168
6.3.6.1. Визначення і властивості ... 168
6.3.6.2. Методи виготовлення ... 168
6.3.6.2.1. Виготовлення тромбоцитів, відновлених з дози крові із донорської плазми, збагаченої на тромбоцити ... 168
6.3.6.2.2. Виготовлення тромбоцитів із компонента, отриманого від донора методом тромбоцитаферезу ... 168
6.3.6.2.3. Виготовлення тромбоцитів, відновлених з дози крові, зі збагаченої на тромбоцити плазми матері ... 168
6.3.6.2.4. Виготовлення тромбоцитів із компонента, отриманого від матері методом тромбоцитаферезу ... 168
6.3.6.3. Маркування компонента ... 169
6.3.6.4. Зберігання і термін придатності ... 169
6.3.6.5. Транспортування ... 169
6.3.6.6. Контроль якості ... 169
6.3.6.7. Показання для застосування ... 169
6.3.6.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 169
6.3.6.9. Ускладнення ... 169
6.3.7. Еритроцити для педіатричного використання ... 169
6.3.7.1. Визначення і властивості ... 169
6.3.7.2. Метод виготовлення ... 169
6.3.7.3. Маркування компонента ... 170
6.3.7.4. Зберігання і термін придатності ... 170
6.3.7.5. Транспортування ... 170
6.3.7.6. Контроль якості ... 170
6.3.7.7. Показання для застосування ... 170
6.3.7.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 170
6.3.7.9. Ускладнення ... 170
6.3.8. Тромбоцити для педіатричного використання ... 170
6.3.8.1. Визначення і властивості ... 170
6.3.8.2. Метод виготовлення ... 170
6.3.8.3. Маркування компонента ... 170
6.3.8.4. Зберігання і термін придатності ... 170
6.3.8.5. Транспортування ... 170
6.3.8.6. Контроль якості ... 170
6.3.8.7. Показання для застосування ... 171
6.3.8.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 171
6.3.8.9. Ускладнення ... 171
6.3.9. Плазма свіжозаморожена для педіатричного використання ... 171
6.3.9.1. Визначення і властивості ... 171
6.3.9.2. Метод виготовлення ... 171
6.3.9.3. Маркування компонента ... 171
6.3.9.4. Зберігання і термін придатності ... 171
6.3.9.5. Транспортування ... 171
6.3.9.6. Контроль якості ... 171
6.3.9.7. Показання для застосування ... 171
6.3.9.8. Засоби безпеки при застосуванні ... 171
6.3.9.9. Ускладнення ... 171

6.1. Загальні принципи виготовлення компонентів крові

6.1.1. Контейнери для заготівлі крові та виготовлення її компонентів

Управління заготівлею крові, призначене для забезпечення якості заготівлі донорської крові в стаціонарних та виїзних умовах та виготовлення її компонентів, проводиться у відділі заготівлі крові. Відповідальність за управління заготівлею крові і виготовлення компонентів покладене на завідувача відділу заготівлі крові, заступника головного лікаря з організації і надання трансфузійної допомоги та Уповноважену особу з якості.

Управління заготівлею крові встановлює:

– порядок та правила проведення заготівлі донорської крові в стаціонарних та виїзних умовах;

– заготівлю плазми та клітин крові методами плазмаферезу і цитаферезу;

– проведення первинного фракціонування заготовленої донорської крові на компоненти, а також виготовлення лейкофільтрованих компонентів;

– передачу зразків крові для скринінг-тестування і контролю якості;

– проведення паспортизації і вибраковки компонентів за результатами лабораторного дослідження;

– замороження плазми відповідно до технології її виготовлення;

– маркування всієї виготовленої продукції, заповнення документації і передачу продукції у відділ експедиції.

Контейнери та розчини, які використовуються для донації, консервування та зберігання крові/компонентів крові, перевіряються на придатність до ексфузії крові (тип контейнера, строк придатності, відсутність забруднень та пошкоджень).

Для забезпечення можливості простеження будь-якої одиниці крові/компонента крові від отримання до кінцевого місцезнаходження у закладах служби крові необхідно запровадити комп'ютерну програму та штрих-кодування.

Номер марки, що присвоюється при лабораторному обстеженні донора перед кроводачею, служить беззаперечною умовою забезпечення ідентифікації продукції. Номер є унікальним і забезпечує однозначну ідентифікацію кроводачі і всіх отриманих від неї продуктів. Ідентифікатор одиниці крові однозначно пов'язаний з ідентифікатором донора (через карту донора та інформаційну систему). Протягом процесу заготівлі крові та переробки кожному окремому контейнеру з кров'ю, що застосовується в технологічному процесі, і кожному зразку крові донора, пов'язаному з даною кроводачею, присвоюється один і той самий номер, зазначений на технологічній етикетці, а згодом і на етикетці готової продукції.

Ідентифікація донора, продуктів і зразків крові та персоналу, який безпосередньо бере участь у процесі ексфузії крові, забезпечено за рахунок штрих-кодування. Перед венепункцією перевіряється карта донора, блок технологічних етикеток з єдиним номером кроводачі та особа донора. На технологічних етикетках, які використовуються під час процедури плазмаферезу та на етикетках готової продукції, зазначають ідентифікаційний номер донора та його штрих-код, який є унікальним для кожного донора в закладі служби крові. На компонентах крові, які видаються в лікувальну мережу, прізвище донора не вказується. Ідентифікатор донора забезпечує можливість швидкого пошуку всієї необхідної інформації про даного донора.

Кров заготовлюється в стерильні закриті системи; антисептик і місце венозного доступу обираються та підготовлюються таким чином, щоб мінімізувати ризик бактеріальної та вірусної контамінації. Для лабораторних досліджень використовуються вакуумні системи, які дозволяють вилучити з дози крові перші порції, що є незаперечним елементом забезпечення якості крові в плані її стерильності і зберігання активності Ф. VIII.

Технологія взяття крові забезпечує пропорційне співвідношення крові до кількості антикоагулянту/консерванту в контейнері для забору крові у будь-який момент від початку до кінця процесу забору крові за рахунок застосування вагів-помішувачів. Час кроводачі відповідає встановленій нормі (не повинен перевищувати 10 хв.); в разі перевищення названої межі в списках проводиться реєстрація цього відхилення. Об'єм крові в контейнері знаходиться в межах, встановлених нормативною документацією на конкретний тип контейнера. Кров, заготовлена з порушенням встановлених вимог (більше одного проколу вени, неповна доза крові), не використовується для трансфузії.

Зразки крові ідентифікуються з відповідними одиницями крові та маркуються відразу ж після заповнення пробірки або трубки. Умови зберігання зразків до проведення лабораторних тестів

відповідають вимогам, встановлених у письмових інструкціях (СОП). При заборі крові методом аферезу забезпечується безпека реінфузії аутологічних компонентів, що відбираються в процесу проведення процедури, умови, що виключають повітряну емболію, загальна кількість плазми не повинна перевищувати встановленого об'єму. При заборі крові методом плазмаферезу забезпечується відповідність вмісту конкретного контейнера конкретному донору, дотримання встановленого часу повернення донору його еритроцитів, відповідність загальної кількості крові, що відбирається у донора за один раз, встановленому критерію.

Під час заготівлі крові у виїзних умовах забезпечується документована процедура заготівлі крові в цих умовах, включаючи етапи умов транспортування заготовленої крові, а також умови конфіденційності проведення співбесіди з донором; заходи надання допомоги в умовах віддаленості від стаціонару.

Методи, що використовуються при переробці компонентів (центрифугування, заморожування, розморожування, фільтрація, відмивання і т. п.), забезпечують герметичність систем контейнерів, збереження життєздатності та активності діючого фактора; мінімізацію руйнування контейнерів з кров'ю або компонентами крові. Присвоєння номера кожному тільки що отриманому продукту має відбуватися до того, як контейнер буде відокремлено від системи, яка вже містить ідентифікаційну етикетку.

Утилізація відходів після взяття крові відбувається відповідно до діючих санітарно-епідеміологічних норм.

6.1.1.1. Консервуючі і додаткові розчини

Для взяття крові та її компонентів використовуються консервуючі розчини антикоагулянту, що зареєстровані в Україні та відповідають вимогам ДФУ (вид.1, доп.1).

Взяття крові здійснюють у основний контейнер, який містить 63 або 100 мл консервуючого розчину, що запобігає згортанню крові, а також містить допоміжні речовини, що робить можливим зберігання крові та її компонентів протягом терміну придатності. Консервуючий розчин має бути стерильним та апірогенним. У табл. 6.1 подано склад найчастіше використовуваних консервуючих розчинів.

Таблиця 6.1

Склад консервуючих розчинів (г/л)

	CPD*	CPDA-1*	ACD-A*	Глюгицир
Цитрат натрію	26,30	26,30	22,00	20,0
Лимонна кислота	3,27	3,27	8,00	–
Глюкоза/декстроза	23,20	29,0	24,50	30,0
Дигідрофосфат натрію	2,51	2,51	–	–
Аденін	–	0,275	–	–

** Латинські абревіатури — див. список скорочень.*

6.1.1.1.1. Розчин CPDA-1

Забезпечує зберігання консервованої донорської крові або еритроцитовмісних компонентів при температурі від 2 °С до 6 °С протягом 35 діб.

6.1.1.1.2. Розчин CPD

Забезпечує зберігання консервованої донорської крові або еритроцитовмісних компонентів при температурі від 2 °С до 6 °С протягом 21 доби. Здебільшого цей розчин міститься в основному контейнері комплекту, до якого входить контейнер із додатковим розчином, що подовжує термін зберігання компонента.

6.1.1.1.3. Розчин ACD-A

Комплекти контейнерів із цим розчином широко використовуються як засіб, що запобігає згортанню крові під час процедур автоматичного плазмаферезу та цитаферезу (інколи для автоматичного плазмаферезу рекомендується як антикоагулянт 4% розчин цитрату натрію).

6.1.1.1.4. Розчин «Глюгицир»

Забезпечує зберігання консервованої донорської крові або еритроцитовмісних компонентів при температурі від 2 °С до 6 °С протягом 21 доби.

6.1.1.1.5. Додаткові розчини для зберігання компонентів крові

Більшість додаткових розчинів для еритроцитів (ADSOL, AS-2, SAGM) містять хлорид натрію, аденін, глюкозу та маніт, до складу деяких входять цитрат натрію, дигідрофосфат натрію або гуанозин. Додаткові розчини підтримують повноцінність еритроцитів після видалення плазми з компонента. Об'єм додаткового розчину, що вводиться, становить від 80 до 110 мл. Їх застосування дозволяє зберігати еритроцити при температурі від 2 °С до 6 °С протягом 42 діб.

До складу додаткових розчинів для тромбоцитів входять хлорид натрію, хлорид калію, хлорид магнію, цитрат натрію, фосфат натрію, ацетат натрію, які забезпечують:

– ізоосмотичність, стабільність pH і концентрацію аденінових нуклеотидів (АДФ, АТФ) і високоенергетичних сполук;
– зменшення накопичення молочної кислоти, стимуляцію гліколізу;
– запобігають спонтанній агрегації та активації тромбоцитів, викликаних процесами заготівлі крові та виготовлення компонента.

Додаткові розчини для тромбоцитів створюють відповідні умови для змін метаболізму клітин і цим дозволяють подовжити період зберігання компонента більше 5 діб.

6.1.1.2. Принципи виготовлення компонентів крові та препаратів у полімерних контейнерах

Комплект з'єднаних між собою контейнерів становить закриту систему, що запобігає бактеріальному забрудненню крові під час виготовлення її компонентів та препаратів.

Для сполучення контейнерів необхідно зламати мембрану біля штуцера одного з контейнерів.

Для запобігання перемішування вмісту окремих контейнерів на з'єднувальні трубки (магістралі) накладають затискачі або користуються гемостатичними щипцями. Застосування металевих (пластикових) затискачів має тимчасовий характер і перед закінченням процедури виготовлення компонента затискач слід замінити тривалою та щільною пайкою, виконаною за допомогою запаювача. Кожну пайку слід піддати візуальному контролю, оцінюючи її щільність і герметичність.

Перед заготівлею крові слід визначити, які компоненти будуть з неї виготовлені, і з огляду на це обрати відповідний комплект контейнерів. Розділення крові на компоненти може здійснюватися за допомогою мануальних (механічних) та автоматичних пристроїв для екстракції.

6.1.1.2.1. Робота у відкритій системі

Під час окремих процедур виготовлення компонентів, наприклад, відмивання, видалення тромболейкоцитарного шару (ТЛШ), об'єднання доз, кріоконсервування тощо, деякі стадії технологічного процесу виконуються у відкритій системі. Використання цієї системи допустиме тільки в шафі з ламінарним потоком повітря та з дотриманням усіх вимог асептики.

При цій технології для сполучення контейнерів використовують стерильні з'єднувачі з полімерного матеріалу або комплекти одноразового використання для виготовлення компонентів і препаратів крові:

1) типу А (пластикова з'єднувальна трубка з наконечником зі штучного матеріалу та пластиковою голкою);
2) типу В (пластикова з'єднувальна трубка з двома наконечниками зі штучного матеріалу);
3) типу С (пластикова з'єднувальна трубка з наконечником зі штучного матеріалу та металевою голкою).

Вибір комплекту залежить від різновиду сполучення. Наконечником із штучного матеріалу можна поєднувати з'єднувальні трубки, пластикова голка служить для сполучення вихідних отворів контейнерів, а металева потрібна для сполучення зі скляним флаконом.

Компоненти, виготовлені у відкритій системі, рекомендовано використовувати для переливання у термін не більше 24 год.

6.1.1.2.2. Робота у закритій системі

Поєднання контейнерів у закритій системі забезпечується використанням спеціального апарата для стерильного сполучення з'єднувальних трубок — зварювача. Робота у закритій системі дозволяє зберігати виділені порції консервованої крові, клітин крові та плазми протягом терміну придатності компонента, без ризику бактеріального забруднення. Застосування зварювача уможливлює поділ компонентів на окремі дози, проведення лейкофільтрації та забезпечення стерильності протягом терміну придатності. Застосування зварювача є обов'язковим під час виготовлення препаратів стовбурових кровотворних клітин. Використання цього пристрою надає можливість створення додаткових зразків для тестування компонентів крові.

Кожне поєднання, виконане за допомогою зварювача, слід піддати візуальному контролю, оцінюючи його щільність і герметичність. Процес стерильного поєднання з'єднувальних трубок має пройти випробовування.

6.1.1.2.3. Розділення компонентів крові на дози для педіатричного використання

Для розподілу стандартних доз консервованої донорської крові та її компонентів на дози для педіатричного використання рекомендується застосовувати порожні полімерні контейнери та зварювач, а необхідний об'єм доз слід визначати за допомогою вагів. Дози для педіатричного використання зберігаються протягом періоду, що відповідає терміну придатності первинного компонента. Для педіатричних доз тромбоцитів термін придатності залежить також від різновиду контейнера, використаного для зберігання компонента.

Застосування відкритої системи допускається під час поділу первинної дози на менші дози у шафі з ламінарним потоком повітря, за умови дотримання всіх вимог асептики. Отримані дози мають бути використані на переливання протягом 24 год. з моменту виготовлення цих доз. Недопустимо у відкритій системі проводити розділення плазми, яка в подальшому має зберігатися в замороженому стані. Плазму, призначену для послідуючого зберігання як ПСЗ, розділяють за допомогою зварювача одразу після одержання первинної дози. Видавати компонент для використання слід після його заморожування, отримання відповідних результатів аналізів та карантинізації або вірусинактивації.

Педіатричні дози слід використовувати для переливання одному і тому ж реципієнту; невикористані дози слід списати, утилізувати як незаявлені або передати на виробництво препаратів крові. При видачі педіатричних доз на етикетці зазначають фактичний об'єм компонента.

6.1.1.3. Зберігання крові та її компонентів у полімерних контейнерах

Основні контейнери для взяття крові та супровідні контейнери, що входять до комплекту, виготовляються зі штучного матеріалу — полівініл хлориду (ПВХ). Він чинить стабілізуючий вплив на клітинну оболонку еритроцитів і попереджує їх гемоліз під час зберігання у рідкому стані. ПВХ не втрачає своїх властивостей при плюсових та мінусових температурах та дозволяє зберігати плазму, кріопреципітат, еритроцити і тромбоцити протягом терміну придатності.

Деякі комплекти контейнерів з модифікованого ПВХ або з поліолефіни називаються «дихаючими» контейнерами, оскільки вони забезпечують достатній газообмін між вмістом контейнера та зовнішнім середовищем. Такі контейнери рекомендуються для зберігання тромбоцитів при температурі від 20 °С до 24 °С до 7 діб. Зберігання відповідної кількості тромбоцитів у контейнерах має відбуватись внаслідок беззаперечного виконання інструкції виробника. За наявності в комплекті двох контейнерів для зберігання, компонент розподіляють у них порівну. У випадку невикористання додаткового контейнера, його видаляють за допомогою запаювача.

Існують «дихаючі» контейнери об'ємом 1000,0 мл, які застосовують для зберігання тромбоцитів, відновлених з дози, об'єднаних у пул, або концентрата тромбоцитів, отриманих методом автоматичного аферезу з терміном зберігання до 7 діб. Переводити компонент у такий контейнер можна тільки в закритій системі за допомогою зварювача (кількість тромбоцитів у контейнері має співвідноситися з розміром поверхні, через яку відбувається газообмін, відповідно до інструкції виробника).

Зберігаючи тромбоцити, слід пам'ятати, що газообмін, який забезпечує клітинам умови підтримання необхідних метаболічних змін, відбувається в тому випадку, якщо кількість тромбоцитів у концентраті не перевищує $1,5\times10^9$/мл, а pH підтримується весь час у межах 6,4–7,4. З огляду на це, слід звернути особливу увагу на встановлення точного об'єму компонента. Суттєве значення мають також газообмінні властивості контейнера, вони можуть відрізнятися у контейнерах, виготовлених різними виробниками.

УВАГА!

А. При використанні трансферних «дихаючих» контейнерів слід мати їх докладну специфікацію, а також інформацію про кількість тромбоцитів і об'єм плазми для зберігання в контейнері цього типу упродовж 7 днів. Відтак, орієнтуючись на властивості наявних контейнерів, слід визначити спосіб зберігання тромбоцитів і описати це у СОП.

Б. Використовувати для клінічних цілей тромбоцити, що зберігались більше 5 днів, можна виключно після отримання негативних результатів бактеріологічних аналізів.

Для зберігання клітинних компонентів крові або стовбурових клітин у замороженому стані при температурі нижче –90 °С використовуються виключно спеціальні кріогенні контейнери з поліолефіну або тефлону, які після заповнення відповідним компонентом негайно герметизують за допомогою спеціального зварювача.

У жодному разі не можна застосовувати металеві контейнери для заморожування компонентів крові.

6.1.2. Відбір зразків крові та її компонентів для обстеження

Зразки для обстеження — це зразки, взяті для проведення досліджень контролю якості компонента, проб на сумісність, зберігання в архіві. Відбір зразків має відбуватися зі збереженням цілісності закритої системи. За допомогою запаювача зі з'єднувальної трубки, заповненої відповідним компонентом, виготовляють зразки потрібної довжини, що містять об'єм компонента, потрібний для конкретної методики досліджень. Окремі відрізки з'єднувальної трубки відділяють один від одного щонайменше 2-ма пайками, які мають бути розміщені на відстані 5–10 мм одна від одної. Останній відрізок відділити від контейнера з компонентом 3-ма пайками. Кінцевий фрагмент з'єднувальної трубки використовують як зразок для серологічного контролю заготовленої консервованої крові або компонента. Відокремлюють зразки від решти з'єднувальної трубки, перерізуючи трубку ножицями в місці пайки.

Зразок для серологічного контролю та зразок для проб на сумісність відбирають зі з'єднувальної трубки кожної дози консервованої донорської крові та її компонентів, незалежно від методу їх отримання. У випадку проведення подвійного плазмаферезу кожен із контейнерів має супроводжуватися своїм власним зразком. Для контейнерів з плазмою та тромбоцитами, отриманими фракціонуванням консервованої крові, зразки для серологічного контролю необов'язкові. При розділенні компонента на педіатричні дози або для виготовлення кріопреципітату додаткові зразки до кожної проби не відбирають.

Кожна розділена педіатрична доза супроводжується власним зразком для проб на сумісність.

УВАГА!

А. Усі компоненти крові, що мають пройти контроль якості, повинні супроводжуватися додатковим зразком.

Б. Не можна відокремлювати від контейнера з компонентом крові зразки, призначені для проб на сумісність.

Частота проведення досліджень на визначення показників контролю якості залежить від різновиду компонента.

Таблиця 6.2

Частота визначення показників якості компонентів крові та оцінка їх відповідності

Різновид середовища	Частота проведення досліджень	Відсоток та показники відповідності*
Консервована донорська кров	4% від заготовлених доз, але не менше 4 доз на тиждень	90% за показниками об'єму, гемоглобіну, гемолізу
Еритроцити; еритроцити у додатковому розчині	4% від числа виготовлених доз, але не менше 4 доз на тиждень	90% за показниками об'єму, гемоглобіну, гемолізу (наприкінці терміну зберігання)

Закінчення таблиці 6.2

Різновид середовища	Частота проведення досліджень	Відсоток та показники відповідності*
Еритроцити з видаленим ТЛШ; еритроцити з видаленим ТЛШ у додатковому розчині; еритроцити, збіднені на лейкоцити; еритроцити, збіднені на лейкоцити у додатковому розчині; еритроцити аферез	4% від числа виготовлених доз, але не менше 4 доз на тиждень, всі дози	90% за показниками об'єму, гемоглобіну, гемолізу (наприкінці терміну зберігання), вмісту лейкоцитів
Еритроцити відмиті; еритроцити заморожені	Всі дози	90% за показниками об'єму, гемоглобіну, гемолізу (наприкінці терміну зберігання), вмісту лейкоцитів, білка
Тромбоцити, відновлені з дози крові; тромбоцити, відновлені з дози крові, збіднені лейкоцитами; тромбоцити, відновлені, об'єднані в одну дозу; тромбоцити, відновлені, об'єднані в одну дозу, збіднені на лейкоцити; тромбоцити (концентрат тромбоцитів), аферез	1% від числа виготовлених доз, але не менше 10 доз на місяць	75% за параметрами кількості тромбоцитів у дозі та кількості залишкових лейкоцитів у дозі
ПСЗ; ПСЗ лейкофільтрована	4% від числа виготовлених доз, але не менше 4 доз на тиждень	90% за показниками об'єму вмісту Ф. VIII, загального білка, залишкових клітин
Плазма заморожена; плазма, збіднена кріопреципітатом	4% від числа виготовлених доз, але не менше 4 доз на тиждень	90% за показниками об'єму вмісту Ф. VIII, загального білка, залишкових клітин
Кріопреципітат заморожений	Кожні 2 місяці пул з 4–6 доз протягом першого та останнього місяців зберігання	80% за вмістом фібриногену та Ф. VIII

** Числові значення показників якості визначаються різновидом компонента і наведені далі у відповідних підрозділах.*

6.1.2.1. Маркування зразків для обстеження

Зразок для серологічного контролю не потребує етикетування, бо він відокремлюється від контейнера з кров'ю безпосередньо перед використанням.

Етикетки зразків для проб на сумісність повинні містити відомості щодо групи крові донора за системами АВ0 та Rh та номер, що відповідає контейнеру з компонентом, до якого приєднані зразки.

Етикетки зразків для контролю якості та для зберігання в архіві мають містити назву та дозу компонента, з якого їх відібрано та номер донації.

6.1.3. Розділення крові на компоненти

Розділення крові на компоненти ґрунтується на таких принципах:

1) різниця питомої ваги окремих компонентів крові (седиментація, центрифугування);

2) різниця розмірів клітинних компонентів (фільтрація);

3) спорідненість клітинних компонентів з певними речовинами (адсорбційна, адгезивна фільтрація).

Спонтанне розділення крові на компоненти залежно від їх питомої ваги відбувається у процесі седиментації, що триває декілька годин. Першими осідають найважчі клітини — еритроцити, над ними залишається плазма, що містить тромбоцити та лейкоцити. Через певний час вони осідають з утворенням над еритроцитами плівки — ТЛШ і плазми, позбавленої клітинних компонентів. Для прискорення процесу седиментації використовують фракціонування методом центрифугування.

6.1.3.1. Центрифугування

Застосування правильних параметрів режимів центрифугування дозволяє скоротити час розділення крові на окремі фракції та зменшити домішки клітин у відповідних компонентах. Режими центрифугування подано у розділах, присвячених окремим компонентам. За потреби параметри режимів варто скоригувати, щоб отримати компоненти крові, які відповідають вимогам контролю якості.

Прискорення, яке наводиться в одиницях g, можна перевести у швидкість центрифугування та виразити в обертах за хвилину (об./хв.):

$$g = 1{,}12 \cdot r \left(\frac{\text{об./хв.}}{1000}\right)^2$$

$$\text{об./хв.} = 1000\sqrt{\frac{G}{1{,}12 \cdot r}}$$

де r — радіус ротора у мм, який вимірюють від осі ротора до дна центрифужного стакана, встановленого горизонтально; g — прискорення режиму центрифугування.

Параметри режимів центрифугування, подані в наступних частинах цього розділу, мають тільки рекомендаційний характер. Їх слід коригувати до індивідуальних можливостей наявного обладнання (центрифуги). Якщо центрифуга спроможна досягати відповідного прискорення, то можливе скорочення часу центрифугування. Розрахунки можна здійснити за формулою:

$$G_1 \cdot t_1 = G_2 \cdot t_2,$$

де G_1 — початкове прискорення режиму центрифугування; G_2 — необхідне прискорення режиму центрифугування; t_1 — початковий час центрифугування; t_2 — необхідний час центрифугування.

Однак, змінюючи параметри центрифугування, слід пам'ятати, що формула дозволяє визначити лише їх приблизні значення. Обраний час охоплює не лише результативний час центрифугування (коли центрифуга вже досягла потрібних обертів), але й час розгону та гальмування, який залежить від типу центрифуги та ступеня її зношеності. Необхідно періодично здійснювати повторні випробовування режимів центрифугування, проводити їх валідацію та встановлювати остаточні параметри центрифугування, спираючись на результати контролю якості компонентів крові, отриманих на відповідній центрифузі.

Примусове гальмування центрифуги може спричинити скаламучування осаду.

Розділення консервованої крові на окремі компоненти проводиться мануальним або автоматичним методом. Ці методи відрізняються способом відбору фракцій, отримані внаслідок центрифугування. Застосування клітинних сепараторів дозволяє автоматичне одержання потрібного компонента крові.

6.1.3.2. Фільтрація

6.1.3.2.1. Капілярні фільтри

Капілярні фільтри з відповідним діаметром пор затримують клітини крові, забезпечуючи відокремлення плазми. Вони використовуються в деяких апаратах для автоматичного плазмаферезу.

У деяких апаратах для автоматичного плазмаферезу використовуються капілярні фільтри з відповідним діаметром пор, які забезпечують затримання клітини крові і відокремлення плазми.

УВАГА! *Плазма, отримана на апаратах для автоматизованого плазмаферезу з унікальною технологією мембранної фільтрації в поєднанні із центрифугуванням, класифікується як високоякісна лейкофільтрована із найнижчим вмістом лейкоцитів — менше ніж 10^4/л.*

6.1.3.2.2. Адсорбційні та адгезивні фільтри

Принцип роботи адсорбційних та адгезивних фільтрів ґрунтується на спорідненості тромбоцитів та/або лейкоцитів до матеріалів (бавовна, ацетат целюлози, поліестер, поліуретан тощо), з яких виготовлено фільтр. Ці фільтри механічно затримують клітини і дозволяють усунути із крові більшість лейкоцитів, тромбоцитів та еритроцитів або ж вибірково вилучають лейкоцити із тромбоцитів (антилейкоцитарні фільтри) і мікроагрегати. Антилейкоцитарні фільтри характеризуються (визначаються) результативністю вилучення лейкоцитів та об'ємом компонента, який може затримуватись у фільтрі,

а отже визначають (вливають, здійснюють вплив) на кількість еритроцитів або тромбоцитів та кінцевий об'єм отриманого компонента.

Кінцевий результат фільтрації залежить не тільки від різновиду застосованого фільтра, а також від параметрів процедури фільтрації (швидкість протікання, температура, спосіб заповнення фільтра, відмивання після фільтрації) і властивостей (показників) фільтрованого компонента (термін зберігання, початковий вміст лейкоцитів). Перед використанням нових фільтрів слід здійснити їх випробовування і прописати спосіб дій таким чином, щоб одержати результати, які відповідають нормам контролю якості (провести процедуру валідації).

6.1.4. Заморожування компонентів крові

6.1.4.1. Заморожування плазми

Плазма містить лабільні фактори згортання, зокрема VIII та V, активність яких стрімко знижується у перші ж години після заготівлі крові. Саме тому плазму якнайшвидше (упродовж 4–6 год.) відокремлюють від клітинних компонентів крові та здійснюють її заморожування. Щоб уникнути втрати лабільних факторів згортання процедура охолодження плазми має тривати якомога коротший проміжок часу, що досягається застосуванням спеціального охолоджуючого обладнання:

1) спеціальних морозильників з циркуляцією повітря або інших охолоджувальних агентів (субстанцій);
2) спиртових термостатів для заморожування плазми;
3) механічних швидкозаморожувачів із температурою –80 °С і нижче.

УВАГА!

А. Швидкість процесу охолодження залежить не тільки від температури морозильного обладнання, а й від об'єму заморожуваного матеріалу, кількості заморожуваних контейнерів та способу їх розташування.

Б. Для того, щоб плазму можна було кваліфікувати як ПСЗ, процедура замороження має відбутися у перші години від моменту заготівлі: до 6 год. для плазми, отриманої з консервованої донорської крові та методом плазмаферезу.

Процес заморожування плазми випробовують кожні 12 місяців та проводять його валідацію (п. 1.4.5.1.3.2). Умови заморожування (кількість контейнерів, що охолоджуються за одну процедуру, та спосіб їх розташування) мають забезпечувати досягнення температури у контейнері –30 °С і нижче протягом 60 хв. від початку заморожування.

6.1.4.2. Заморожування клітин крові

Заморожування клітин можливе після додавання кріозахисних середовищ з кріопротектором, найбільш відомими серед яких є гліцерин для еритроцитів та диметилсульфоксид для тромбоцитів. Заморожування клітинних компонентів передбачає використання спеціального обладнання: заморожувачі зі встановленими контрольованими швидкостями охолодження, низькотемпературні морозильники на –80 °С і нижче, кріоморозильники на –140 °С і нижче, кріогенне обладнання для рідкого азоту.

6.1.5. Зберігання крові та її компонентів

Обов'язкові умови зберігання компонентів крові та контролю обладнання для зберігання крові та її компонентів подано у Розділі 9, а також у Розділі 1.

6.1.6. Карантин плазми та кріопреципітату

Карантин плазми, у тому числі й плазми для виготовлення кріопреципітату, проводять для зменшення ризику перенесення вірусних інфекцій. Він являє собою процес зберігання компонента крові, з повною забороною його використання протягом 180 діб та перевіркою результатів аналізів на вірусні маркери у донора, з крові якого отримано компонент.

Карантинізований компонент крові — це компонент, отриманий із крові донора, в якого щонайменше у 2-х аналізах одержано негативні результати на маркери ВІЛ-1 та ВІЛ-2, гепатитів В і С, сифілісу. Перший зразок для аналізу відбирається у день донації, а другий — після 180 діб карантинізації. Метою повторного тестування є врахування «серологічного вікна» у донора, тобто раннього періоду зараження, коли патогенні чинники наявні у крові, але лабораторно ще не виявляються.

Карантинізованими можуть бути лише компоненти крові, що мають тривалий термін придатності (ПСЗ, ПСЗ лейкофільтрована, ПЗ, кріопреципітат заморожений, КСП) і отримані з крові регулярних кадрових донорів.

Для клінічного використання слід призначати карантинізовану ПСЗ. Етикетка на такому компоненті повинна містити слова: «Карантинізовано протягом 180 діб».

6.1.7. Опромінювання компонентів крові

Життєздатні лімфоцити, присутні в компонентах крові, можуть викликати розвиток післятрансфузійні хвороби «трансплантат проти господаря». До групи ризику належать:

– пацієнти з порушеннями імунної системи;
– діти з гострим імунним синдромом;
– новонароджені з недостатньою вагою.

Ризик ускладнення виникає також при трансфузіях від донорів-родичів з I та II ступенем кровної спорідненості, трансфузіях компонентів крові, ідентифікованих за HLA системою, а також трансфузіях у плід.

Застосування іонізуючого опромінення запобігає розмноженню лімфоцитів та суттєво не впливає на інші компоненти крові.

Процедура опромінювання проводиться таким чином, щоб кожна частина компонента була рівномірно опромінена дозою 25–50 Гр. Час експозиції потребує випробування для кожного джерела іонізуючого випромінювання, при систематичному повторному випробуванні з урахуванням часу розпаду ізотопу.

Еритроцити можна опромінювати протягом 14 днів від дати заготівлі і зберігати до 28 днів від дати заготівлі після опромінення. Еритроцити, призначені для внутрішньоматкових трансфузій та значних (масивних) трансфузій новонародженим, мають бути використані впродовж 24 год. з моменту опромінення (з огляду на те, що під впливом опромінення збільшуються втрати іонів калію).

Опромінені тромбоцити можуть бути використані відповідно до початкового терміну придатності.

На контейнери з компонентами крові, призначеними для опромінення, слід наклеювати променечутливі наклейки.

6.1.8. Компоненти крові, очищені від цитомегаловірусу

Цитомегаловірус (ЦМВ) може передаватись під час переливання компонентів крові. Особливо великим цей ризик передачі є при трансфузіях компонентів, які зберігались при позитивних температурах, оскільки вони містять моно- та поліядерні лейкоцити. У здорових людей зараження ЦМВ часто проходить безсимптомно. Антитіла зазвичай з'являються через 4–8 тижнів після зараження; їх наявність діагностують стандартними аналізами.

Зараження ЦМВ не має суттєвого клінічного значення для пацієнтів із нормальним імунітетом, однак воно може викликати серйозні, навіть смертельні ускладнення у пацієнтів з імунодефіцитом:

– реципієнти, яким здійснювали трансплантацію;
– пацієнти з тяжкою імунною недостатністю;
– ще ненароджені діти (йдеться про внутрішньоматкові трансфузії);
– вагітні жінки, що мають негативний показник анти-ЦМВ;
– недоношені діти з недостатньою вагою при народженні (період одразу після народження і до 1 року).

Для зменшення ризику інфікування ЦМВ такі групи пацієнтів мають отримувати компоненти крові від спеціально відібраних анти-ЦМВ-негативних донорів або спеціально виготовлені компоненти крові.

Використання компонентів крові від анти-ЦМВ-негативних донорів або компонентів, збіднених на лейкоцити, значно зменшує ризик зараження ЦМВ. Проте жоден із існуючих на сьогодні методів, використаний окремо або у поєднанні з іншими технологіями, не виключає зараження ЦМВ у випадку вірусемії на ранньому етапі гострої інфекції.

6.1.9. Бактеріологічний контроль крові та її компонентів

При заготівлі донорської крові та виготовленні її компонентів важливими складовими є:
- належний стан умов заготівлі;
- дотримання технологічної дисципліни під час виготовлення компонентів крові;
- підготовка медичного персоналу;
- ефективні дезінфекційні засоби.

Бактеріологічному контролю не підлягають компоненти крові, виготовлені в закритій системі. Бактеріологічний контроль необхідний у процесі випробувань зварювача та у процесі знезараження місця уколу (пп. 1.4.5.1.2.9, 1.4.5.1.3.2).

Моніторинг умов заготівлі донорської крові та виготовлення її компонентів проводять загальноприйнятими методиками за такими тестами:
- контроль мікробної контамінації повітряного середовища виробничих приміщень аспіраційним методом;
- контроль ефективності обробки рук персоналу та шкіри місця венозного доступу донорів;
- контроль якості обробки робочих поверхонь та технологічного обладнання;
- контроль матеріалів, що підлягають стерилізації;
- бактеріологічний контроль парових стерилізаторів.

У закладах, де компоненти крові отримують у відкритій системі, має здійснюватись систематичний (1 раз на тиждень) контроль стерильності шафи з ламінарним потоком повітря та обов'язкове ведення відповідної документації. Кожна доза тромбоцитів, термін зберігання якої більше п'яти діб, підлягає обов'язковому бактеріологічному контролю. **Зразки для аналізів в об'ємі 2–5 мл з однієї дози компонента мають бути відібрані протягом 48 год. після донації. Зразки більшого об'єму (5–10) мл відбирають протягом 24 год. після донації.** Зразки для бактеріологічного контролю відбирають у чіткій відповідності до інструкцій, наданих виробником обладнання, яке використовується для аналізів. Якщо в момент відбору зразків не дотримуватись умов стерильності, можливе одержання псевдопозитивних результатів бактеріологічного контролю продуктів крові.

Бактеріологічний контроль донорської крові та її компонентів проводять методом прямого висівання в тіогліколеве середовище. Досліджуваний зразок засівають у кількості 1мл в дві пробірки з 20 мл тіогліколевого середовища з подальшою інкубацією протягом 48 годин за температури (20–25) ºС та (30–35) ºС. Потім проводять пересів по 0,5 мл з кожної пробірки в інші 2 пробірки з 10 мл тіогліколевого середовища та інкубують ще протягом 24 год. при вищезазначених температурах.

Облік результатів проводять візуально через 72 год. після первинного посіву.

6.1.10. Інактивація інфекційних агентів у компонентах крові

Застосування методів інактивації інфекційних агентів у компонентах крові збільшує безпеку компонентів при трансфузіях. Ці методи зменшують ризик передачі:
- відомих інфекційних агентів, для яких ще не опрацьовані відповідні методи виявлення;
- невідомих інфекційних чинників, які з'являються внаслідок міграцій населення;
- бактерій (особливий ризик пов'язаний з трансфузіями тромбоцитів);
- хвороб, що викликають захворювання, якими зазвичай не займається служба крові (як-то малярія чи хвороба Шагаса);
- З існуючих методів інактивації інфекційних агентів у компонентах крові тільки два застосовуються в закладах служби крові, в основі яких лежать:
- фотодинамічна реакція (фотосенсибілізатор — метиленова синь, рибофлавін);
- фотохімічна реакція (фотосенсибілізатор — гідрохлорид амотосалену).

У фотодинамічній реакції інфекційні агенти інактивуються за допомогою вільних кисневих радикалів; фотохімічна реакція полягає у використанні відповідних хімічних сполук, які утворюють незворотні

ковалентні зв'язки з нуклеїновими кислотами інфекційних агентів і унеможливлюють їх подальше розмноження. В обох методах для активації фотосенсибілізатора використовується видиме або ультрафіолетове світло; відрізняються ж методики результативністю та впливом на компоненти крові.

6.1.10.1. Методи інактивації інфекційних агентів у плазмі

6.1.10.1.1. Метод з метиленовою синню

Метод може застосовуватися для плазми, отриманої з консервованої донорської крові, або плазми, отриманої методом плазмаферезу. Метиленова синь виявляє високу спорідненість до нуклеїнових кислот і поверхневих структур вірусів. Для активізації барвника використовують видиме світло з довжиною хвилі 620–670 нм. На сьогодні метод використовують для інактивації оболонкових та безоболонкових вірусів. Система контейнерів із таблеткою метиленової сині містить фільтр із діаметром пор 0,65 мкм, що забезпечує видалення лейкоцитів та знижує ризик передачі внутрішньолейкоцитарних вірусів (ЦМВ, HTLV-1, HTLV-2), а також дозволяє усувати до 95% метиленової сині та продуктів опромінення. Це має особливе значення у випадку багаторазових трансфузій, передусім для дітей. Опромінювач, у якому здійснюють інактивацію плазми, обладнаний комп'ютерною системою, що забезпечує автоматичний моніторинг процедури. Інактивація метиленовою синню застосовується головним чином для обробки плазми, призначеної для клінічного використання, але може застосовуватися і для плазми, призначеної для фракціонування.

6.1.10.1.2. Метод із гідрохлоридом амотосалену (S-59)

Комплект контейнерів призначається для обробки 2–3 об'єднаних доз плазми, отриманих з консервованої крові або плазми, отриманої методом автоматичного плазмаферезу. Під час однієї процедури опромінення обробляються 2 контейнери з плазмою, кінцева концентрація гідрохлориду амотосалену у кожному з них становить 150 мкм. Після опромінення плазму піддають адсорбційній фільтрації для видалення амотосалену та продуктів його обміну, після чого плазму розділяють у 3 супутні контейнери і заморожують. Цей метод ґрунтується на типовій фотохімічній реакції. При інактивації використовують плазму, що відповідає таким параметрам: об'єм — 385–638 мл, вміст еритроцитів — $< 4 \times 10^6$/мл, вміст лейкоцитів — відповідно до вимог для методу, яким отримано компонент. Амотосален S-59 та ультрафіолетові промені інактивують широкий спектр інфекційних агентів.

6.1.10.1.3. Метод із рибофлавіном

Метод використовується для плазми, отриманої з консервованої крові, або плазми, отриманої методом плазмаферезу. Плазма, що підлягає інактивації, має відповідати параметрам, зазначеним у специфікації виробника обладнання для інактивації.

УВАГА! *Плазма, що пройшла інактивацію інфекційних агентів, може бути класифікована як ПСЗ у випадку її заморожування протягом* ***8 год.*** *з моменту донації.*

6.1.10.2. Методи інактивації інфекційних агентів у тромбоцитах

6.1.10.2.1. Метод із рибофлавіном

Спосіб застосовують для КТ, отриманих методом цитаферезу, та тромбоцитів, відновлених з доз крові, отриманих методом лейкотромбошару та об'єднаних в одному контейнері. Для інактивації використовують компонент, що відповідає специфікації методу: об'єм — 170–360 мл, вміст тромбоцитів — $1{,}8–4{,}8 \times 10^{11}$ у дозі.

Рибофлавін — це речовина, що абсорбує видиме світло та ультрафіолет і не потребує видалення з компонента після його інактивації.

Процедура інактивації передбачає додавання до компонента 35 мл розчину рибофлавіну (500 мкм) та опромінення суміші видимим світлом (6,24 Дж/мл). Обробку КТ слід розпочинати через 2 год. після цитаферезу, але не пізніше 30 год.; тромбоцитів, відновлених з доз крові, у проміжок 1–8 год.

УВАГА!

А. Після інактивації плазми методом з метиленовою синню або гідрохлоридом амотосалену вміст факторів згортання знижується на 4–20%.

Б. Після інактивації тромбоцитів методом з рибофлавіном спостерігається незначне підвищення активації тромбоцитів, але показники реакції на гіпотонічний шок (РГШ) та агрегації відповідають параметрам неінактивованого компонента.

В. Процедуру інактивації компонента крові слід відповідним чином вказати на етикетці із зазначенням методу інактивації.

6.1.11. Оснащення відділу заготівлі крові та її компонентів

Перелік компонентів донорської крові, що виготовляються, залежить від оснащення відділу. Основне обладнання:

- апарати для плазмаферезу;
- центрифуги з регуляцією температури центрифугування;
- плазмоекстрактори;
- ваги-помішувачі;
- холодильники з температурою від 2 °С до 6 °С;
- морозильні камери з температурою нижче –30 °С;
- запаювачі;
- охолоджувальне обладнання для заморожування плазми при температурах (–40, –80 °С) і нижче.

Розширити перелік компонентів та препаратів, що виготовляються, дозволяє таке оснащення:

- клітинні сепаратори;
- камери з ламінарним потоком стерильного повітря;
- морозильні камери з температурою –80 °С;
- кріоморозильні камери з температурою –140 °С;
- кріогенні резервуари з рідким азотом;
- обладнання з програмованою швидкістю охолодження;
- запаювачі для тефлонових контейнерів;
- термостати для виробництва кріопреципітату сифонним методом;
- водяні термостати з регуляцією температури та функцією помішування;
- пристрої для зберігання тромбоцитів (горизонтальні та/або обертові);
- пристрої для розморожування;
- зварювач для стерильного поєднання трубок;
- опромінювані;
- автоматичні пристрої для екстракції;
- пристрій для вірусінактивації.

Оптимізують виготовлення компонентів крові механічні та автоматичні пристрої для екстракції, спеціальні термостатичні камери, у яких розміщуються пристрої для зберігання тромбоцитів у відповідних умовах.

ПСЗ і кріопреципітат мають зберігатися в морозильних камерах або центральних морозильних камерах, обладнаних звуковою та світловою сигналізацією. Моніторинг температурних умов зберігання має здійснюватись двома незалежними вимірювальними приладами.

6.1.12. Документація відділу заготівлі крові та її компонентів

Документація відділу ведеться і зберігається у комп'ютерній системі та на паперових носіях. За відсутності комп'ютерної системи документацію слід вести у вигляді журналів, протоколів та сертифікатів. Документація має містити такі відомості:

- місця отримання сировини;
- перелік виготовлених компонентів;
- шлях та метод передачі цих компонентів.

Слід наголосити, що особливо прозорою має бути документація контролю аналізів на вірусні захворювання та сифіліс, а також документація щодо утилізації компонентів, отриманих із крові інфікованих донорів.

Різновиди, кількість та спосіб ведення документації залежать від переліку компонентів, що виготовляються.

6.1.12.1. Заклади служби крові (ЗСК)

У ЗСК необхідно документувати в комп'ютерній системі дії, пов'язані із заготівлею консервованої донорської крові та її компонентів. Кожен комп'ютерний запис має містити, як мінімум, такі дані:

- місце, дата заготівлі, дата доставки сировини;
- номер донації;
- група крові за системами АВ0 та Rh;
- назва сировини/компонента згідно з затвердженим переліком;
- об'єм сировини/компонента (мл, доза);

Ведення документації у комп'ютерній системі рекомендується запровадити у відділеннях трансфузіології (ВТ), обладнаних комп'ютерними системами з відповідним програмним забезпеченням.

Ведення протоколів дає змогу контролювати правильність процесів виготовлення компонентів, встановлює персональну відповідальність виконуючих та контролюючих осіб. Різновид протоколів відповідає переліку компонентів, що виготовляються. Орієнтовні зразки протоколів для виготовлення деяких компонентів надані нижче.

Протокол виготовлення КОНСЕРВОВАНОЇ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ

Дата _____

Отримано доз _____

	Підпис виконуючої особи/ контролюючої особи
Підготовлено до роботи ваги-помішувачі № _____ (відповідно до внутрішньої СОП)	_____/_____
Проведено ідентифікацію донора і відповідність маркування контейнерів для заготівлі крові та пробірок	_____/_____
Введено параметри процедури	_____/_____
Оброблено ділянку шкіри ліктьового згину донора використаний антисептик _____	_____/_____
Виконано венепункцію	_____/_____
Проведено донацію	
– у визначений термін	_____/_____
– перевищення терміну донації	_____/_____
Відібрано зразків на лабораторне обстеження _____ (кількість, л)	_____/_____
Відібрано зразків на контроль: стерильності _____ (кількість, л)	_____/_____
якості _____ (кількість, л)	_____/_____
Брак з технології в період виготовлення _____ (кількість доз, л)	_____/_____
Причини браку _____	_____/_____
Передано на дільницю паспортизації _____ (кількість доз, л)	_____/_____

Протокол виготовлення компонента ПЛАЗМА СВІЖОЗАМОРОЖЕНА

Дата _____

Отримано доз _____

Метод отримання компонента **Аферез** Підпис виконуючої особи/ контролюючої особи

Підготовлено до роботи апарати плазмаферезу № _____ _____/_____
Встановлено одноразову витратну систему
(відповідно до внутрішнього СОП) _____/_____
Під'єднано розчини АЦД-А та натрію хлориду 0,9% _____/_____
Введено параметри процедури _____/_____
Оброблено ділянку шкіри ліктьового згину донора
використаний антисептик _____ _____/_____
Виконано венепункцію _____/_____
Відібрано зразків на лабораторне обстеження _____ _____/_____
(кількість, л)

Проведено герметизацію плазми за допомогою затискачів _____/_____
Проведено герметизацію компонента за допомогою запаювача _____/_____
Відібрано зразків на контроль: стерильності _____ _____/_____
(кількість, л)

якості _____ _____/_____
(кількість, л)

Брак з технології в період виготовлення _____ _____/_____
(кількість доз, л)

Причини браку
_____ _____/_____
Передано на дільницю паспортизації _____ _____/_____
(кількість доз, л)

Термін заготівлі, виготовлення та заморожування
не більше 4 год. _____/_____
Розміщення доз плазми у металеві контейнери (сітки)
в один шар _____/_____
Заморожування в холодильному обладнанні №____ при *t* ___°С _____/_____
Контроль за процесом заморожування протягом 1 год. _____/_____

Протокол виготовлення компонента ЕРИТРОЦИТИ

Дата _____

Отримано доз _____

Метод отримання компонента **Центрифугування**

Підписи виконуючої особи/ контролюючої особи

Проведено:

Підготовку центрифуг до роботи (*t* роторної камери 4–6 °С) _____/_____

Розташування та врівноваження контейнерів у стаканах центрифуг _____/_____

Вибір програми центрифугування відповідно до внутрішнього СОП _____/_____

Режим центрифугування:
прискорення _____час _____*t* _____ _____/_____

Контроль за параметрами центрифугування:
прискорення _____час _____*t* _____ _____/_____

Переведено плазми у плазмоконтейнер, _____ _____/_____
(кількість доз)

Відібрано зразків на контроль: стерильності _____ _____/_____
(кількість, л)

якості _____ _____/_____
(кількість, л)

Брак з технології в період виготовлення _____ _____/_____
(кількість доз, л)

Причини браку
_____ _____/_____

Передано на дільницю паспортизації _____ _____/_____
(кількість доз, л)

Протокол виготовлення компонента ТРОМБОЦИТИ, ВІДНОВЛЕНІ З ДОЗИ КРОВІ, методом лейкотромбошару

Дата _____

Отримано доз _____

Метод отримання компонента	**Диференційоване центрифугування**	Підписи виконуючої особи/ контролюючої особи
Проведено:		
Підготовку центрифуг до роботи (*t* роторної камери 22 ±2 °С)		
Розташування та врівноваження контейнерів у стаканах центрифуг		_____/_____
Вибір програми центрифугування відповідно до внутрішнього СОП		_____/_____
Режим центрифугування: прискорення _____час _____*t* _____		_____/_____
Контроль за параметрами центрифугування прискорення _____час _____*t* _____		_____/_____
Переведено плазми у плазмоконтейнер, _____ (кількість доз)		_____/_____
Переведено ТЛШ у контейнер (110 ± 10мл) _____ (кількість доз)		_____/_____
Центрифугування ТЛШ прискорення _____час _____*t* _____		_____/_____
Проведено:		
Розташування та врівноваження контейнерів у стаканах центрифуг		_____/_____
Вибір програми центрифугування відповідно до внутрішнього СОП		_____/_____
Режим центрифугування: прискорення; час; *t*		_____/_____
Контроль за параметрами центрифугування		_____/_____
Переведено тромбоцитарний шар та плазму у контейнери (50 ± 5мл)		_____/_____
Відібрано зразків на контроль: стерильності _____ (кількість, л)		_____/_____
якості _____ (кількість, л)		_____/_____
Брак з технології в період виготовлення _____ (кількість доз, л)		_____/_____
Причини браку _____		_____/_____
Передано на дільницю паспортизації _____ (кількість доз, л)		_____/_____

6.1.12.2. Відділення трансфузіології

У відділеннях трансфузіології, які виконують тільки заготівлю крові і передають її до закладів служби крові, рекомендується заповнювати протокол заготівлі (користуючись формуляром, наданим Центром крові) та надавати відповідні списки, які заповнюються на етапі проведення донацій:

Місце заготівлі крові _____

Дата заготівлі крові _____

Контейнери: (подвійні, потрійні, зчетверені) виробник _____

Гемоконсервант _____ Кількість контейнерів _____

Кількість донорів _____

Список донорів

№ з/п	Марка	ПІБ донора	Рік народж.	Домашня адреса	Кількість консерв. крові, бак. контроль	Анти-HCV	HBsAg	Анти-Trep. pall.	Анти-ВІЛ½

Склад бригади: лікар _____

ПІБ, підписи

Ексфузіоніст, м/с _____

Медреєстратор _____

Кількість консервованої крові _____ (л) Кількість доз _____

Зав. ВТ, філії, ВБ _____

Здав консервовану кров _____ Прийняв консервовану кров _____

Брак за реєстратурою Єдиного донорського центру _____

_____

_____

Медреєстратор Єдиного донорського центру _____

Прийом консервованої донорської крові із ВТ здійснюється за накладними на продукцію і даними списками, які надаються у Єдиний донорський центр для перевірки донорів за базою браку та разом зі зразками крові надходять у лабораторію діагностики ВІЛ та ВІЛ-асоційованих інфекцій. Результати проведеного обстеження передаються у ВТ.

При взаємодії ВТ та Центру крові у єдиному інформаційному просторі списки формуються автоматично, можуть змінюватись відповідно до специфіки роботи закладу.

6.1.13. Кваліфікація компонентів крові до використання

Кваліфікація компонентів крові передбачає проведення скринінг-тестування донорської крові з метою уникнення ризику та недопущення в обіг компонентів крові від донора, в якого виявлено імунні антитіла до еритроцитів (п. 7.6.5.2), маркери вірусних гепатитів В,С, (HBV та HCV), вірусів імунодефіциту людини (ВІЛ-1 та ВІЛ-2), сифілісу і підвищеного рівня АлАт. Для клінічного застосування використовують компоненти крові, які пройшли серологічний контроль за системами АВ0 та Rh.

Для кваліфікації слід запровадити описану нижче систему гарантій:

1. Результати тестування донорської крові на маркери вірусних гепатитів В,С, (HBV та HCV), вірусів імунодефіциту людини (ВІЛ-1 та ВІЛ-2), сифілісу і рівня АлАт, слід передавати у ВЗК у вигляді зведених комп'ютерних роздрукованих протоколів, які зберігають протягом 30 років.

2. Рішення про допущення до використання крові та її компонентів має ухвалюватися колегіально. До складу відповідальних осіб входять представники ВКЯ, ВЗК, клініко-імунологічної лабораторії

та лабораторії діагностики та профілактики ВІЛ та інших інфекцій, які передають трансфузійним шляхом.

3. На кінцевій етикетці розміщують результати негативних аналізів на маркери інфекційних агентів. Неприпустимо друкування кінцевої етикетки у випадку позитивних результатів аналізів донора, що має передбачатися комп'ютерною системою.

4. Еритроцитовмісні компоненти, заготовлені від донора, у якого виявлено імунні антитіла, не можна рекомендувати до переливання.

5. До моменту отримання всіх результатів аналізів донора компонент вважається «необстеженим» та зберігається в окремому місці, в умовах, передбачених для даного різновиду компонентів.

6. Неприпустимо зберігати «необстежені» компоненти, компоненти від донорів із позитивними результатами маркерів інфекцій в одному холодильнику або морозильній камері з компонентами, що підлягають видачі.

Орієнтовні зразки протоколів результатів аналізів донорів подані нижче.

Протокол обстеження донорів НА МАРКЕРИ ІНФЕКЦІЙНИХ АГЕНТІВ

Установа, що здійснювала перевірку крові
донора на інфекційні агенти _____

Дата заготівлі крові від донора _____

Номер компонента відповідно до штрих-коду	**Група крові за системою АВ0**	**Група крові за системою Rh**	**Маркери інфекційних агентів***			
			ВІЛ-1 ВІЛ -2	**гепатиту В**	**гепатиту С**	**сифілісу**
			результат	**результат**	**результат**	**результат**

** Наведено перелік обов'язкових інфекційних агентів, але він може бути доповнений.*

Дата обстеження _____
Підписи виконуючої особи/ контролюючої особи _____/_____

Протокол СЕРОЛОГІЧНОГО ОБСТЕЖЕННЯ донорів

Установа, що здійснювала аналіз крові донора _____

Дата заготівлі крові _____

Номер донора відповідно до шрих-коду	**Група крові за системами**			**Антиеритроцитарні антитіла**		**АлАТ**
	АВ0	**Rh**	**Келл**	**анти-АВ0**	**анти-резус**	
	результат	**результат**	**результат**	**результат**	**результат**	**результат**

Дата обстеження _____
Підписи виконуючої особи/ контролюючої особи _____/_____

Після проведеної кваліфікації у ВЗК на компоненти крові, що призначені для видачі їх до ЗОЗ, оформлюється сертифікат якості. Орієнтовний зразок сертифіката якості компонента «ЕРИТРОЦИТИ» поданий нижче.

Установа, що здійснювала заготівлю крові і виготовлення компонента
(назва установи, відомче підпорядкування, адреса, телефони контактних осіб)

_____

Сертифікат якості № _____ від _____ р.
«Еритроцити»

Дата виготовлення: 02.04.14 Термін придатності до: 23.04.14 20.01.2210568, 20.01.2210569, 20.01.2210570, 20.01.2210571, 20.01.2210572, 20.01.2210576, 20.01.3205670, 20.01.3205671, 20.01.4202945 Дата виготовлення: 03.04.14 Термін придатності до: 24.04.14 20.01.1213263, 20.01.1213272, 20.01.1213278, 20.01.2210588, 20.01.2210590, 20.01.4202947

Кількіть доз 15 («список додається»)
Об'єм компонента в контейнері від 0,235 л до 0,3 л

Показники якості компонента

Досліджуваний параметр	Вимоги якості	Результат дослідження
Візуальний контроль	Відсутність гемолізу або помутніння у надосадовій рідині під час візуальної перевірки	Відповідає
Правильність паспортизації	Всі написи зроблені чітко, розбірливо, водостійким чорнилом синього або чорного кольору; всі передбачені графи етикетки заповнені; етикетка надійно приклеєна до контейнера	Відповідає
Контроль на стерильність	Стерильна	Відповідає
Герметичність контейнера	Герметичний	Відповідає
Об'єм	280 ±50 мл	Відповідає
Гемоліз наприкінці терміну зберігання	Менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання	Відповідає
Показник гемоглобіну	Не менше 45г/дозу	Відповідає
Рівень АЛТ	До 0,68 мМоль /год.-л	Відповідає
Антитіла до ВІЛ ½ та антигену ВІЛ1(р24)	Не виявлені	Відповідає
Поверхневий антиген до вірусу гепатиту В (HBsAg)	Не виявлений	Відповідає
Антитіла до вірусу гепатиту С (HCV)	Не виявлені	Відповідає
Антитіла до блідої спірохети	Не виявлені	Відповідає
Зберігання та стабільність	Зберігання при контрольованій температурі від 2 до 6 °С	Відповідає

Висновок: компонент відповідає вимогам наказу МОЗ України №211 від 09.03.2010 р., наказу МОЗ України №164 від 05.07.1999 р., наказу МОЗ України №385 від 01.08.2005 р., наказу МОЗ України №134 від 19.02.2013 р.

Підписи відповідальних осіб

Зав. відділу технічного контролю _____
ПІБ /підпис/штамп

Зав. відділу заготівлі крові _____
ПІБ /підпис/

Зав. лабораторії діагностики ВІЛ та гепатитів _____
ПІБ /підпис/

Зав. клініко-імунологічної лабораторії _____
ПІБ /підпис/

У випадку невідповідності параметрів контролю якості вимогам наказу МОЗ України від 09.03.2010 р. №211, заповнюється протокол контролю якості. Орієнтовний зразок протоколу якості компонента «ЕРИТРОЦИТИ» поданий нижче.

Установа, що здійснювала заготівлю крові і виготовлення компонента
(назва установи, відомче підпорядкування, адреса, телефони контактних осіб)

_____

Протокол контролю якості №299 від 08.05.14 р.
«Еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром у додатковому розчині (завись еритроцитів з видаленим тромболейкоцитарним шаром)»

Показники, що підлягають контролю якості компонента:

Досліджуваний параметр	Вимоги якості
Візуальний контроль	Відсутність гемолізу або помутніння у надосадовій рідині під час візуальної перевірки
Правильність паспортизації	Усі написи зроблені чітко, розбірливо, водостійким чорнилом синього або чорного кольору; всі передбачені графи етикетки заповнені; етикетка надійно приклеєна до контейнера
Контроль на стерильність	Стерильна
Герметичність контейнера	Герметичний
Залишкові лейкоцити	Менше $1,0\times10^9$ в дозі
Гемоліз наприкінці терміну зберігання	Менше 0,8% маси еритроцитів наприкінці терміну зберігання
Показник гемоглобіну	Не менше 43 г/дозу
Рівень АЛТ	До 0,68 мМоль /год.-л
Антитіла до ВІЛ ½ та антигену ВІЛ1(р24)	Не виявлені
Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg)	Не виявлений
Антитіла до вірусу гепатиту С (HCV)	Не виявлені
Антитіла до блідої спірохети	Не виявлені
Зберігання та стабільність	Зберігання при контрольованій температурі від 2 до 6 °С

Висновок: компонент відповідає вимогам наказів МОЗ України №164 від 05.07.1999 р., №385 від 01.08.2005 р., №134 від 19.02.2013 р.

На підставі вимог наказу МОЗ України №211 від 09.03.2010 р. компонент вважати умовно придатним

Р. №	Об'єм (л)	Дата виготовлення	Термін придатності до	Результат дослідження
20.01.2211097	0,248	08.05.14	19.06.14	Вміст лейкоцитів ($1,3*10^9$)

Підписи відповідальних осіб

Зав. відділу технічного контролю _____
підпис/ штамп / ПІБ

Зав. відділу заготівлі крові _____
підпис/ ПІБ

Зав. лабораторії діагностики ВІЛ та гепатитів _____
підпис/ ПІБ

Зав. клініко-імунологічної лабораторії _____
підпис/ ПІБ

6.2. Стандартні компоненти крові

Компоненти крові за своїм складом та функціональним призначенням поділяються на еритроцитовмісні середовища та коректори гемостазу.

6.2.0. Загальні принципи виготовлення і застосування еритроцитовмісних компонентів крові

6.2.0.1. Визначення і властивості

Характеризуються наявністю в них основної частини еритроцитів із дози крові та підпорядковуються загальним вимогам до умов їх зберігання, транспортування, терміну придатності, заходам безпеки та можливими ускладнення під час та після трансфузій.

6.2.0.2. Методи виготовлення

Визначаються різновидом компонента, передбачають використання режимів центрифугування та апаратів цитаферезу. Режими центрифугування визначаються відповідно до устаткування установи та узгоджується з інструкціями до центрифуг. Коригування процедури центрифугування має проходити валідацію та прописуватись у СОП.

6.2.0.3. Маркування компонента

Кожен контейнер із компонентом крові, отриманої від донора, що пройшов тестування на маркери інфекційних агентів, призначений для переливання або подальшої переробки, має містити етикетку із зазначенням такої інформації:

1. Назва закладу, що здійснював заготівлю/виготовлення компонента.
2. Назва компонента згідно зі встановленим переліком.
3. Індивідуальний номер та штрих-код донації, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою.
4. Об'єм.
5. Дата заготівлі.
6. Термін придатності.
7. Назва і склад консервуючого розчину.
8. Умови зберігання.
9. Група крові за системами АВ0, Rh (прописом: «Rh+поз.» або «Rh+нег.») та Келл (прописом: Келл поз. або Келл нег.).
10. Позначку про результати аналізів донора на «ВІЛ-1, ВІЛ-2 нег.», «HbsAg-нег.», «HCV-нег.», «Сифіліс-нег.», «АлАТ — у межах норми».
11. Індивідуальний номер та штрих-код компонента, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою.
12. Вказівки:
    - «Перед переливанням необхідно визначити: групу крові пацієнта; групову належність компонента. Провести пробу на сумісність крові донора і реципієнта за системою АВ0 та резус Rh0(Д), біологічну пробу»;
    - «Переливати через систему для переливання крові з діаметром пор фільтра не більше 170–200 мкм».

6.2.0.4. Зберігання і термін придатності

Еритроцитовмісні компоненти крові зберігають у вертикальному положенні при температурі від 2 °С до 6 °С. Термін придатності компонентів, заготовлених на розчині «Глюгицир» та CPD, становить 21 добу, на розчині CPDA-1 — 35 діб. Термін придатності еритроцитовмісних середовищ, виготовлених із використанням додаткових розчинів становить 42 доби. Заморожування дозволяє зберігати компоненти протягом 10 років і більше.

6.2.0.5. Транспортування

Еритроцитовмісні компоненти мають транспортуватися в умовах, що пройшли випробування та забезпечують температуру не вище 10 °С протягом 24 год. (максимальний час транспортування компонентів). Найкраще — у спеціальних автомобілях-холодильниках, автомобілях, обладнаних транспортним холодильником з електричним живленням або контейнером з ізоляцією, наповненим охолоджувальними елементами.

6.2.0.6. Контроль якості

Відбір зразків та частота проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. Показники контролю якості еритроцитовмісних компонентів залежать від його різновиду, загальним є визначення об'єму, гемоглобіну та гемолізу (наприкінці терміну зберігання).

6.2.0.7. Показання для застосування

Відновлення ОЦК, газотранспортної функції крові та лікування анемій.

6.2.0.8. Протипоказання

Абсолютних протипоказань для переливання компонентів крові немає.

Відносні протипоказання: Гострий і підгострий септичний ендокардит, прогресуючий дифузний гломерулонефрит, хронічна ниркова недостатність, хронічна і гостра печінкова недостатність, декомпенсація кровообігу, вади серця в стадії декомпенсації, міокардит і міокардіосклероз із порушенням загального кровообігу II–III ступеня, гіпертонічна хвороба III стадії, виражений атеросклероз судин головного мозку, крововиливи в мозок, тяжкі розлади мозкового кровообігу, нефросклероз, тромбоемболічна хвороба, набряк легенів, загальний амілоїдоз, гостро перебігаючий і дисемінований туберкульоз, гострий ревматизм тощо.

Еритроцити не рекомендують до застосування при різних типах підвищеної індивідуальної чутливості до плазми, підвищеній індивідуальній чутливості через алоімунізацію до антигенів лейкоцитів, замінній трансфузії в немовлят, крім випадку, якщо також додають плазму.

6.2.0.9. Засоби безпеки при застосуванні

1. Перед переливанням проведенням відповідних лабораторних досліджень слід підтвердити серологічну сумісність (проби на сумісність).
2. Компонент необхідно вводити за допомогою пристрою для переливання крові з діаметром пор фільтра 170–200 мкм, із дотриманням правил асептики. Зважаючи на утворення мікроагрегатів під час зберігання, для введення компонента бажано застосувати пристрій для переливання крові (ПК 23–01) з діаметром пор фільтра 20–40 мкм. При трансфузії компонента в обсязі, який перевищує 500 мл, застосування пристрою з фільтром для видалення мікроагрегатів є обов'язковим.
3. Під час переливання необхідно проводити нагляд за реципієнтом. Швидке переливання холодного компонента саме по собі може виявитися небезпечним.

6.2.0.10. Ускладнення

1. Переобтяження кровообігу.
2. Гемолітичні післятрансфузійні реакції.
3. Негемолітичні післятрансфузійні реакції (переважно застуда, лихоманка, кропивниця).
4. Алоімунізація антигенами HLA та антигенами еритроцитів.
5. Передача найпростіших збудників захворювань (наприклад, малярія) трапляється в рідкісних випадках.
7. Сепсис, спричинений ненавмисним бактеріальним забрудненням компонента.
8. Біохімічні порушення (наприклад, гіперкаліємія) після масивних трансфузій.
9. Післятрансфузійна тромбоцитопенічна пурпура.
10. Післятрансфузійна гостра дихальна недостатність (TRALI — Transfusion Related Acute Lung Injury).
11. Зараження іншими інфекційними агентами, які наразі є недослідженими або нерозпізнаними.

УВАГА! *При використання компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.2.1. Консервована донорська кров

6.2.1.1. Визначення і властивості

Консервованої донорська кров — це кров, заготовлена від відповідного донора з використанням стерильного та апірогенного контейнера (системи контейнерів) з консервуючим розчином. Використовується, головним чином, як сировина для виготовлення компонентів крові. Складові крові, вилученої з судинного русла донора, зберігають повноцінність протягом обмеженого терміну. Швидка інактивація Ф. VIII, пошкодження та руйнування лейкоцитів і тромбоцитів робить консервовану кров, що зберігалась більше 24 год., непридатною для отримання компонентів, призначених для корекції порушень гемостазу. Під час взяття крові першу порцію рекомендовано відбирати для лабораторного обстеження, що знижує ризик мікробної контамінації дози.

6.2.1.2. Спосіб отримання

Консервовану кров отримують шляхом проведення венепункції у донорів, попередньо відібраних за медичним обстеженням.

6.2.1.3. Маркування

Первинна етикетка, яка розміщується на контейнері з консервованою кров'ю, має містити таку інформацію:

– назва закладу, що здійснював заготівлю;
– дата заготівлі;
– індивідуальний номер та штрих-код донації, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою;
– група крові за системою АВ0;
– назва сировини/компонента згідно з затвердженим переліком;
– об'єм сировини/компонента (мл, доза);
– назва і склад консервуючого розчину.

Якщо донація відбулася поза межами ЗСК (виїзна бригада або ВТ), то на первинній етикетці контейнера слід зазначити також час донації, що дозволить визначити можливість кваліфікування отриманої ПСЗ та виготовлення тромбоцитів.

Кінцева етикетка відповідає п. 6.2.0.3.

6.2.1.4. Зберігання і термін придатності

Консервовану донорську кров зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С. Термін придатності консервованої крові, заготовленої на розчині «Глюгицир» та CPD, становить 21 добу, на розчині CPDA-1 — 35 діб.

Кров, призначену для подальшої переробки та виготовлення тромбоцитів, зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С не довше 4 год. до початку виготовлення компонента.

6.2.1.5. Транспортування

В умовах, що пройшли випробування та забезпечують температуру не вище 10 °С. Найкраще — у спеціальних автомобілях-холодильниках, автомобілях, обладнаних транспортним холодильником із електричним живленням або контейнером з ізоляцією, наповненим охолоджувальними елементами.

Кров, призначена для подальшого виготовлення тромбоцитів, має транспортуватися при температурі від 20 °С до 24 °С.

6.2.1.6. Контроль якості консервованої донорської крові

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)*	450 ± 10%	4%
2	Гематокрит л/л	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/д.)*	не менше 45	
4	Гемоліз наприкінці терміну зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

* *Нестандартна донація маркується відповідним чином.*

6.2.1.7. Показання для застосування

Консервована кров являє собою передусім сировину для виготовлення компонентів крові, а показання для її застосування у гемотерапії дуже обмежені. Вона має застосовуватися лише в тих випадках, коли спостерігається одночасно значний дефіцит еритроцитів та об'єму циркулюючої крові >25% (ОЦК). Також консервовану кров застосовують з метою виготовлення доз для педіатричного використання для замінного переливання новонародженим.

6.2.1.8. Протипоказання

1. Анемія без зменшення ОЦК.
2. Різні типи підвищеної індивідуальної чутливості до білків плазми.
3. Підвищена індивідуальна чутливість через алоімунізацію антигенами лейкоцитів.

6.2.1.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.1.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10, а також ускладнення у вигляді цитратної інтоксикації, яка можлива після переливання значних об'ємів консервованої крові новонародженим, а також хворим із порушеннями функції печінки.

6.2.2. Еритроцитовмісні компоненти крові

6.2.2.1. Еритроцити

6.2.2.1.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий з однієї дози консервованої донорської крові після видалення з неї більшої частини плазми. Містить еритроцити, наявні в одній дозі крові (гематокрит від 0,65 до 0,75 л/л), а також різну кількість тромбоцитів та лейкоцитів, що визначається умовами виготовлення компонента.

Доза еритроцитів має виготовлятися в один етап центрифугування, якомога швидше після закінчення донації. Плазму, виділену і заморожену протягом 4–6 год. з моменту донації, кваліфікують як ПСЗ. Під час зберігання еритроцитів можливе утворення мікроагрегатів.

6.2.2.1.2. Виготовлення методом центрифугування

6.2.2.1.2.1. Розділення на еритроцити та плазму

Кров центрифугують при температурі від 2 °С до 6 °С для її розділення на 2 фракції: еритроцити та плазма. Орієнтовні параметри центрифугування:

2000 g протягом 20 хв. (жорстке),
або 1250 g протягом 20 хв. (м'яке).

За допомогою екстрактора отриману плазму перевести у порожній супутній контейнер. Для забезпечення потрібного гематокриту компонента над шаром еритроцитів залишити 1,5 см плазми (30–50 мл) плазми.

УВАГА! *Внаслідок проведення валідації технології виготовлення компонента та результатів контрольних досліджень кожен ЗСК може точніше визначити об'єм плазми, що залишається над еритроцитами (наприклад, 50–70 мл), для забезпечення потрібного гематокриту.*

6.2.2.1.2.2. Розділення на еритроцити, плазму та ТЛШ

Кров центрифугують при температурі від 20 °С до 24 °С для її розділення на 3 фракції: еритроцити, ТЛШ та збіднену клітинами плазму. Орієнтовні параметри центрифугування:

2150 g протягом 20 хв.,

або 3000 g протягом 10 хв.

6.2.2.1.2.3. Розділення на еритроцити, тромбоцити та плазму

Кров центрифугують при температурі від 20 °С до 24 °С для її розділення на 2 фракції: еритроцити і збагачена на тромбоцити плазма. Орієнтовні параметри центрифугування:

680 g протягом 13 хв.

Застосовуючи екстрактор, отриману плазму перевести у порожній супутній контейнер та провести її повторне центрифугування для виготовлення тромбоцитів та збідненої на клітини плазми.

2400 g протягом 20 хв.

6.2.2.1.3. Макроскопічна оцінка еритроцитів

1. Після розташування у екстракторі кожну дозу відцентрифугованої крові слід піддати візуальному контролю, оцінюючи правильність поділу компонентів та цілісність контейнерів.
2. Осад еритроцитів має бути стабільним, не повинен скаламучуватися під час виймання контейнерів із центрифуги та розташування їх у екстракторі.
3. У разі неправильного розділення вміст контейнера ретельно перемішати й повторно відцентрифугувати.
4. Компоненти крові, що містяться в пошкоджених контейнерах, або такі, що містять плазму, вигляд якої не відповідає існуючим вимогам (наприклад, гемолізовану), підлягають списанню, знезараженню та утилізації.

6.2.2.1.4. Маркування компанента

Відповідно до п. 6.2.0.3.

УВАГА!

А. Якщо одну одиницю еритроцитів поділено на дози для педіатричного використання, то ці дози слід етикетувати відповідним чином, беручи до уваги усі поділи; перший поділ позначається цифрами 1,2,3 і т.д.

Б. До компонента, призначеного для клінічного застосування, рекомендовано додавати інформаційну листівку.

6.2.2.1.5. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.0.4.

6.2.2.1.6. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.1.7. Контроль якості еритроцитів

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	280 ± 50 мл	4%
2	Гематокрит л/л	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/д.)	Не менше 45	
4	Гемоліз наприкінці зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

6.2.2.1.8. Показання для застосування

Еритроцити використовують для відновлення кисневого балансу ємності крові внаслідок крововтрати, а також для лікування анемії.

6.2.2.1.9. Протипоказання

Еритроцити не рекомендується призначати:

– у разі виявлення алоімунізації лейкоцитарними антигенами;
– пацієнтам із підвищеною чутливістю до білків плазми;
– під час замінного переливання новонародженим, можливі трансфузії лише в разі додавання відповідного об'єму плазми.

6.2.2.1.10. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.2.1.11. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.2. Еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром

6.2.2.2.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий з дози консервованої донорської крові після видалення з неї більшої частини плазми та тромболейкоцитарного шару, що дозволяє зменшити вміст лейкоцитів і тромбоцитів; водночас зменшується ймовірність утворення мікроагрегатів під час зберігання компонента. Гематокрит отриманого таким чином компонента має становити 0,65–0,75 л/л. Абсолютна кількість лейкоцитів не повинна перевищувати $1{,}0\times10^9$ у дозі, що не попереджує алоімунізацію антигенами HLA, але зменшує ризик негемолітичних (температурних) реакцій. Усунення ТЛШ являє собою перший етап отримання компонента, збідненого на лейкоцити методом фільтрації.

6.2.2.2.2. Метод виготовлення

Після центрифугування крові в умовах, наведених у п. 6.2.2.1.2.1, за допомогою екстрактора перевести збіднену на лейкоцити плазму в один із порожніх супутніх контейнерів, а в інший — ТЛШ. Закрити затискачем з'єднувальну трубку між контейнером, що містить еритроцити, і контейнером, що містить ТЛШ. У контейнер із еритроцитами додати 30–50 мл плазми. Відокремити контейнери за допомогою діелектричного запаювача. Відокремити контейнер, що містить ТЛШ, об'єм цієї фракції має становити 100 мл ± 10%.

УВАГА!

А. Внаслідок проведення валідації технології виготовлення компонента та результатів контрольних досліджень, кожен ЗСК може точніше визначити об'єм плазми, що залишається над еритроцитами (наприклад, –50–70 мл), для забезпечення потрібного гематокриту.

Б. В екстрених випадках можливе видалення ТЛШ у відкритій системі з дотриманням вимог зазначених у п. 6.2.2.1.2.1.

В. Якщо планується виготовлення із ТЛШ тромбоцитів, центрифугування проводити за умовами п. 6.2.2.1.2.2.

Г. Для отримання еритроцитів із видаленим ТЛШ рекомендується використовувати контейнери типу «верх–низ».

6.2.2.2.3. Маркування еритроцитів із видаленим ТЛШ

Відповідно до п. 6.2.0.3

6.2.2.2.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити з видаленим ТЛШ зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С.

Термін придатності компонента, отриманого у закритій системі з консервованої крові, заготовленої на розчинах «Глюгицир» та CPD, становить 21 добу, а заготовленої на розчині CPDA-1 — 35 діб.

Термін придатності компонента, отриманого у відкритій системі, — 24 год. з моменту закінчення його виготовлення.

6.2.2.2.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.2.6. Контроль якості еритроцитів із видаленим ТЛШ

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють з згідно п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	250 ± 50	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
2	Гематокрит	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/дозу)	Не менше 43	
4	Кількість лейкоцитів	Менше $1,0\times10^9$ у дозі	
5	Гемоліз наприкінці зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 одиниці/місяць

6.2.2.2.7. Показання для застосування

Використовуються з метою поповнення кисневої ємкості втраченої крові, а також для лікування анемії, особливо для переливання дітям (за відсутності лейкофільтрованого компонента).

6.2.2.2.8. Протипоказання

Компонент не рекомендується:

– у випадках різного типу підвищеної чутливості до білків плазми;

– під час замінних трансфузій новонародженим, можливе переливання лише в разі додавання відповідного об'єму плазми;

– при трансфузіях недоношеним дітям, а також тим реципієнтам, у яких спостерігається ризик надлишку заліза.

6.2.2.2.9. Засоби безпеки при застосуванні

1. Перед переливанням проведенням відповідних лабораторних досліджень слід підтвердити серологічну сумісність (проби на сумісність).
2. Переливати слід через систему з фільтром 20–40 мкм, що затримує мікроагрегати.

6.2.2.2.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.3. Еритроцити у додатковому розчині (завись еритроцитів)

6.2.2.3.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий після видалення більшої частини плазми з однієї дози консервованої донорської крові з подальшим додаванням відповідного об'єму ресуспендуючого розчину, який дозволяє зберігати еритроцити протягом 42 діб. Об'єм додаткового розчину може коливатися від 80 до 100 мл, залежно від виробника комплекту для заготівлі крові.

Доза містить еритроцити, наявні в одній дозі консервованої крові, а також різну кількість тромбоцитів та лейкоцитів, що визначається умовами виготовлення компонента.

6.2.2.3.2. Метод виготовлення

Для заготівлі консервованої крові використовують комплект, що містить контейнер із додатковим розчином. Донорську кров заготовляють у контейнер з розчином CPD, розділяють її на компоненти шляхом центрифугування або седиментації, як зазначено у п. 6.2.2.1.2.1.

За допомогою екстрактора переводять плазму в порожній супутній контейнер, а до контейнера з еритроцитами додають додатковий розчин і ретельно перемішують. При режимі центрифугування для виготовлення тромбоцитів методом, зазначеним у п. 6.2.2.1.2.3, порожній контейнер з-під додаткового розчину використовують для переведення плазми, збідненої на клітини.

6.2.2.3.3. Маркування

Відповідно до п. 6.2.0.3

6.2.2.3.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити у додатковому розчині зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С. Термін придатності еритроцитів у додатковому розчині становить 42 доби.

6.2.2.3.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.3.6. Контроль якості еритроцитів у додатковому розчині

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об’єм (мл)	Визначається за застосованою методикою	4%
2	Гематокрит	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/дозу)	Не менше 45	
4	Гемоліз наприкінці терміну зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	

6.2.2.3.7. Показання для застосування

Еритроцити у додатковому розчині використовуються з метою поповнення об’єму та кисневого ємкості втраченої крові, а також для лікування анемії.

Під час замінного переливання новонародженим можливе переливання лише протягом 3-х діб після донації та в разі заміни додаткового розчину відповідним об’ємом ПСЗ у день використання компонента.

6.2.2.3.8. Протипоказання

Не рекомендується призначати:
- у разі виявлення алоімунізації лейкоцитарними антигенами;
- пацієнтам з підвищеною чутливістю до білків плазми.

6.2.2.3.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.2.3.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.4. Еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром у додатковому розчині (завись еритроцитів із видаленим тромболейкоцитарним шаром)

6.2.2.4.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий з однієї дози консервованої донорської крові після її центрифугування, видалення плазми і ТЛШ та введення до еритроцитів додаткового розчину.

Об’єм додаткового розчину може коливатися від 80 до 100 мл залежно від виробника комплекту для заготівлі крові.

Видалення ТЛШ дозволяє зменшити кількість лейкоцитів і тромбоцитів, що зменшує ризик температурних післятранфузійних реакцій та ймовірність утворення мікроагрегатів під час зберігання компонента.

Вважається, що абсолютна кількість лейкоцитів в одній дозі не повинна перевищувати $1,0 \times 10^9$ у дозі.

6.2.2.4.2. Метод виготовлення

Донорську кров, взяту в комплект контейнерів із розчином CPD, розділяють на компоненти шляхом центрифугування, як зазначено у п. 6.2.2.1.2.1. Після центрифугування здійснити візуальну оцінку, спираючись на зауваження, зазначені у п. 6.2.2.1.2.3. За допомогою екстрактора переводять плазму та ТЛШ в порожні супутні контейнери, а до контейнера з еритроцитами додають додатковий розчин і ретельно перемішують.

УВАГА!

А. Якщо результати аналізів контролю якості вказують на те, що гематокрит компонента надто високий, то слід скоригувати дії: перед введенням додаткового розчину в контейнер з еритроцитами додати 10–15 мл плазми, що описується у відповідній процедурі (протоколі).

Б. Якщо планується виготовлення із ТЛШ тромбоцитів, центрифугування проводити за умов, наведених у п. 6.2.2.1.2.2.

Плазму, відокремлену від тромбоцитів та заморожену протягом відповідного (4–6 год.) часу з моменту донації, можна кваліфікувати як ПСЗ.

6.2.2.4.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3.

6.2.2.4.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром у додатковому розчині зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С. Термін придатності компонента становить 42 доби.

6.2.2.4.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.4.6. Контроль якості еритроцитів із видаленим ТЛШ у додатковому розчині

Відбір зразків та частота проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об’єм (мл)	Визначається застосованою методикою	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,50–0,70	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/дозу)	Не менше 43	
4	Кількість лейкоцитів	Менше $1,0 \times 10^9$ у дозі	
5	Гемоліз наприкінці терміну зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 одиниці/місяць

6.2.2.4.7. Показання для застосування

Компонент використовується з метою поповнення ОЦК, кисневої ємкості втраченої крові, а також для лікування анемії. Враховуючи реологічні властивості, є оптимальним еритроцитовмісним компонентом для поповнення гострих крововтрат у дорослих (за відсутності лейкофільтрованого компонента).

6.2.2.4.8. Протипоказання

Компонент не рекомендовано:

1) при замінних трансфузіях новонародженим, можливе переливання лише протягом 3-х діб після донації та в разі заміни додаткового розчину відповідним об'ємом ПСЗ у день використання компонента;

2) підвищеній чутливості до білків плазми.

6.2.2.4.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.2.4.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.5. Еритроцити, аферез

6.2.2.5.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий з крові одного донора методом автоматичного аферезу із застосуванням клітинних сепараторів різних типів. Типовий еритроцитаферез дозволяє заготовляти 1 або 2 дози компонента від одного донора, що дозволяє обмежити реакцію реципієнта на антигени донора і зменшити ризик перенесення гемотрансфузійних вірусних інфекцій. Метод еритроцитаферезу найчастіше використовують для отримання 2-х доз аферезних еритроцитів, збіднених на лейкоцити, або 2-х доз еритроцитів, збіднених на лейкоцити у додатковому розчині.

Під час аферезу можлива одночасна заготівля еритроцитів, тромбоцитів і плазми від одного донора, що залежить від його антропометричних даних і показників еритроцитів, тромбоцитів та рівня гематокриту перед донацією. Перелік та об'єм отриманих компонентів залежать від типу використовуваного сепаратора та запрограмованого методу сепарації.

6.2.2.5.2. Метод виготовлення

Кров, заготовлена від донора, перемішується з консервуючим розчином та фракціонується на відповідні компоненти. Усі дії програмуються і виконуються автоматично.

Під час сепарації або після її закінчення зазвичай вводиться додатковий розчин у об'ємі 80–110 мл, залежно від кількості заготовлених еритроцитів та гематокриту, який необхідно забезпечити у компоненті. Для зменшення кількості залишкових лейкоцитів при сепарації проводиться фільтрація компонента.

Інформація з виконання процедур аферезу надається в інструкціях виробника. Рекомендується їх чітке дотримання, особливо з питань різновиду та кількості застосованого розчину антикоагулянту та/або інших інфузійних розчинів, тривалості процедури та кількості циклів процедури.

Для отримання 2-х доз компонента «Еритроцити, аферез» від одного донора необхідно дотримуватись валідованих принципів підбору донора на процедуру та інтервалів між окремими донаціями.

Невідповідність або відхилення від виконання інструкцій можуть спричинити появу ускладнень у донора або негативно вплинути на якість отриманих компонентів.

6.2.2.5.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3.

УВАГА! *При отриманні з однієї донації 2-х доз еритроцитів їх слід позначити: «Еритроцити, аферез — доза 1», «Еритроцити, аферез — доза 2».*

6.2.2.5.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені аферезні еритроцити зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С. Термін придатності становить 21 добу, еритроцитів, аферез у додатковому розчині — 42 доби.

6.2.2.5.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.5.6. Контроль якості еритроцитів, аферез

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,50–0,70	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/дозу)	Не менше 40	
4	Кількість лейкоцитів	Менше $1,0 \times 10^6$ у дозі	
5	Гемоліз наприкінці терміну зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 одиниці/місяць

6.2.2.5.7. Показання для застосування

Цей компонент застосовується з метою поповнення кисневої ємкості після крововтрати, а також при лікуванні анемії.

Особливо рекомендується хворим, які потребують переливання якнайменше 2-х доз компонента (можна надати 2 дози від одного донора).

Еритроцити, збіднені на лейкоцити, отримані методом аферезу, можуть використовуватися з метою запобігання інфікування цитомегаловірусом (ЦМВ), замість еритроцитів від ЦМВ-негативного донора.

6.2.2.5.8. Протипоказання

Компонент не рекомендовано використовувати:

– при підвищеній чутливості до білків плазми;

– замінному переливанні новонародженим, можливе переливання лише протягом 3-х діб після донації та в разі заміни додаткового розчину відповідним об'ємом ПСЗ у день використання компонента.

6.2.2.5.9. Засоби безпеки при застосуванні

1. Перед переливанням проведенням відповідних лабораторних досліджень слід підтвердити серологічну сумісність (проби на сумісність).
2. Переливати слід через систему з фільтром 20–40 мкм, що затримує мікроагрегати.

6.2.2.5.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.6. Еритроцити відмиті

6.2.2.6.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий з однієї дози консервованої донорської крові після її центрифугування, видалення плазми та відмивання еритроцитів розчином натрію хлориду 0,9%, що передбачає видалення білків плазми. У такий спосіб також видаляється значна кількість тромбоцитів та мікроагрегатів, лейкоцитів, що не виключає ризик алоімунізації антигенами HLA. Відмивання спричиняє певні втрати самих еритроцитів.

6.2.2.6.2. Методи виготовлення

Сировиною для виготовлення компонента є всі різновиди еритроцитовмісних компонентів після їх центрифугування та максимального видалення плазми і ТЛШ методами, наведеними

у п. 6.2.2.1.2 з подальшою процедурою відмивання. Відмивання еритроцитовмісних компонентів, які досягають кінцевого терміну придатності, спричиняє особливо великі втрати клітин. Рекомендовано проводити не більше однієї процедури відмивання, якщо термін зберігання еритроцитів перевищує 5–7 діб при використанні консервуючих розчинів без аденіну, та 14 діб — для розчинів з аденіном. При виготовленні еритроцитів відмитих із компонентів, з яких попередньо був видалений ТЛШ на етапі первинного фракціонування консервованої донорської крові, буває достатньо однієї процедури відмивання.

Відмивати еритроцити слід, попередньо здійснивши проби на сумісність. Виконувати відмивання рекомендовано у закритій системі.

Еритроцити відмиті можуть бути виготовлені:

– мануальним методом (із використанням центрифуги);
– автоматичним методом (із використанням клітинного сепаратора).

УВАГА!

А. Кількість циклів відмивання має бути виконана відповідно до клінічних потреб. Зазвичай проводять 1–3 цикли відмивання (встановлену кількість циклів слід прописати у відповідній СОП). Збільшення кількості циклів відмивання призводить до зменшення вмісту еритроцитів у компоненті.

Б. З метою покращення реологічних властивостей компонента еритроцити відмиті можливе ресуспендування клітин у розчині натрію хлориду 0,9% або іншому ізотонічному розчині. Об'єм доданого розчину має забезпечувати гематокрит відповідно до клінічних потреб.

6.2.2.6.2.1. Відмивання еритроцитів мануальним методом у відкритій системі

1. З'єднувальну трубку контейнера К-250 з'єднати з контейнером із еритроцитовмісним компонентом. Перевести вміст контейнера з еритроцитами в контейнер К-250 та єднати його з контейнером розчину натрію хлориду 0,9%, температура якого має бути від 2 °С до 6 °С. Перевести 200 мл розчину натрію хлориду 0,9% у контейнер з еритроцитами і перемішати.
2. За допомогою запаювача відокремити обидва контейнери.
3. Контейнер із зависсю центрифугувати при 2000 g протягом 5 хв. при температурі від 2 °С до 6 °С.
4. За допомогою екстрактора та відповідного комплекту для виготовлення компонентів (наприклад, компопласт) видалити надосад до трансферного контейнера.
5. Процедуру відмивання повторити.
6. У процесі переміщення надосадової рідини, використовуючи затискач, відібрати зразки надосаду на дослідження залишкових білків та вільного гемоглобіну.
7. За допомогою запаювача герметизувати з'єднувальну трубку якомога ближче до контейнера з еритроцитами відмитими.

УВАГА! *Вся процедура може виконуватись у закритій системі за наявності контейнерів з розчином натрію хлориду 0,9% та додатковим розчином спеціальної конфігурації, що дозволяє використання зварювача.*

6.2.2.6.2.2. Відмивання еритроцитів автоматичним методом

Автоматичне відмивання еритроцитів можливе завдяки використанню спеціальних центрифуг із постійним потоком відмиваючого розчину, спеціальних пристроїв або клітинних сепараторів. Такі процедури передбачають використання фірмових комплектів для відмивання еритроцитів (комплекти одноразового використання). Такий комплект складається зі стерильної системи пластикових з'єднувальних трубок, резервуара для центрифугування, контейнера для відмиваючого розчину та приймального контейнера зі штучного матеріалу. Під'єднання комплекту та експлуатація обладнання здійснюється згідно з інструкцією виробника.

Для відмивання однієї дози еритроцитів потрібно 1500–2000 мл розчину натрію хлориду 0,9%. Отриманий компонент містить еритроцити, ресуспендовані у розчині натрію хлориду 0,9%, деякі пристрої передбачають введення додаткового розчину у стерильних умовах.

6.2.2.6.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3 із зазначенням часу виготовлення компонента.

6.2.2.6.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити відмиті зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С.

Термін придатності:

1. Для еритроцитів відмитих, отриманих мануальним методом у відкритій системі: не більше 24 год., якщо відмивання та зберігання проводилось при температурі 4 °С, та не більше 6 год., якщо відмивання та зберігання проводилось при температурі 18 °С і вище.
2. Для еритроцитів відмитих, отриманих автоматичним методом, — 24 год. з моменту завершення виготовлення компонента.

УВАГА! *Якщо вся процедура виконувалася у закритій системі, а на останньому етапі для ресуспендування еритроцитів використано додатковий розчин у відкритій системі, допускається зберігання компонента до 24 год.*

6.2.2.6.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.6.6. Контроль якості відмитих еритроцитів

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	Усі дози
2	Гематокрит	0,65–0,75	
3	Гемоглобін (г/дозу)	Не менше 40	
4	Вміст лейкоцитів	Менше $1,0 \times 10^6$ у дозі	
5	Вміст білка	Менше 0,5 г/д	
6	Вільний гемоглобін	Не більше 0,4 г/дозу	

6.2.2.6.7. Показання до застосування

Еритроцити відмиті рекомендують виключно для поповнення нестачі еритроцитів у хворих з антитілами, спрямованими проти білків плазми, особливо анти-IgA, а також хворим із тяжкими симптомами алергічних реакцій, що виявляються після переливань компонентів крові.

6.2.2.6.8. Протипоказання

При проведені процедури відмивання компонент фактично звільняється від білків плазми, тому не має протипоказань для хворих із підвищеною чутливістю до них.

6.2.2.6.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.2.6.10. Ускладнення

1. Переобтяження кровообігу.
2. Гемолітичні післятрансфузійні реакції.
3. Алоімунізація антигенами HLA та антигенами еритроцитів.
4. Передача найпростіших (наприклад, малярія) трапляється в рідкісних випадках.
5. Сепсис, спричинений ненавмисним бактеріальним забрудненням компонента.

6. Зараження іншими інфекційними агентами, які наразі є недослідженими або нерозпізнаними.

УВАГА! *При використанні компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.2.2.7. Еритроцити, збіднені на лейкоцити

6.2.2.7.1. Визначення і властивості

Даний компонент, з якого видалена більша кількість лейкоцитів та тромбоцитів, зменшує ймовірність накопичення цитокінів та утворення мікроагрегатів під час зберігання компонента, а також знижує ризик алоімунізації антигенами HLA і ризик зараження ЦМВ після трансфузії. Кількість лейкоцитів у компоненті Еритроцити, збіднені на лейкоцити має містити не більше $1,0 \times 10^6$ у дозі.

6.2.2.7.2. Метод виготовлення

Отримати еритроцити, збіднені на лейкоцити, з вмістом лейкоцитів менше $1,0 \times 10^6$ у дозі можливо лише за допомогою спеціальних фільтрів, що є основною складовою комплектів для фільтрації. Комплект для заготівлі крові обладнаний контейнером для еритроцитів, збіднених на лейкоцити, або вимагає під'єднання порожнього трансферного контейнера. Застосування фільтра має відбуватися у точній відповідності до інструкції виробника.

Використання одного фільтра можливе для видалення лейкоцитів тільки з одної дози еритроцитів.

Впровадження в роботу кожної нової серії фільтрів можливе після процедури випробування (валідації), яка має підтвердити ефективність фільтрації (контроль якості як мінімум 6 перших доз еритроцитів, збіднених на лейкоцити, отриманих при використанні фільтрів нової серії), та по можливості визначити її оптимальні умови.

Видалення лейкоцитів рекомендується здійснювати протягом 48 год. після донації за умов зберігання еритроцитів при температурі 4 °С, у замкнутій системі: після з'єднання фільтрувального комплекту з контейнером/контейнерами за допомогою зварювача або спеціального пристрою «Лейкосеп». Термін придатності отриманого компонента відповідає терміну придатності дози еритроцитів, яку піддали фільтрації, а проби на сумісність здійснюються безпосередньо перед переливанням еритроцитів, збіднених на лейкоцити.

При використанні пристрою «Лейкосеп» фільтрацію проводять після центрифугування консервованої крові відповідно до п. 6.2.2.1.2.1.

Для фільтрації можливе призначення доз еритроцитів, що попередньо зберігалися не довше 3-х діб. Якщо приєднання лейкофільтра відбувається у відкритій системі (наприклад, IMUGARD III–RC), термін зберігання становить не більше 24 год. з моменту фільтрації.

Найкраще розпочинати фільтрацію після попереднього виконання проб на сумісність.

6.2.2.7.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3.

6.2.2.7.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити, збіднені на лейкоцити, зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С.

Термін придатності:

1) для компонентів, виготовлених у відкритій системі, — 24 год. з моменту закінчення приготування;

2) для компонентів, виготовлених у закритій системі, термін придатності відповідає терміну основного компонента та залежить від складу консервуючого розчину.

6.2.2.7.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.7.6. Контроль якості еритроцитів, збіднених на лейкоцити

1. Якщо перед фільтрацією виконано проби на сумісність, користуючись зразками основної дози еритроцитів, — відокремити зі з'єднувальної трубки зразок, призначений для контролю якості (у разі потреби).

2. Якщо лейкоцити видалено у закритій системі (перш ніж компонент іде на зберігання), — зробити зразки, призначені для проб на сумісність, а також у разі потреби 1 зразок для аналізів контролю якості.

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	250 ± 50	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,65–0,75	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін	Не менше 43 г/дозу	
4	Кількість лейкоцитів	Менше $1,0 \times 10^6$/дозу	
5	Гемоліз наприкінці зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 одиниці/місяць

6.2.2.7.7. Показання для застосування

1. При лікуванні хворих з анемією, у яких виявлено антитіла анти-HLA або є підозра до їх наявності.
2. Під час потенційних багаторазових трансфузій у реципієнтів (особливо для багаторазових трансфузій тромбоцитів), з метою їх захисту від алоімунізації антигенами HLA.
3. Для трансфузій у плід, а також для трансфузій новонародженим та дітям.
4. З метою захисту від зараження вірусом цитомегалії (ЦМВ) замість еритроцитів від ЦМВ-негативного донора.

6.2.2.7.8. Протипоказання

Відповідно до п. 6.2.0.8.

6.2.2.7.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

Якщо хворому одночасно передбачене переливання інших компонентів крові, то вони також мають бути збіднені на лейкоцити.

6.2.2.7.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.8. Еритроцити, збіднені на лейкоцити у додатковому розчині

6.2.2.8.1. Визначення і властивості

Даний компонент, з якого видалена більша кількість лейкоцитів та тромбоцитів, зберігає властивості еритроцитів, збіднених на лейкоцити, і за рахунок введення додаткового розчину дозволяє подовжити термін їх зберігання до 42 діб.

6.2.2.8.2. Метод виготовлення

Отримати еритроцити, збіднені на лейкоцити у додатковому розчині, можливо за допомогою спеціальних вмонтованих фільтрів, що входять до складу системи контейнерів для заготівлі консервованої донорської крові. Процес фільтрації повинен здійснюватись не раніше 1,5–2-х год. після донації перед проведенням центрифугування. Залежно від виробника комплекту для заготівлі крові та характеристик самого фільтра, зберігання крові до фільтрації та процес фільтрації можуть проходити при температурах 4 °С та від 20 °С до 24 °С.

Для проведення фільтрації підвішують контейнер з консервованою донорською кров'ю на штативну дошку на висоті 0,9–1,5 м. Наповнюючи лейкофільтр, дають крові стекти під дією сили тяжіння до трансферного контейнера, доки основний контейнер повністю не спорожніє. Після закінчення фільтрації у вертикальному положенні настискають на трансферний контейнер, щоб видалити

повітря, доки неушкоджена кров не дійде до контейнера для заготівлі крові. За допомогою запаювача відокремлюють трубки між фільтром та трансферним контейнером із фільтрованою кров'ю.

Проводять центрифугування відповідно до п. 6.2.2.1.2.1. За допомогою екстрактора переводять плазму в порожній супутній контейнер, а до еритроцитів додають додатковий розчин і ретельно перемішують.

6.2.2.8.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3.

6.2.2.8.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити, збідненні на лейкоцити у додатковому розчині, зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С. Термін придатності компонента становить 42 доби.

6.2.2.8.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.2.2.8.6. Контроль якості еритроцитів, збіднених на лейкоцити у додатковому розчині

Відбір зразків та частоту проведення досліджень здійснюють згідно з п. 6.1.2. У зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Визначається застосованою методикою	1% усіх одиниць
2	Гематокрит	0,50–0,70	4% усіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
3	Гемоглобін (г/дозу)	Не менше 40 г/дозу	
4	Кількість лейкоцитів	Менше $1,0 \times 10^6$ у дозі	
5	Гемоліз наприкінці зберігання	< 0,8% маси еритроцитів	4 одиниці/місяць

6.2.2.8.7. Показання для застосування

1. При лікуванні хворих з анемією, у яких виявлено антитіла анти-HLA або є підозра до їх наявності.
2. Під час потенційних багаторазових трансфузій у реципієнтів з метою їх захисту від алоімунізації антигенами HLA.
3. Для трансфузій дітям старшого віку.
4. З метою захисту від зараження вірусом цитомегалії (ЦМВ) замість еритроцитів від ЦМВ-негативного донора.

6.2.2.8.8. Протипоказання

Відповідно до п. 6.2.0.8.

6.2.2.8.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

Якщо хворому одночасно передбачене переливання інших компонентів крові, то вони також мають бути збіднені на лейкоцити.

6.2.2.8.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.9. Еритроцити заморожені

6.2.2.9.1. Визначення і властивості

Даний компонент отримують шляхом охолодження клітин із кріозахисним середовищем та зберігання у морозильниках при температурі від –65 °С і нижче або кріоморозильниках від –140 °С відповідно до спеціальних, затверджених в установленому порядку методів кріоконсервування. Для зберігання еритроцитів можливе використання спеціального кріогенного обладнання для рідкого азоту. Гліцерин — кріопротектор, що запобігає пошкодженню еритроцитів під час охолодження та зберігання у замороженому стані. Залежно від температури зберігання заморожених еритроцитів застосовують середовища з кінцевою концентрацією гліцерину у компоненті близько 40% або 20%. Відповідно до складу кріозахисного середовища визначається застосування певних методів насичення клітин кріопротектором (гліцеринізація), його відмивання (дегліцеринізація), використання обладнання для охолодження тощо. Відмінності між способами заморожування еритроцитів наведено у таблиці 6.3.

Перед використанням еритроцити розморожують, відмивають (дегліцеринізують) і ресуспендують у розчині натрію хлориду 0,9% або іншому ізотонічному розчині. Розморожені і відмиті еритроцити майже цілком позбавлені білків плазми, лейкоцитів і тромбоцитів, але містять життєздатні лімфоцити, що можуть спровокувати хворобу «трансплантат проти господаря».

Таблиця 6.3

Методи заморожування еритроцитів відповідно до умов їх зберігання

	–65 °С і нижче	**–140 °С і нижче**
Кінцева концентрація гліцерину (маса/об'єм)	Близько 40%	До 20%
Матеріал контейнерів для заморожування	Полівініл хлорид (ПВХ), поліолефін, тефлон	Тефлон, поліолефін
Швидкість заморожування	Повільна	Відносно висока
Кінцева температура заморожування	–80 °С	Від –140 °С і нижче
Охолоджувальне обладнання*	Механічні низькотемпературні морозильники	Механічні кріоморозильники, ємності з рідким азотом
Допустимий температурний максимум при зберіганні	–65 °С	–120 °С
Обладнання для зберігання	Механічна низькотемпературні морозильники	Кріоморозильники, пари азоту, рідкий азот
Транспортування в замороженому стані	Сухий лід	Рідкий азот, його пара
Термін зберігання у замороженому стані	До 10 років і довше	До 10 років і довше
Апаратура для дегліцеринізації	Потрібна	Не обов'язкова

** У будь-якому разі можна скористатися також апаратурою з контрольованою швидкістю процесу заморожування.*

УВАГА! *Способи заморожування при температурах від –85 °С і нижче передбачають використання спеціальних кріогенних контейнерів, додаткового пакета та касети-формера, які використовуються згідно з інструкцією виробника.*

6.2.2.9.2. Методи виготовлення

Для заморожування використовують компоненти еритроцити або еритроцити з видаленим тромболейкоцитарним шаром з гематокритом 75 ± 5%, після зберігання при температурі від 2 ºС до 6 ºС протягом 6 діб (бажано у перші 2 доби). Для досягнення відповідного рівня гематокриту можливе додаткове ущільнення компонента перед заморожуванням шляхом центрифугування (п. 6.2.2.1.2.1) та видалення отриманого надосаду.

УВАГА! *Відразу після венепункції необхідно провести відбір зразка крові без антикоагулянту для отримання сироватки. Отриману сироватку по 2 мл поміщують у кріогенні пробірки 4 шт., заморожують (найкраще у тих самих умовах, що й компонент) та використовують*

у наступних дослідженнях на предмет наявності не знаних на сьогодні маркерів інфекційних захворювань. Якщо сироватка не була заготовлена, тоді аналогічним способом (4 шт. по 2 мл) заморожують зразки плазми, отримані протягом 24 год. з відповідної дози крові.

6.2.2.9.2.1. Підготовка еритроцитів до заморожування

Контейнер із компонентом та кріозахисний розчин підігрівають одним зі способів: у водяному термостаті з регуляцією температури 37 ºС та помішуванні протягом 10–20 хв., у приладі для підігрівання плазми при температурі 36 ºС протягом 5 хв., у сухому термостаті при температурі 37 ºС протягом 10–15 хв. або при кімнатній температурі протягом 1–1,5 год. При використанні «водяної бані» контейнери поміщують у додаткові пакети (2 шт.) для захисту від води. При гліцеринізації температура еритроцитів та розчинів має бути в межах від 20 ºС до 26 ºС.

6.2.2.9.2.1.1. Еритроцити, заморожені при температурі від –140 °С і нижче

УВАГА! *Усі дії необхідно виконувати з використанням зварювача.*

Методи передбачають використання кріозахисних середовищ із кінцевою концентрацією гліцерину до 20%, які відрізняються модифікаціями вмісту. Рекомендується використовувати зареєстровані готові розчини, виготовлені фірмами-виробниками, що мають сертифікати якості та спеціальне обладнання для гліцеринізації, але можливе проведення процедур мануальним методом.

1. Поєднати контейнер з клітинами та флакон з кріозахисним середовищем. Постійно перемішуючи контейнер на автоматичних вагах-помішувачах повільно краплями додати 50–70 мл кріозахисного середовища, зупинити додавання на 2 хв., потім повільно додати решту. Абсолютний об'єм доданого кріозахисного середовища має бути еквівалентним об'єму компонента.
2. Перевести суміш до кріогенного контейнера для заморожування в об'ємі, рекомендованому інструкцією виробника. З кріогенного контейнера видалити повітря у використаний гемоконтейнер та за допомогою запаювача герметизувати контейнер. Загальний час повної гліцеринізації еритроцитів між закінченням введення кріозахисного середовища та початком заморожування має становити не більше 20 хв.
3. Розмістити етикетку на контейнері. Заповнений, промаркований та герметизований контейнер поміщують у додатковий пакет. Видаляють повітря, пакет герметизують і разом з 2 промаркованими кріопробірками з сироваткою, заготовленою під час венепункції, або плазмою, заготовленою під час фракціонування крові, поміщають у касету, промарковану відповідно до етикетки на контейнері. Інші кріопробірки зберігають окремо.

Заповнену, промарковану касету поміщають у кріоморозильник з температурою від –140 °С та нижче або у кріогенні резервуари в пари рідкого азоту, де і зберігають до 10 років. Для зразків крові з рідким фенотипом або за умови регулярного контролю температури, що не перевищувала –140 °С, час зберігання може бути подовжений. Причина та час подовженого зберігання мають бути зазначені у відповідній документації.

УВАГА! *У разі проведення контрольованого заморожування еритроцитів із використанням автоматизованих заморожувачів, діяти згідно з інструкцією виробника апарата.*

Для розморожування необхідний зразок вилучають з кріоморозильника/кріогенного сховища та залишають при кімнатній температурі на 2–3 хв. для уникнення розтріскування контейнера внаслідок різкого перепаду температур. Після чого касету поміщають у водяному/сухому термостаті або у нагрівачі для плазми при температурі 37 ºС. Через 1–3 хв. вилучити пакет з касети та продовжити розморожувати до досягнення рідкого стану компонента (близько 20 хв.), не допускати перегріву еритроцитів.

Відмивання еритроцитів здійснюють за допомогою серії розчинів із прогресуючим зниженням осмолярності, виготовлених комерційними фірмами, за наявності сертифікатів якості. Склад розчинів може відрізнятись, дегліцеринізацію еритроцитів рекомендовано проводити у чіткій відповідності до інструкції виробника розчинів для відмивання з дотриманням зазначених співвідношень середовищ та режимів центрифугування.

УВАГА! *При використанні для гліцеринізації та дегліцеринізації автоматизованих пристроїв (центрифуг із постійним потоком або деяких клітинних сепараторів) діяти згідно інструкцією виробника із застосуванням рекомендованих систем та розчинів для відмивання й ресуспендування еритроцитів, що мають сертифікати системи якості.*

Еритроцити ресуспендують у еквівалентному об'ємі розчину натрію хлориду 0,9% з pH 7,0 або іншому ізотонічному розчині, ретельно перемішують. Можливе введення додаткового розчину. За необхідності отримання відмитих еритроцитів з високим гематокритом вводять половину об'єму ресуспендуючого розчину. Ресуспендованими еритроцитами заповнюють з'єднувальну трубку, з якої виготовляють зразки для контролю якості.

6.2.2.9.2.1.2. Еритроцити, заморожені при температурі –65 °С та –80 °С

Методи передбачають використання кріозахисних середовищ із високою кінцевою концентрацією гліцерину до 40%, застосування спеціального обладнання для гліцеринізації та дегліцеринізації еритроцитів. Усі процедури виконуються згідно з інструкцією з експлуатації виробника обладнання. Рекомендується використовувати зареєстровані готові кріозахисні середовища, розчини для відмивання та системи, виготовлені фірмами-виробниками, за наявності сертифікатів якості. Після проведення маніпуляцій з гліцеринізації еритроцитів, на контейнері розміщують етикетку. Заповнений, промаркований та герметизований контейнер поміщують у додатковий пакет. Видаляють повітря, пакет герметизують і разом з 2 промаркованими пробірками з сироваткою, заготовленою під час венепункції, або плазмою, заготовленою під час фракціонування крові, поміщають у картонну коробку, промарковану відповідно до етикетки на контейнері. Інші пробірки зберігають окремо.

Заповнену, промарковану коробку розміщують горизонтально у низькотемпературному морозильнику –80 ºС, не допускаючи накладання коробок одна на одну. Після 24 год. заморожування коробки можуть бути розташовані вертикально та зберігатися до 10 років. Для зразків крові з рідким фенотипом або за умови регулярного контролю температури, що не перевищувала –65 °С, час зберігання може бути подовжений. Причина та час подовженого терміну зберігання мають бути зазначені у відповідній документації.

Для розморожування необхідний зразок вилучають з низькотемпературного морозильника, пакет виймають з коробки та поміщають у водяний/сухий термостат при температурі 42 °С при постійному перемішуванні, розморожують до досягнення рідкого стану, не допускають перегріву еритроцитів.

Усі дії з дегліцеринізації слід виконувати у чіткій відповідності до інструкції та вказівок виробника розчинів для відмивання та відповідного обладнання.

Осад еритроцитів ресуспендують у еквівалентному об'ємі розчину натрію хлориду, 0,9% із pH 7,0 або розчину для ресуспендування, ретельно перемішують. За необхідності отримання відмитих еритроцитів із високим гематокритом вводять половину об'єму ресуспендуючого розчину. Ресуспендованими еритроцитами заповнюють з'єднувальну трубку, з якої виготовляють зразки для контролю якості.

6.2.2.9.3. Маркування компонента

На контейнерах з розмороженими та відмитими еритроцитами розміщують етикетку відповідно до п. 6.2.0.3.

Під час заморожування контейнери із компонентом та використані для їх зберігання касети-формери (картонні коробки) рекомендується маркувати спеціальними етикетками для заморожених продуктів. У рубриці «Назва компонента» обов'язково зазначають кінцеву концентрацію гліцерину «Еритроцити заморожені, гліцерин 20%» або «Еритроцити заморожені, гліцерин 40%», а також інформацію про назву та об'єм кріозахисного середовища, температуру зберігання, дату заморожування компонента.

Етапи гліцеринізації, дегліцеринізації та інші процедури, що проводяться з еритроцитами під час заморожування, мають супроводжуватись інформаційними листівками (протоколами) із зазначенням інформації:

- назва, об'єм, серійний номер доданого кріозахисного середовища;
- умови зберігання компонента;
- назва, об'єм, серійний номер використаних розчинів для відмивання;

– спосіб гліцеринізації та дегліцеринізації, їх характеристики;
– назва, об'єм, серійний номер ресуспендуючих розчинів;
– параметри лабораторного обстеження та контролю якості компонента.

6.2.2.9.4. Зберігання і термін придатності

Заморожені еритроцити зберігають протягом 10 років за дотримання належної температури. Для зразків крові з рідким фенотипом або за умови регулярного контролю температури, що не перевищувала меж, передбачених методом кріоконсервування, час зберігання може бути подовжений. Причина та час подовженого зберігання мають бути зазначені у відповідній документації.

Ресуспендовані еритроцити зберігають при температурі від 2 ºС до 6 ºС. Трансфузію еритроцитів проводять не пізніше 24 год. з моменту розмороження. При використанні автоматизованих пристроїв та закритих систем для відмивання можливе подовжене зберігання ресуспендованих еритроцитів на термін, зазначений виробником.

6.2.2.9.5. Транспортування

Еритроцити, заморожені при низьких температурах, транспортують при температурі не вище –120 °С у транспортних системах із рідким азотом.

Еритроцити, заморожені при помірнонизьких температурах, транспортують при температурі не вище –65 °С у сухому льоді або спеціальних транспортних системах.

Розморожені та відмиті еритроцити транспортують в умовах, що пройшли випробування, при температурі не вище 10 °С, найкраще — у спеціальних автомобілях-холодильниках, автомобілях, обладнаних транспортним холодильником з електричним живленням або контейнером з ізоляцією, наповненим охолоджувальними елементами.

6.2.2.9.6. Контроль якості еритроцитів заморожених

У зразках розморожених ресуспендованих еритроцитів визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Не менше 185	Усі дози
2	Гематокрит	Не менше 0,27	
3	Гемоглобін (г/дозу)	Більше 36 г/д	
4	Гемоглобін у надосаді	Менше 0,2 г/д	
5	Вміст лейкоцитів	Менше $1,0 \times 10^6$ у дозі	1% всіх доз, але не менше 4 доз на місяць
6	Стерильність	Стерильно	

6.2.2.9.7. Показання для застосування

Цей компонент застосовують для поповнення дефіциту еритроцитів в особливих ситуаціях

1. Для хворих із рідкісним фенотипом еритроцитів або для тих, у яких виявлено численні антитіла.
2. Для аутологічних трансфузій (у окремих випадках);
3. В інших особливих ситуаціях, коли інші різновиди КЕ абсолютно недоступні, після одержання згоди ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України».

6.2.2.9.8. Протипоказання

При проведені процедури відмивання компонент фактично лишається білків плазми, тому не має протипоказань для хворих з підвищеною чутливістю до них.

6.2.2.9.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.2.9.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.2.10. Еритроцити, заморожені для імунізації

6.2.2.10.1. Визначення та властивості

Для заморожування потрібно призначати еритроцити, отримані від кадрових донорів. Для щеплень слід використовувати еритроцити заморожені, що зберігалися не менше 6 місяців. При заморожуванні еритроцитів для щеплень використовують кріозахисне середовище відповідно до умов зберігання компонента у морозильниках при температурі від –65 °С і нижче, кріоморозильниках від –140 °С або кріогенне обладнання з рідким азотом.

6.2.2.10.2. Методи виготовлення

Відповідно до температури зберігання еритроцитів здійснюють гліцеринізацію середовищем певної концентрації (пп. 6.2.2.9.2.1, 6.2.2.9.2.1.1, 6.2.2.9.2.1.2). Суміш еритроцитів із кріозахисним середовищем розподіляють на дози, зазвичай — 5 порцій, близько 90 мл у кожній, контейнери герметизують, маркують, поміщають кожний в окрему касету-формер або картонну коробку та зберігають при температурі, що відповідає складу кріозахисного середовища.

Усі дії з розморожування та дегліцеринізацію чинять згідно з пп. 6.2.2.9.2.1.1, 6.2.2.9.2.1.2.

6.2.2.10.3. Маркування компонента

На контейнерах з розмороженими та відмитими еритроцитами розміщують етикетку (відповідно до п. 6.2.0.3).

Під час заморожування контейнери з компонентом та використані для їх зберігання касети-формери (картонні коробки) рекомендується маркувати спеціальними етикетками для заморожених продуктів. У рубриці «Назва компонента» обов’язково зазначають кінцеву концентрацію гліцерину «Еритроцити, заморожені для імунізації, гліцерин 20%» або «Еритроцити, заморожені для імунізації, гліцерин 40%», а також інформацію про назву та об’єм кріозахисного середовища, температуру зберігання, дату заморожування компонента.

Етапи гліцеринізації, дегліцеринізації та інші процедури, що проводяться з еритроцитами під час заморожування, мають супроводжуватись інформаційними листівками (протоколами) із зазначенням інформації:

- назва, об’єм, серійний номер доданого кріозахисного середовища;
- умови зберігання компонента;
- назва, об’єм, серійний номер використаних розчинів для відмивання;
- спосіб гліцеринізації та дегліцеринізації, їх характеристики;
- назва, об’єм, серійний номер ресуспендуючих розчинів;
- параметри лабораторного обстеження та контролю якості компонента.

6.2.2.10.4. Зберігання і термін придатності

Заморожені еритроцити зберігають протягом 10 років за дотримання належної температури. Для зразків крові з рідким фенотипом або за умови регулярного контролю температури, що не перевищувала меж, передбачених методом кріоконсервування, час зберігання може бути подовжений. Причина та час подовженого зберігання мають бути зазначені у відповідній документації.

Ресуспендовані еритроцити зберігають при температурі від 2 ºС до 6 ºС. Трансфузію еритроцитів проводять не пізніше 24 год. із моменту розмороження. При використанні автоматизованих пристроїв та закритих систем для відмивання можливе подовжене зберігання ресуспендованих еритроцитів у термін, зазначений виробником.

6.2.2.10.5. Транспортування

Еритроцити, заморожені при низьких температурах, транспортують при температурі не вище –120 °С у транспортних системах із рідким азотом.

Еритроцити, заморожені при помірно низьких температурах, транспортують при температурі не вище –65 °С у сухому льоді або спеціальних транспортних системах.

Розморожені та відмиті еритроцити транспортують в умовах, що пройшли випробування, при температурі не вище 10 °С, найкраще — у спеціальних автомобілях-холодильниках, автомобілях, обладнаних транспортним холодильником з електричним живленням або контейнером з ізоляцією, наповненим охолоджувальними елементами.

6.2.2.10.6. Контроль якості еритроцитів, заморожених для імунізації

Відповідно до п. 6.2.10.6 тільки об'єм розділених та ресуспендованих доз має бути не менше 30 мл.

6.2.2.10.7. Показання для застосування

Використовуються для зменшення ризиків імунізованих донорів.

6.2.2.10.8. Протипоказання

Відповідно до п. 6.2.1.9.8.

6.2.2.10.9. Засоби безпеки при застосуванні

Використовуються для імунізації тільки після повторного тестування донорів еритроцитів та негативних результатів, визначених у них інфекційних маркерів через 6 місяців.

6.2.2.10.10. Ускладнення

Реакції на щеплення: легкі, середньої тяжкості та тяжкі.

6.2.2.11. Еритроцити опромінені

6.2.2.11.1. Визначення і властивості

Даний компонент являє собою еритроцити, оброблені дозою іонізуючого опромінювання (25–50 Гр).

Опромінення гальмує проліферацийну здатність лімфоцитів, що запобігає розвитку післятрансфузійної хвороби «трансплантат проти господаря», не знижуючи імуногенної здатності лейкоцитів і не запобігає імунізації антигенами HLA. При тривалому зберіганні ОЕ можливий незначний гемоліз еритроцитів та зростання концентрації K^+ у позаклітинному середовищі.

6.2.2.11.2. Метод виготовлення

Опроміненням можливо обробляти усі різновиди еритроцитів, що зберігалися не більше 14 діб, а в разі приготування опроміненого компонента для трансфузій у плід, замінних трансфузій, замінного переливання новонародженим — не довше 5 діб.

Для опромінення застосовують виключно прилади, які затверджені відповідною установою з нагляду за використанням іонізуючого випромінювання. До таких приладів належать опромінювачі, оснащені закритим джерелом випромінювання — ізотоп ^{137}Cs або ^{60}Co, чи призначені спеціально для цього апарати, що виділяють рентгенівське випромінювання (Х).

Еритроцити обробляють γ- або Х-променями у дозі 25 Гр, тривалість процедури залежить від типу приладу або джерела випромінювання. Експлуатація та обслуговування випромінюючого приладу здійснюються у чіткій відповідності до інструкції виробника.

УВАГА!

А. Якщо передбачається опромінення еритроцитів та видалення лейкоцитів методом фільтрації, то порядок проведення дій довільний.

Б. Якщо передбачається опромінення еритроцитів та їх відмивання, порядок проведення дій довільний.

В. Якщо передбачається опромінення заморожених еритроцитів, то обробляти еритроцити випромінюванням слід одразу після розморожування, отриманий компонент має бути якнайшвидше перелитий.

6.2.2.11.3. Етикетування компонента

Перед опроміненням на контейнер з еритроцитами наклеюють спеціальну променечутливу етикетку, яка змінює забарвлення або вигляд під дією γ- або Х-променів.

УВАГА! *На етикетці компонента слід змінити термін придатності компонента згідно з вказівками, наведеними у п. 6.2.11.4.*

Рекомендується скласти інформаційну листівку про компонент, виготовлену згідно зі встановленими правилами.

6.2.2.11.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлені еритроцити опромінені зберігають при температурі від 2 °С до 6 °С.

1. Термін придатності еритроцитів опромінених становить до 28 діб з моменту донації та залежить від використаного при заготівлі консервуючого розчину (термін зберігання «Глюгициру» — до 10 діб).
2. Опромінені еритроцити та консервована донорська кров, призначені для замінного переливання новонародженим або для внутрішньоматкових трансфузій, мають бути використані протягом 24 год. після процедури опромінення.

6.2.2.11.5. Транспортування

Транспортувати в умовах, що пройшли випробування, при температурі не вище 10 °С, найкраще у спеціальних автомобілях-холодильниках або автомобілях, обладнаних транспортним холодильником із електричним живленням або контейнером з ізоляцією, наповненим охолоджувальними елементами.

6.2.2.11.6. Контроль якості

Відповідно до п. 6.2.0.6.

6.2.2.11.7. Показання для застосування

Еритроцити опромінені застосовують для запобігання післятрансфузійної хвороби «трансплантат проти господаря». Цей компонент також рекомендується при лікуванні хворих із вродженою/набутою недостатністю імунної системи, особливо для внутрішньоматкових трансфузій (у плід) і для трансфузій новонародженим із низькою початковою вагою (або новонародженим, для лікування яких на стадії плода вже застосовувалися внутрішньоматкові трансфузії), а також для тих пацієнтів, які вживають імуносупресивні препарати. Крім того, опромінювання є необхідним при переливаннях еритроцитів, отриманих від донорів-родичів I та II ступеня споріднення, навіть якщо імунна система реципієнта працює без порушень і компоненти є сумісними за системою HLA.

Опромінювання не викликає значного пошкодження еритроцитів, тому їх можна переливати усім реципієнтам.

6.2.2.11.8. Протипоказання

Компонент не рекомендують у випадках:

– виявлення алоімунізації, спричиненої антигенами HLA (виняток, якщо опроміненню піддано еритроцити, збіднені на лейкоцити, або еритроцити опромінені, з яких лейкоцити усунуто методом фільтрації);
– різноманітних типів підвищеної чутливості до білків плазми.

6.2.2.11.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.0.9.

6.2.2.11.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.0.10.

6.2.3. Тромбоцитовмісні компоненти крові

6.2.3.1. Тромбоцити, відновлені з дози крові

6.2.3.1.1. Визначення і властивості

Одну дозу компонента становлять тромбоцити, одержані шляхом відповідного центрифугування дози консервованої донорської крові, яка перед заготівлею зберігалася при температурі від 20 °С до 24 °С. Компонент містить не менше 60×10^9 тромбоцитів, суспендованих у близько 50 ± 10% мл плазми, а також $0{,}2 \times 10^9$ лейкоцитів. Дози виділених тромбоцитів можуть бути поєднані в пул.

6.2.3.1.2. Методи виготовлення

6.2.3.1.2.1. Отримання тромбоцитів, відновлених з дози крові, із плазми, збагаченої на тромбоцити

Консервовану донорську кров центрифугують при температурі від 20 °С до 24 °С так, щоб поділити її на 2 фракції: еритроцити та збагачену на тромбоцити плазму. Рекомендований режим центрифугування з параметрами:

680 g протягом 13 хв.

На першому етапі центрифугування можуть бути використані режими:

770 g протягом 9 хв.,

або 1400 g протягом 5 хв.

УВАГА!

А. Після розміщення у екстракторі кожну дозу відцентрифугованої крові слід піддати візуальному контролю й оцінити правильність поділу компонентів та щільність контейнерів.

Б. Якщо кров правильно відцентрифугована, у плазмі не повинно бути еритроцитів, видимих у макроскопічному режимі.

В. Над шаром еритроцитів не повинна утворюватися лейкоцитарно-тромбоцитарна плівка.

Г. Шар еритроцитів має бути стабільний, не повинен скаламучуватися під час виймання контейнерів із центрифуги та розміщення їх у екстракторі.

Ґ. У разі неправильного розділення — ретельно перемішати вміст контейнера та відцентрифугувати повторно.

Д. Компоненти у пошкоджених контейнерах або компоненти, що містять плазму, вигляд якої не відповідає чинним вимогам (наприклад, якщо плазма гемолізована), підлягають списанню, знезараженню та утилізації.

Контейнер зі збагаченою на тромбоцити плазмою центрифугують повторно при температурі від 20 °С до 24 °С. Рекомендований режим центрифугування з параметрами:

2400 g протягом 20 хв.

Повторне центрифугування може проводитись з параметрами:

5000 g протягом 6 хв.,

або 2300 g протягом 13 хв.

Використання конкретного режиму центрифугування визначається після проведення валідації.

За допомогою екстрактора переводять отриману плазму, збіднену на тромбоцити, у порожній супутній контейнер, залишивши близько 50–70 мл плазми над осадом тромбоцитів. За допомогою запаювача від'єднують контейнери.

6.2.3.1.2.2. Отримання тромбоцитів, відновлених з дози крові методом лейкотромбошару

Консервовану донорську кров центрифугують при температурі від 20 °С до 24 °С так, щоб поділити її на 2 фракції: еритроцити та ТЛШ у кількості 100 мл ± 10%. Рекомендований режим центрифугування з параметрами:

2150 g протягом 20 хв;

або 3000 g протягом 10 хв.

Контейнер із ТЛШ центрифугують повторно при температурі від 20 °С до 24 °С. Рекомендований режим центрифугування з параметрами:

190 g протягом 10 хв.

За допомогою екстрактора переводять отриману плазму, збагачену на тромбоцити, у порожній супутній контейнер, залишивши близько 40–60 мл осаду лейкоцитів та залишкових еритроцитів і тромбоцитів. За допомогою запаювача від'єднують контейнери.

УВАГА!

А. Плазму, виділену протягом 6 год. від моменту донації, можна заморозити як ПСЗ.

Б. Для ресуспендування тромбоцитів контейнер залишають у спокої протягом 1 год. при температурі від 20 °С до 24 °С, після чого поміщають у пристрій для зберігання тромбоцитів.

В. Пристрої для зберігання тромбоцитів з горизонтальним режимом упродовж перших 15–20 хв. працюють зі швидкістю 80 циклів/хв., пізніше — зі швидкістю 100–120 циклів/хв. Повне ресуспендування осаду має відбутися після 2–6 год. (це залежить від температури, різновиду контейнера і типу пристрою).

Г. Для використання придатні дози, що не містять клітинних макрозгустків. Дози, в яких спостерігається тривала агрегація тромбоцитів, мають бути утилізовані.

6.2.3.1.3. Маркування компонента

Кожен контейнер з компонентом, отриманим з крові донора, що пройшов тестування на маркери інфекційних агентів, має містити етикетку із зазначенням такої інформації:

1. Назва закладу, що здійснював виготовлення компонента.
2. Назва компонента згідно зі встановленим переліком.
3. Індивідуальний номер та штрих-код донації, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою.
4. Кількість компонента: об'єм у мл, кількість доз та позначення кількості тромбоцитів (наприклад, $\geq 60 \times 10^9$).
5. Дата та час заготівлі.
6. Термін придатності.
7. Назва і склад консервуючого розчину.
8. Умови зберігання: «Зберігати при температурі 20–24 °С в умовах постійного перемішування автоматичними змішувачами»;
9. Група крові за системою АВ0 та Rh, прописом: «Rh поз.» або «Rh нег.»).
10. Позначку про результати аналізів донора на «ВІЛ ½ нег.», «HbsAg-нег.», «HCV-нег.», «Сифіліс-нег.», «АлАТ — у межах норми».
11. Індивідуальний номер та штрих-код компонента, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою.
12. Вказівки:

– «Перед переливанням необхідно звірити ідентичність груп крові донора і реципієнта за системами АВ0 та Резус»;

– «Переливати через систему для переливання крові з діаметром пор фільтра не більше 170–200 мкм».

Рекомендується до компонента додавати інформаційну листівку.

6.2.3.1.4. Зберігання і термін придатності

Тромбоцити зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні за допомогою обертового або горизонтального пристрою для зберігання тромбоцитів. Температура зберігання тромбоцитів має систематично контролюватися та документуватися. Термін придатності тромбоцитів — до 5 діб.

6.2.3.1.5. Транспортування

Перевозити у транспортних контейнерах з ізоляцією при температурі від 20 °С до 24 °С. Перед використанням транспортний контейнер слід відкрити і залишити на 30 хв. при кімнатній температурі.

6.2.3.1.6. Контроль якості тромбоцитів, відновлених із дози крові

У відібраних зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Не менше 50 мл ± 10%	Усі одиниці
2	Кількість тромбоцитів $\times 10^9$/дозу	Не менше 60	1% усіх доз (не менше 10 доз/місяць)
3	Кількість лейкоцитів $\times 10^9$/дозу	$< 0{,}2$[(1)] $< 0{,}05$[(2)]	
4	pH* за температури 22 °C наприкінці терміну зберігання	6,4–7,4	1% усіх доз (не менше 4 доз/місяць)

* *Здійснювати контроль лише для тих одиниць, що зберігаються упродовж 5 днів (у «дихаючих» контейнерах).*

(1) *КТ, отриманий методом збагачення тромбоцитами плазми (вимозі мають відповідати 75% досліджуваних одиниць).*

(2) *КТ, отриманий метод лейкотромбошару (вимозі мають відповідати 75% досліджуваних одиниць).*

6.2.3.1.7. Показання для застосування

Рішення про необхідність переливання тромбоцитів не повинне пояснюватися тільки низькою кількістю тромбоцитів у крові хворого. Основним показанням є кількість тромбоцитів менше 10×10^9/л та супровідні симптоми тромбоцитопенічного геморрагічного діатезу. Інші показання для трансфузії тромбоцитів є різною мірою відносними і залежать від клінічного стану хворого (Розділ 10).

Зазвичай за один раз переливають 4–6 доз тромбоцитів (близько 1 доза/10 кг маси тіла реципієнта). Не рекомендується видавати для одного пацієнта кілька окремих доз, попередньо не об'єднавши їх.

6.2.3.1.8. Засоби безпеки при застосуванні

Не рекомендується переливати RhD-негативній дівчині або жінці у фертильному віці RhD-позитивні тромбоцити. У разі їх застосування слід ввести імуноглобулін анти-D для запобігання імунізації антигеном RhD. Зазвичай одноразова доза імуноглобуліну анти-D становить 50–100 мкг (20 мкг імуноглобуліну анти-D на 1 мл перелитих Rh-позитивних еритроцитів).

Переливання RhD-позитивних тромбоцитів RhD-негативним пацієнтам можуть мати місце лише у виняткових випадках, за наявності письмового розпорядження лікаря.

6.2.3.1.9. Ускладнення

1. Негемолітичні післятрансфузійні реакції (переважно застуда, лихоманка, кропивниця).
2. Алоімунізація антигенами HLA та HPA.
3. Передача найпростіших (наприклад, малярія) трапляється в рідкісних випадках.
4. Сепсис, спричинений випадковим бактеріальним забрудненням компонента.
5. Післятрансфузійна тромбоцитопенічна пурпура.
6. Післятрансфузійна гостра дихальна недостатність (TRALI).
7. Зараження іншими інфекційними агентами, які наразі є недослідженими або нерозпізнаними.
8. Післятрансфузійна хвороба «трансплантат проти господаря» у пацієнтів зі зниженою імунологічною реактивністю.

УВАГА! *При використання компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.2.3.2. Тромбоцити відновлені, об'єднані в одну дозу

6.2.3.2.1. Визначення і властивості

Даний компонент, отриманий мануальним методом з консервованої донорської крові або з плазми, заготовленої методом мануального плазмаферезу від кількох донорів та поєднаних в одному контейнері. Зазвичай доза даного компонента складається з 4–8 окремих доз і містить не менше

200×10^9/дозу тромбоцитів, а також лейкоцити та еритроцити, кількість яких залежить від способу виготовлення. Поєднання відповідної кількості окремих доз тромбоцитів у ЗСК зменшує ризик бактеріального забруднення реципієнта та полегшує процедуру переливання.

Можливе приготування тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу, з доз тромбоцитів, виділених із ТЛШ кількох донорів. Зберігають такий компонент у зависі з додатковим розчином. Наприклад, при використанні збагачувального розчину PAS-IIIM рекомендують таку пропорцію: 80% розчину на 20% плазми. Додаткові розчини для зберігання тромбоцитів підвищують їх безпеку при переливанні: зменшується ризик появи алергічних і температурних післятрансфузійних реакцій.

6.2.3.2.2. Методи виготовлення

Об'єднувати в одну дозу можна лише тромбоцити, ідентичні за системою AB0. Для RhD-негативного реципієнта поєднують виключно RhD-негативні одиниці. Для RhD-позитивного реципієнта можливе поєднання RhD-позитивних та RhD-негативних одиниць тромбоцитів.

6.2.3.2.2.1. Об'єднання окремих доз тромбоцитів (із плазми, збагаченої на тромбоцити)

За допомогою зварювача або у шафі з ламінарним потоком стерильного повітря поєднати з'єднувальні трубки окремих контейнерів, що містять тромбоцити, відновлені з дози крові відповідно до п. 6.2.3.1.2.1. Злити потрібну кількість (4–8) доз у один контейнер.

6.2.3.2.2.2. Отримання тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу методом лейкотромбошару

1. Дози консервованої донорської крові (4–6) слід центрифугувати при температурі від 20 °С до 24 °С при 2150 g протягом 20 хв. (або при 3000 g протягом 10 хв.).
2. За допомогою екстрактора перевести збіднену на клітини плазму до одного супутнього контейнера, а ТЛШ — до іншого. За допомогою запаювача розділити контейнери.
3. Контейнери з ТЛШ залишають у спокої при кімнатній температурі на 1 год. Для подальшого приготування компонента залишають також 1 дозу збідненої на клітини плазми (ПСЗ) та зберігають її при температурі від 2 °С до 6 °С.
4. У порожньому контейнері за допомогою зварювача поєднати від 4 до 6 ТЛШ та спеціально залишену плазму (ПСЗ).

УВАГА!

А. Перш ніж додавати залишену плазму (не заморожену) до об'єднаних ТЛШ, рекомендовано контейнер із плазмою витримати при кімнатній температурі протягом 60 хв.

Б. Для педіатричного використання слід готувати компонент, що містить від 2 до 4 ТЛШ.

В. Замість плазми можливе введення ресуспендуючого розчину для зберігання тромбоцитів, який використовують згідно з рекомендаціями виробника. Впровадження методу зберігання тромбоцитів у додатковому розчині має пройти валідацію.

5. Об'єднані ТЛШ центрифугують при температурі від 20 °С до 24 °С при 2150 g протягом 20 хв. та отриманий надосад за допомогою екстрактора переводять до приєднаного трансферного контейнера ємністю 1000 мл.

УВАГА!

А. Якщо всі поєднання здійснено за допомогою зварювача, то можливе зберігання компонента протягом 5 діб з моменту взяття крові при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному помішуванні в пристрої для зберігання тромбоцитів.

Б. Видаляти лейкоцити рекомендується в перші 2–6 год. з моменту виготовлення компонента.

6.2.3.2.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.3.1.3. Номер компонента має відображати номери всіх об'єднаних у ньому доз, на етикетці мають бути зазначені назва та кількість додаткового розчину (в разі його використання) та його склад.

УВАГА! *У випадку об'єднання тромбоцитів із Rh+поз. та Rh-нег. на етикетці має бути зазначено: «Rh поз./нег.».*

6.2.3.2.4. Зберігання і термін придатності

1. Компонент, виготовлений у відкритій системі, зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С і постійному перемішуванні у пристрої для зберігання тромбоцитів та використовують протягом 24 год. з моменту закінчення його приготування.
2. Компонент, виготовлений у закритій системі, зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні у пристрої для зберігання тромбоцитів протягом 5 діб.
3. При використанні спеціальних «дихаючих» контейнерів можливе зберігання компонента при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні у пристрої для зберігання тромбоцитів протягом 7 діб, після 5-ї доби всі компоненти проходять обов'язковий мікробіологічний контроль відповідно до п. 6.1.9.

6.2.3.2.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.3.1.5.

6.2.3.2.6. Контроль якості тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу

Для контролю якості тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу, відбирають зразки в яких визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Не менше 40 мл на 60×10^9 тромбоцитів	Усі одиниці
2	Вміст тромбоцитів	Не менше 200×10^9 у дозі	1% усіх одиниць (не менше 4 одиниць/місяць)
3	Вміст лейкоцитів	Менше $0{,}2 \times 10^9$ у дозі (метод збагачення тромбоцитами плазми) менше $0{,}05 \times 10^9$ у дозі (метод тромболейкошару)	
4	pH* при температурі 22 °С наприкінці зберігання	6,4–7,4	

** Контроль здійснювати тільки для КТ, отриманого у закритій системі та зберігати впродовж 5 днів.*

6.2.3.2.7. Показання для застосування

Відповідно до п. 6.2.3.1.7.

6.2.3.2.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.3.1.8.

6.2.3.2.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.3.1.9.

6.2.3.3. Тромбоцити (концентрат тромбоцитів), аферез

6.2.3.3.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий із використанням клітинного сепаратора (тромбоцитаферезу) з відповідного об'єму крові одного донора. Залежно від методу заготівлі та виду використаного апарата вміст тромбоцитів у компоненті коливається від 200×10^9 до 700×10^9. Стандартна доза компонента тромбоцити, отриманого методом аферезу, відповідає 4 окремим дозам тромбоцитів, відновлених із доз крові. У разі використання деяких сепараторів та відповідного відбору донорів можна за одну процедуру тромбоцитаферезу отримати концентрат тромбоцитів, еквівалентний 10–12 окремим дозам тромбоцитів, відновлених із доз крові; такий компонент можна ділити і переливати 2-м реципієнтам за умови, що після поділу кожна доза міститиме не менше 200×10^9 тромбоцитів.

Тип сепаратора та різновид комплекту, що використовують при заготівлі тромбоцитів, впливають на кількість лейкоцитів та еритроцитів у компоненті.

Автоматичний тромбоцитаферез дозволяє отримувати тромбоцити від одного донора, внаслідок чого обмежується контакт реципієнта з чужорідними антигенами та зменшується ризик перенесення вірусних заражень через кров. Також автоматичний тромбоцитаферез дає змогу переливати концентрат тромбоцитів від донорів, підібраних за системою HLA і HPA, що має особливе значення для реципієнтів, у яких виявлено антитіла.

6.2.3.3.2. Метод виготовлення

Концентрат тромбоцитів отримують за допомогою клітинних сепараторів різного типу. Залежно від сепаратора процедура тромбоцитаферезу може проходити безперервним або циклічним способом. У сепараторах із постійним потоком упродовж усієї маніпуляції береться цільна кров. Після змішування з антикоагулянтом вона фракціонується на еритроцити і багату на тромбоцити плазму, яка потім поділяється на концентрат тромбоцитів і бідну на тромбоцити плазму. Отримані еритроцити і плазма змішуються та повертаються до кровообігу донора.

У сепараторах із переривчастим потоком процеси взяття цільної крові, її фракціонування та реінфузії крові, позбавленої тромбоцитів, відбуваються один за одним циклічно.

Під час процедури тромбоцитаферезу, яка триває від 30 до 120 хв., обробляється зазвичай близько 2500–5000 мл крові. Отримані тромбоцити зберігаються у плазмі або в зависі плазми з додатковим розчином.

Під час кожної процедури тромбоцитаферезу використовуються стерильні одноразові комплекти, які складаються зі з'єднувальних трубок для взяття і реінфузії, контейнерів для проміжних продуктів та КТ:

– комплекти «закритого» типу: до їх складу входять пластикатні контейнери з розчином антикоагулянту, а також додаткові «дихаючі» контейнери для пролонгованого зберігання КТ. Вони становлять із комплектом одне ціле, або під'єднані до комплекту через спеціальні мікробіологічні фільтри;

– комплекти «відкритого» типу обладнані тільки звичайним контейнером (контейнерами для взяття КТ та вимагають під'єднання контейнерів із розчином антикоагулянту.

Детальні інструкції до проведення процедур тромбоцитаферезу надаються виробниками сепараторів. Рекомендується чітко дотримуватись зазначених вказівок, особливо стосовно різновиду та кількості використовуваного антикоагулянту та/або інших інфузійних середовищ, а також тривалості процедури (кількості циклів). Відхилення від встановленої методики можуть призвести до виникнення ускладнень у донора або чинити пошкоджуючу дію на якість отриманого КТ.

6.2.3.3.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.3.1.3.

УВАГА!

А. Якщо для реципієнта, у якого виявлено антитіла HLA або HPA, підготовлено компонент від донора, підібраного/сумісного за антигенами HLA або HPA, то на етикетці слід зазначити: «Компонент підібраний для/сумісний з …… (персональні дані реципієнта, назва установи-отримувача)».

Б. Якщо взятий компонент поділено, на етикетці слід розмістити додаткові позначки: доза 1, доза 2, доза 3 тощо.

В. Розділення на дози слід проводити через 2 год. після отримання КТ: зберігати протягом 1 год. у спокої при температурі 20–24 °С для спонтанної дезагрегації тромбоцитів та протягом 1 год. — у пристрої для зберігання тромбоцитів.

6.2.3.3.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.3.2.4.

6.2.3.3.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.3.1.5.

6.2.3.3.6. Контроль якості тромбоцитів (концентрату тромбоцитів), аферез

Із контейнера для проб або з'єднувальної трубки відбирають зразок, в якому визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Не менше 40 мл на 60×10^9 тромбоцитів	Усі одиниці
2	Кількість тромбоцитів	Не менше 200×10^9 у дозі	1% усіх одиниць (не менше 4 одиниць/місяць)
3	pH* при температурі 22 °С наприкінці терміну зберігання	6,4–7,4	

** Контроль здійснювати тільки для КТ, що отримані у закритій системі та зберігаються впродовж 5 днів.*

УВАГА! *Якщо компонент містить домішки еритроцитів, які спостерігають при макроскопічному аналізі, слід визначити вміст еритроцитів у компоненті. Якщо кількість еритроцитів більше 20×10^9 у дозі, трансфузію компонента здійснюють тільки після одержання результата проби сумісності для еритроцитів за системою АВ0.*

6.2.3.3.7. Показання для застосування

Відповідно до п. 6.2.3.1.7.

Застосування КТ, отриманих шляхом аферезу, особливо рекомендоване при лікуванні хворих, що мають імунізацію антигенами HLA та/або HPA, оскільки це дає змогу переливати КТ від спеціально підібраних донорів.

6.2.3.3.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.3.1.8.

1. Перед трансфузіями КТ хворим, у яких виявлено антитіла за системою HLA/HPA, необхідний підбір донорів та здійснення проб на сумісність за антигенами HLA/HPA.
2. Не рекомендується переливати КТ, заготовлений від донорів-родичів I та II ступеня спорідненості з реципієнтом.
3. Не рекомендується переливати КТ, заготовлений від донорів, яких кваліфіковано як потенційних донорів стовбурових клітин або кісткового мозку для цього ж реципієнта.

6.2.3.3.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.3.1.9.

6.2.3.4. Тромбоцити, збіднені на лейкоцити

6.2.3.4.1. Визначення і властивості

Даний компонент отримують шляхом видалення лейкоцитів із тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу або з КТ, отриманого методом аферезу. Вміст залишкових лейкоцитів у ньому становить не більше $1{,}0 \times 10^6$ лейкоцитів. Застосування такого компонента зменшує ризик алоімунізації HLA та пов'язаних із нею ускладнень: негемолітичних температурних реакцій та резистентності на трансфузії тромбоцитів, а також ризик передачі деяких вірусних інфекцій, наприклад ЦМВ.

6.2.3.4.2. Методи виготовлення

6.2.3.4.2.1. Із використанням клітинних сепараторів

Клітинні сепаратори останньої модифікації передбачають отримання КТ зі вмістом залишкових лейкоцитів менше 1×10^6 у дозі, що відповідає вимогам до компонента, збідненого на лейкоцити. Усі процедури проводять у чіткій відповідності до інструкції виробника сепаратора та комплекту для заготівлі КТ.

6.2.3.4.2.2. Видалення лейкоцитів з тромбоцитів, відновлених із дози крові

Для видалення лейкоцитів, з тромбоцитів використовують антилейкоцитарні фільтри, які входять до складу комплектів для фільтрації або приєднуються за допомогою зварювача. Процедура

проводиться у закритій системі. Фільтрують тромбоцити відновлені, об'єднані одну дозу, що не містять (п. 6.2.3.1.2) видимих згустків, агрегатів та фібрину. Фільтрація може викликати втрати 5–15% тромбоцитів, залежно від різновиду фільтра. Впровадження кожної нової серії фільтрів вимагає випробування (валідації): контролю якості підлягають щонайменше 6 перших доз отриманого компонента для встановлення оптимальних умов фільтрації та їх зазначення у протоколі або внутрішньому СОП.

Під'єднання фільтрів проводять за допомогою зварювача, процедуру фільтрації рекомендується проводити у перші 6 год. з моменту виготовлення первинного компонента.

6.2.3.4.3. Маркування компонента

Відповідно до пп. 6.2.3.1.3, 6.2.3.2.3 та 6.2.3.3.3.

6.2.3.4.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.3.2.4.

6.2.3.4.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.3.1.5.

6.2.3.4.6. Контроль якості концентрату тромбоцитів, збідненого на лейкоцити

Відповідно до методу видалення лейкоцитів контроль якості відібраних зразків відповідає пп. 6.2.3.2.6 та 6.2.3.3.6, але вміст залишкових лейкоцитів не більше $1{,}0\times10^6$ у дозі.

6.2.3.4.7. Показання для застосування

1. Реципієнтам із багаторазовими трансфузіями тромбоцитів, трансплантацією кровотворних стовбурових клітин та інших органів слід переливати виключно тромбоцити, збіднені на лейкоцити, оскільки таким чином можна запобігти імунізації антигенами HLA.
2. Реципієнтам із багаторазовими трансфузіями, у яких виявлено як мінімум дві негемолітичні післятрансфузійні температурні реакції, слід переливати тромбоцити, збіднені на лейкоцити, для зменшення ризику повторення реакцій.
3. Трансфузії у плід, новонародженим, пацієнтам із трансплантаціями клітин або органів та для хворих із порушеннями імунної системи переливання тромбоцитів, збіднених на лейкоцити, знижує ризик післятрансфузійного зараження ЦМВ, якщо компонент від ЦМВ-негативного донора недоступний.

6.2.3.4.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до пп. 6.2.3.2.8 та 6.2.3.3.8.

6.2.3.4.9. Ускладнення

Відповідно до пп. 6.2.2.2.9 та 6.2.2.3.9.

6.2.3.5. Тромбоцити заморожені

6.2.3.5.1. Визначення і властивості

Даний компонент отримують шляхом охолодження клітин із кріозахисним середовищем та зберігання у морозильниках при температурі від –80 °С і нижче або кріоморозильниках від –140 °С відповідно до спеціальних, затверджених в установленому порядку методів кріоконсервування. Найбільш відомі середовища для заморожування тромбоцитів — це розчини диметилсульфоксиду (ДМСО) та Тромбокріодмац. Рекомендовано використовувати зареєстровані готові розчини, виготовлені фірмами, що мають сертифікати якості. Перед використанням тромбоцити розморожують, відмивають та ресуспендують у плазмі. Ці процедури викликають кількісні втрати тромбоцитів та втрати їх функціональних властивостей, порівняно з компонентами, які зберігались при позитивних температурах.

6.2.3.5.2. Методи виготовлення

Для заморожування рекомендовано використовувати КТ, отриманий методом аферезу, або тромбоцити, відновлені з дози крові методом лейкотромбошару, об'єднані в одну дозу (пп. 6.2.2.2.2 та

6.2.2.3.2). Плазму, отриману при фракціонуванні консервованої крові, використовують для розведення захисних сполук та для ресуспендування тромбоцитів після розморожування.

Контейнери з КТ, отриманими методом аферезу, додатково центрифугують при температурі від 20 °С до 24 °С при 2300 g протягом 13 хв. (5000 g протягом 6 хв), видаляють плазму, залишаючи над осадом тромбоцитів 20–30 мл плазми. Ресуспендують тромбоцити при температурі від 20 до 24 °С протягом 15–20 хв. у спокої, потім розміщують у пристрої для зберігання тромбоцитів, що працює в режимі 80 циклів/хв. на 15 хв., після чого переводять у режим 100–120 циклів/хв. До однорідної завісі тромбоцитів додають 50 мл видаленої раніше плазми. Решту плазми використовують для розведення захисних сполук та для ресуспендування тромбоцитів після розморожування.

Видалення лейкоцитів із компонента перед охолодженням позитивно впливає на результат заморожування тромбоцитів та є неефективним після їх розморожування, тому для отримання тромбоцитів заморожених, збіднених на лейкоцити, фільтрацію слід проводити на етапах підготовки до заморожування.

При використанні розчинів ДМСО їх готують безпосередньо перед заморожуванням компонента, згідно з інструкцією виробника препарату або розведенням речовини у плазмі:

$$V_{\text{ДМСО}} = \frac{(V_{\text{тромб.}} + V_{\text{пл.}}) \cdot 0,05}{0,95},$$

де $V_{\text{ДМСО}}$ — об’єм речовини, у мл; $V_{\text{тромб.}}$ — об’єм компонента, в мл; $V_{\text{пл.}}$ — об’єм плазми, призначеної для розведення ДМСО, в мл.

При розрахунках вимірюють об’єм компонента та враховують, що кінцева концентрація ДМСО становить 5% (маса/об’єм).

УВАГА! *Для приготування розчину ДМСО рекомендовано використовувати плазму, яку отримують з тієї самої донації, що й одну з доз тромбоцитів.*

Температура тромбоцитів та кріозахисного розчину має бути в межах кімнатної температури (відповідно до п. 6.2.1.10.2.1).

УВАГА! *Усі дії необхідно виконувати з використанням зварювача.*

Контейнер із компонентом розміщують у горизонтальному пристрої для зберігання тромбоцитів, що працює зі швидкістю 100 циклів/хв., і повільно протягом 10–15 хв. вводять еквівалентний об’єм кріозахисного середовища з точністю до 0,5 мл.

УВАГА!

А. Рекомендовано додавати кріозахисні розчини через мікробіологічний фільтр.

Б. При роботі берегти очі та шкіру від контакту з кріозахисними речовинами.

Якщо передбачене зберігання тромбоцитів при температурі –80 °С, то з контейнера видаляють повітря та герметизують. Заповнений, промаркований та герметизований контейнер поміщають у додатковий пакет. Видаляють повітря, пакет герметизують і разом з 2 промаркованими пробірками з сироваткою, заготовленою під час венепункції, або плазмою, заготовленою під час фракціонування крові, поміщають у картонну коробку, промарковану відповідно до етикетки на контейнері. Інші пробірки зберігають окремо. Заповнену, промарковану коробку розміщують горизонтально у низькотемпературному морозильнику –80 ºС. Не допускати накладання коробок одна на одну. Після 24 год. заморожування коробки можуть зберігатися у вертикальному положенні.

Якщо передбачене зберігання тромбоцитів при температурі від –140 °С і нижче, суміш тромбоцитів із захисним середовищем переводять до кріогенного контейнера, герметизують контейнер і маркують. Заповнений, промаркований та герметизований контейнер поміщають у додатковий пакет. Видаляють повітря, пакет герметизують і разом із 2 промаркованими кріопробірками з сироваткою, заготовленою під час венепункції, або плазмою, заготовленою під час фракціонування крові, поміщають для заморожування в апарат для програмного повільного заморожування зі швидкістю

3–5 ºС/хв. до температури –80 ºС. Потім контейнер швидко, не допускаючи відтаювання, розташовують у касеті, промаркованій відповідно до етикетки на контейнері. Заповнену, промарковану касету поміщають для зберігання у кріоморозильниках з температурою від –140 °С та нижче або у кріогенних резервуарах у парах рідкого азоту.

Для розморожування необхідний зразок вилучають з місця його зберігання та розміщують у водяному/сухому термостаті або у нагрівачі для плазми при температурі 37 ºС.

УВАГА! *Якщо компонент зберігався при температурі від –140 °С і нижче, то перед розморожуванням контейнер залишають при кімнатній температурі на 2–3 хв. для уникнення його розтріскування внаслідок різкого перепаду температур.*

Паралельно розморожують плазму, призначену для ресуспендування тромбоцитів. Для КТ, отриманого методом аферезу, рекомендується використовувати аутологічну плазму. Для тромбоцитів, відновлених з доз крові, заморожену плазму або плазму без Ф. VIII, поділену на порції об'ємом 100 мл.

Відмивання розморожених тромбоцитів здійснюють за допомогою розчинів, виготовленими комерційними фірмами, що мають сертифікати якості, та у чіткій відповідності до інструкції виробника.

УВАГА!

А. Тромбоцити, заморожені з розчинами ДМСО, обов'язково відмивають.

Б. Тромбоцити, заморожені з розчином «Тромбокріодмац», допустимо переливати без попереднього відмивання. Відмивання здійснюють для компонента, отриманого поєднанням 7 і більше окремих доз, розморожені тромбоцити центрифугують при температурі від 20 до 24 °С при 2350 g протягом 20 хв. Після центрифугування видаляють 50% надосаду, контейнер герметизують і залишають у спокої на 15–20 хв.

Ресуспендують тромбоцити при температурі від 20 °С до 24°С протягом 15–20 хв. у спокої, потім розміщують у пристрої для зберігання тромбоцитів, що працює в режимі 80 цикл./хв. на 15 хв., після чого переводять у режим 100–120 цикл./хв. До однорідної завісі тромбоцитів додають ще 50 мл плазми та герметизують контейнер.

6.2.3.5.3. Маркування компонента

На контейнерах із розмороженими та відмитими тромбоцитами розміщують етикетку відповідно до п. 6.2.2.1.3.

Під час заморожування контейнери з компонентом та використані для їх зберігання касети-формери (картонні коробки) рекомендується маркувати спеціальними етикетками для заморожених продуктів. У рубриці назва компонента обов'язково зазначають назву кріозахисного середовища «Тромбоцити заморожені, ДМСО 5%» або «Тромбоцити заморожені, Тромбокріодмац», а також інформацію про назву та об'єм кріозахисного середовища, температуру зберігання, дату заморожування компонента.

Етапи підготовки тромбоцитів до заморожування, розморожування. відмивання та інші процедури, що проводяться з клітинами під час заморожування, мають супроводжуватись інформаційними листівками (протоколами) із зазначенням інформації:

- назва, об'єм, серійний номер доданого кріозахисного середовища;
- умови зберігання компонента;
- назва, об'єм, серійний номер використаних розчинів для відмивання;
- спосіб гліцеринізації та дегліцеринізації, їх характеристики;
- назва, об'єм, серійний номер ресуспендуючих розчинів;
- параметри лабораторного обстеження та контролю якості компонента.

6.2.3.5.4. Зберігання і термін придатності

Заморожені тромбоцити зберігають протягом 12 місяців при температурі –80 °С та протягом 2 років при температурі –140 °С і нижче.

Розморожені, ресуспендовані тромбоцити зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С при постійному перемішуванні у пристрої для зберігання тромбоцитів. Трансфузію тромбоцитів проводять не пізніше 2 год. з моменту виготовлення компонента.

6.2.3.5.5. Транспортування

Тромбоцити, заморожені при низьких температурах, транспортують при температурі не вище –120 °С у транспортних системах із рідким азотом.

Тромбоцити, заморожені при помірнонизьких температурах, транспортують при температурі не вище –65 °С у сухому льоді або спеціальних транспортних системах.

Розморожені та відмиті тромбоцити перевозять у транспортних контейнерах з ізоляцією при температурі від 20 °С до 24 °С.

6.2.3.5.6. Контроль якості тромбоцитів заморожених

Відбирають зразки для контролю якості до заморожування відповідно до методу заготівлі тромбоцитів (пп. 6.2.3.2.6 та 6.2.3.3.6). Після розморожування та ресуспендування тромбоцитів відбирають зразки, в яких визначають:

– об'єм: 50–200 мл, усі дози;
– кількість тромбоцитів: більше 40% від їх кількості до заморожування (усі дози).

6.2.3.5.7. Показання для застосування

Розморожені тромбоцити застосовуються, коли недоступні тромбоцити, які зберігались при температурі від 20 °С до 24 °С. Призначають відповідно до п. 6.2.3.1.7.

Заморожування тромбоцитів — це єдиний спосіб створення стратегічних запасів тромбоцитів, заготовлених від підібраним донорів та призначених для особливих реципієнтів:

– переливання у плід та новонародженим з алоімунною тромбоцитопенією;
– переливання хворим, імунізованим антигенами HLA або HPA;
– переливання хворим, яким здійснювали трансплантацію стовбурових клітин.

6.2.3.5.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.3.1.8.

6.2.3.5.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.3.1.9.

6.2.3.6. Тромбоцити відмиті, ресуспендовані

6.2.3.6.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий шляхом видалення основної частини аутологічної плазми з тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу або КТ, отриманого методом аферезу та ресуспендування клітин у спеціально відібраній плазмі. Універсальне застосування мають тромбоцити групи 0(Rh-) у плазмі групи АВ. Відмивання викликає кількісні втрати тромбоцитів та втрати їх функціональних властивостей, порівняно з компонентами, які зберігались при позитивних температурах та не піддавались відмиванню. У виняткових, надзвичайних ситуаціях, коли відсутні тромбоцити, однойменні з групою крові реципієнта, можна застосувати тромбоцити відмиті, ресуспендовані, дотримуючись таких правил:

1) реципієнт групи АВ(Rh+) може отримати тромбоцити групи 0(Rh+), 0(Rh-), А(Rh+), А(Rh-), В(Rh+) або В(Rh-), ресуспендовані у плазмі групи АВ;

2) реципієнт групи АВ(Rh-) може отримати тромбоцити групи 0(Rh-), А(Rh-) або В(Rh-), ресуспендовані у плазмі групи АВ;

3) реципієнт групи А(Rh+) може отримати тромбоцити групи 0(Rh+) або 0(Rh-), ресуспендовані у плазмі групи А;

4) реципієнт групи А(Rh-) може отримати тромбоцити групи 0(Rh-), ресуспендовані у плазмі групи А;

5) реципієнт групи B(Rh+) може отримати тромбоцити групи 0(Rh+) або 0(Rh-), ресуспендовані у плазмі групи B;

6) реципієнт групи B(Rh-) може отримати тромбоцити групи 0(Rh-), ресуспендовані у плазмі групи B.

Реципієнт групи 0(Rh+) може отримувати виключно тромбоцити груп 0(Rh+) або 0(Rh-); реципієнт групи 0(Rh-) може отримувати виключно тромбоцити групи 0(Rh-), тому готувати для них тромбоцити відмиті, ресуспендовані недоцільно.

УВАГА! *Приготований раніше (для іншого хворого) компонент, що містить тромбоцити групи 0(Rh-) та плазму групи A, B або AB, можна перелити реципієнтові групи 0(Rh-).*

Не існує також серологічних перешкод, які б унеможливлювали переливання реципієнтові групи 0(Rh+) тромбоцитів групи 0(Rh+) або 0(Rh-), ресуспендованих у плазмі групи A, B або AB.

6.2.3.6.2. Методи виготовлення

6.2.3.6.2.1. Виготовлення тромбоцитів відмитих, ресуспендованих із компонента КТ, отриманого методом аферезу, та тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу

1. КТ або об'єднані в одну дозу тромбоцити відновлені (пп. 6.2.3.2.2 та 6.2.3.3.2) перевести в трансферний контейнер об'ємом 600 мл.
2. Сполучити з'єднувальну трубку контейнера з флаконом розчину натрію хлориду 0,9% та додати еквівалентний об'єм розчину до тромбоцитів.
3. За допомогою запаювача відокремити контейнер із тромбоцитами та центрифугувати його в температурі від 20 °C до 24 °C протягом 6 хв. при 5000 g (або протягом 13 хв. при 2330 g).
4. За допомогою екстрактора виділити надосад плазми в приєднаний трансферний контейнер.
5. За допомогою зварювача до контейнера з осадом тромбоцитів приєднати контейнер, що містить 100 мл розмороженої плазми обраної групи і додати перші 20–30 мл плазми. Контейнери залишити при температурі від 20 °C до 24 °C у спокої на 15–20 хв. Після чого контейнер поміщають у пристрій для зберігання тромбоцитів, що працює в режимі 80 циклів/хв. на 15 хв. потім переводять у режим 100–120 циклів/хв. та додають решту розмороженої плазми.
6. За допомогою запаювача відокремити контейнер і тромбоцитами.

6.2.3.6.2.2. Виготовлення тромбоцитів відмитих, ресуспендованих із компонента тромбоцитів, відновлених методом з ТЛШ

1. Контейнери, що містять по 55–65 мл ТЛШ, отриманих за рекомендаціями у п. 6.2.3.2.2.2, лишити у спокої при кімнатній температурі на 2–18 год. Для подальшого виготовлення компонента залишити також 1 дозу збідненої на клітини плазми, зберігати її при температурі від 2 °C до 6 °C.
2. За допомогою зварювача об'єднати 4–6 одиниць ТЛШ в одному контейнері та центрифугувати його при температурі від 20 °C до 24 °C при 650 g протягом 6 хв.
3. За допомогою екстрактора виділити надосад у приєднаний трансферний контейнер, а до осаду тромбоцитів ввести одну дозу плазми обраної групи.

УВАГА!

А. Після відокремлення надосаду можна додати також одну дозу ПСЗ обраної групи.

Б. Виготовлення тромбоцитів відмитих, ресуспендованих можливе із заморожених тромбоцитів.

В. Для виготовлення тромбоцитів відмитих, ресуспендованих, збіднених на лейкоцити, фільтрацію слід проводити до початку маніпуляцій із заміни плазми.

6.2.3.6.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.2.1.3, із позначкою у рубриці назви «Тромбоцити групи..... у плазмі групи……». Розміщення групи за системою AB0 обох тромбоцитів та плазми та Rh тромбоцитів обов'язкове.

6.2.3.6.4. Зберігання і термін придатності

Зберігати компоненти слід при температурі від 20 °C до 24 °C при постійному помішуванні.

1. Тромбоцити відмиті, ресуспендовані, які отримані у відкритій системі, слід перелити потягом 6 год. з моменту виготовлення компонента.
2. Тромбоцити відмиті, ресуспендовані, які отримані у закритій системі, зберігають протягом 5 діб.

6.2.3.6.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.2.1.5.

6.2.3.6.6. Контроль якості тромбоцитів відмитих, ресуспендованих

Контролю якості підлягають зразки, відібрані з первинних доз тромбоцитів до початку відмивання відповідно до пп. 6.2.3.2.6 та 6.2.3.3.6, а також зразки виготовлених тромбоцитів відмитих, ресуспендованих, у яких визначають:

– об'єм: більше 40 мл на $0{,}6 \times 10^{11}$ тромбоцитів, 5% усіх доз, при зберіганні протягом 5 днів, але не менше 4 доз на місяць;

– pH: 6,4–7,4 наприкінці терміну зберігання, 5% усіх доз, при зберіганні протягом 5 днів, але не менше 4 доз на місяць.

6.2.3.6.7. Показання для застосування

Тромбоцити відмиті, ресуспендовані застосовуються, коли недоступні тромбоцити, які зберігались при температурі від 20 °С до 24 °С. Призначають відповідно до пп. 6.2.3.2.7 та 6.2.3.3.7.

6.2.3.6.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.3.1.8.

6.2.3.6.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.3.1.9.

6.2.3.7. Тромбоцити відмиті

6.2.3.7.1. Визначення і властивості

Це компонент, отриманий шляхом видалення основної частини плазми з тромбоцитів відновлених, об'єднаних в одну дозу, або КТ, отриманого методом аферезу та ресуспендування клітин у розчині натрію хлориду 0,9% або ресуспендуючому розчині, що пройшли випробування. Видалення плазми виконують безпосередньо перед трансфузією, оскільки тромбоцити не можуть зберігатися у розчині натрію хлориду 0,9%.

6.2.3.7.2. Методи виготовлення

Усі дії з виготовлення компонента слід проводити відповідно до п. 6.2.3.6.2, тільки для ресуспендування тромбоцитів наприкінці використовують розчин натрію хлориду 0,9% або додатковий розчин для тромбоцитів.

6.2.3.7.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.3.1.3, із позначкою у рубриці назви «Тромбоцити відмиті». При використанні додаткового розчину слід зазначити його назву, склад, виробника.

6.2.3.7.4. Зберігання і термін придатності

Виготовлення компонента не передбачає його зберігання, тромбоцити відмиті необхідно перелити протягом 2 год. з моменту завершення процедури відмивання.

6.2.3.7.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.2.1.5.

6.2.3.7.6. Контроль якості тромбоцитів відмитих

Контролю якості підлягають зразки, відібрані з первинних доз тромбоцитів до початку відмивання (відповідно до пп. 6.2.3.2.6 та 6.2.3.3.6). Компонент тромбоцити відмиті піддають візуальному контролю для визначення відсутності макроскопічних агрегатів та згустків.

6.2.3.7.7. Показання для застосування

1. З метою поповнення дефіциту тромбоцитів у хворих із антитілами, спрямованими проти білків плазми, особливо анти-IgA, а також у хворих із тяжкими алергічними реакціями, які виявляються після переливань тромбоцитів, отриманих стандартними методами фракціонування та аферезу.
2. У випадках алоімунної тромбоцитопенії у новонароджених — для переливання тромбоцитів, заготовлених від матері.

6.2.3.7.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.3.1.8

6.2.3.7.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.3.1.9.

6.2.3.8. Тромбоцити опромінені

6.2.3.8.1. Визначення і властивості

Це компонент, отриманий шляхом іонізуючого випромінювання (25–50 Гр) дози тромбоцитів. Опромінення пригнічує проліферацийну здатність лімфоцитів, запобігаючи післятранфузійній хворобі «трансплантат проти господаря», але не знижує імуногенні здатності лейкоцитів і не запобігає імунізації антигенами HLA.

6.2.3.8.2. Метод виготовлення

Опромінювання можливо застосовувати до всіх різновидів тромбоцитів, отриманих стандартними методами фракціонування або аферезу, протягом 5 діб їх зберігання. Опромінення тромбоцитів заморожених або відмитих слід проводити після здійснення всіх попередніх процедур із компонентом.

Тривалість процедури опромінювання компонента залежить від типу апарата та активності джерела опромінення, при застосуванні методики слід чітко дотримуватись вказівок, зазначених в інструкції виробника апарата.

6.2.3.8.3. Маркування компонента

Перед опроміненням на контейнері розміщують спеціальну променечутливу етикетку, що змінює забарвлення або вигляд під впливом γ- або Х-променів, на якій зазначають інформацію відповідно до п. 6.2.3.1.3.

6.2.3.8.4. Зберігання і термін придатності

Зберігання та термін придатності опромінених тромбоцитів відповідають даним для первинного компонента п. 6.2.3.1.4.

6.2.3.8.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.3.1.5.

6.2.3.8.6. Контроль якості

Контролю якості підлягають зразки, відібрані з первинних доз тромбоцитів до початку опромінення відповідно до методу їх отримання (пп. 6.2.3.1.6, 6.2.3.2.6 та 6.2.3.3.6).

6.2.3.8.7. Показання для застосування

Тромбоцити опромінені застосовують для запобігання післятрансфузійній хворобі «трансплантат проти господаря». Цей компонент застосовується при лікуванні хворих із дефіцитом тромбоцитів

та вродженою/набутою недостатністю імунної системи, зокрема для внутрішньоматкових трансфузій, трансфузій новонародженим, а також для хворих, що вживають імуносупресивні препарати. Опромінення є необхідним також у випадку переливань тромбоцитів, отриманих від донорів-родичів I та II ступеня спорідненості, навіть якщо імунна система реципієнта функціонує нормально.

6.2.3.8.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.3.1.8.

6.2.3.8.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.3.1.9.

6.2.4. Лейкоцитарні компоненти крові

6.2.4.1. Гранулоцити, аферез

6.2.4.1.1. Визначення і властивості

Даний компонент, отриманий методом аферезу, становить собою гранулоцити, ресуспендовані у плазмі. Вміст гранулоцитів не менше $1{,}0\times10^{10}$ у дозі, присутня також значна кількість залишкових лімфоцитів, еритроцитів та тромбоцитів. Терапевтична доза гранулоцитів для дорослих та дітей становить більш 1,5–3,0 × 10^8 гранулоцитів/кг маси тіла, для новонароджених — більш ніж 1×10^9 гранулоцитів/кг маси тіла. Заготівля компонента можлива після вживання донором стимулюючих агентів: кортикостероїдів та гранулоцитарного колоніїстимулюючого фактора. Такі препарати не є повсякденними у практиці закладів служби крові, їх вживання можливе у виняткових ситуаціях після отримання інформованої добровільної згоди донора та колегіальної комісії, що призначає та контролює стимуляцію.

6.2.4.1.2. Метод виготовлення

Компонент отримують під час процедури аферезу, при цьому використовується клітинний сепаратор. Залежно від різновиду сепаратора, процедура може мати безперервний або циклічний характер. Процес лейкоцитаферезу триває близько 2,5 год., протягом цього часу поділу на фракції підлягає близько 7000 мл крові донора. Антикоагулянтом є зазвичай 4% розчин цитрату натрію. Для прискорення седиментації еритроцитів під час центрифугування до взятої крові додають розчин гідроксиетилкрохмалю (ГЕК), низькомолекулярного декстрану або модифікований розчин желатину.

Процедуру лейкоцитаферезу слід виконувати чітко за інструкцією, наданою виробником сепаратора.

УВАГА! *Залежно від застосованого сепаратора отримують компонент із різним вмістом еритроцитів. Якщо кількість еритроцитів у компоненті більше 2×10^{10} у дозі, то трансфузію здійснюють тільки після одержання результату проби на сумісність для еритроцитів, яку проводять на зразку крові донора, відібраному перед початком лейкоцитаферезу.*

6.2.4.1.3. Маркування компонента

Гранулоцити, аферез перед переливанням обов'язково опромінюють, тому на контейнері розміщують спеціальну променечутливу етикетку, яка змінює своє забарвлення під час процедури. Решта інформації відповідно до типового маркування компонентів крові згідно з п. 6.2.0.3.

6.2.4.1.4. Зберігання і термін придатності

Передбачається переливання компонента одразу після заготівлі. Зберігання обмежується терміном до 24 год. при температурі від 20 °С до 24 °С, без помішування.

УВАГА! *При заготівлі гранулоцитів, аферез можливе обстеження крові донора на маркери інфекційних агентів напередодні (за день) донації.*

6.2.4.1.5. Транспортування

Перевезення компонента здійснюють у транспортному контейнері з ізоляцією при температурі від 20 °С до 24 °С без струшування. За 30 хв. до використання транспортний контейнер слід відкрити і залишити при кімнатній температурі.

6.2.4.1.6. Контроль якості гранулоцитів, аферез

У компонента відбирають зразки, в яких визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об'єм (мл)	Менше 500 мл	Усі дози
2	Кількість гранулоцитів	Не менше $1{,}0 \times 10^{10}$ у дозі	

6.2.4.1.7. Показання для застосування

Компонент може застосовуватися для хворих, в яких спостерігаються:

– тяжка нейтропенія (кількість гранулоцитів — менш ніж 500/мл);

– лихоманка, яка триває 24–48 год., підтвердження (методом культивування) наявності бактерій чи грибів у циркулюючій крові, або прогресуюче зараження паренхіматозних органів, попри лікування відповідними антибіотиками;

– гіпоплазія кісткового мозку.

Також для пацієнтів з діагнозованою дисфункцією гранулоцитів (наприклад, хронічна гранулематозна хвороба) або для новонароджених з сепсисом та нейтропенією, спричиненою виснаженням резервного пулу гранулоцитів у кістковому мозку, можливе переливання гранулоцитів з огляду на інфекції, що загрожують життю, або з огляду на необхідність очікування пересадки кровотворних клітин.

Оскільки є ризик серйозних ускладнень для донора при заготівлі компонента та для реципієнта при переливанні, мету проведення трансфузій гранулоцитів слід чітко визначити ще до початку лікування.

6.2.4.1.8. Засоби безпеки при застосуванні

1. Якщо кількість еритроцитів у компоненті більше $2{\times}10^{10}$ у дозі, то трансфузію здійснюють тільки після одержання результату проби на сумісність для еритроцитів, яку проводять на зразку крові донора, відібраному перед початком лейкоцитаферезу.
2. Перед переливанням компонент слід опромінити.
3. Не рекомендується RhD-негативній дівчині або жінці у фертильному віці переливати RhD-позитивні гранулоцити, аферез. У разі необхідності переливання такого компонента слід застосувати імуноглобулін анти-D, щоб запобігти імунізації антигеном RhD.
4. Слід звернути увагу на сумісність за системою HLA для запобігання алоімунізації.
5. З огляду на ризик зараження ЦМВ, рекомендується ЦМВ-негативним реципієнтам переливати гранулоцити від ЦМВ-негативних донорів.

6.2.4.1.9. Ускладнення

1. Негемолітичні післятрансфузійні реакції (переважно застуда, лихоманка, кропивниця).
2. Алоімунізація антигенами HLA, HPA та HNA.
3. Значний ризик зараження латентними вірусами (цитомегаловірус, вірус Епштейна–Барр тощо) для пацієнтів, які піддаються імуносупресивному лікуванню.
4. Зараження найпростішими (наприклад, малярія) трапляється в рідкісних випадках.
5. Сепсис, спричинений випадковим бактеріальним забрудненням компонента.
6. Післятрансфузійна тромбоцитопенічна пурпура.
7. Накопичення гідроксиетилкрохмалю у пацієнтів, що піддавалися численним переливанням компонента.
8. Післятрансфузійна гостра дихальна недостатність (TRALI).
9. Зараження іншими інфекційними агентами, які наразі є недослідженими або нерозпізнаними.

6.2.5. Компоненти плазми

6.2.5.1. Плазма свіжозаморожена

6.2.5.1.1. Визначення і властивості

Даний компонент, отриманий методом плазмаферезу або фракціонування консервованої донорської крові, зберігають у замороженому стані протягом періоду, що дозволяє зберегти активність лабільних факторів згортання. ПСЗ містить усі стабільні фактори згортання, альбумін та глобуліни, не менше 50 г/л загального білка та не менше 70 МО Ф. VIII та інших лабільних факторів у 100 мл препарату.

ПСЗ, призначена для фракціонування, має відповідати вимогам ДФУ (вид. 1 доп.1) та Європейської Фармакопеї, наведеним у монографії «Плазма для фракціонування» («Plasma for Fractionation»).

6.2.5.1.2. Методи виготовлення

УВАГА!

А. Оптимальний час між закінченням донації та завершенням процесу заморожування плазми до –30 °С не повинен перевищувати 6 год.

Б. Якщо перед заморожуванням плазма проходить інактивацію інфекційних агентів, то допускається продовження часу між закінченням донації та завершенням процесу заморожування до 15 год. На етикетці компонента розміщують інформацію про застосований метод інактивації.

В. Подовжуючи час між закінченням донації та завершенням процесу заморожування, слід ураховувати падіння активності Ф. VIII. Таке зволікання має бути виправдане важливими обставинами.

6.2.5.1.2.1. Заготівля плазми методом фракціонування консервованої донорської крові

Дозу плазми отримують у результаті поділу однієї дози консервованої крові методами, описаними у п. 6.2.2.1.2. Плазма може виготовлятися з консервованої крові, якщо її відразу швидко охолодити до температури від 2 до 6 °С (або ж від 20 °С до 24 °С) та зберігатись при цій температурі до початку виготовлення компонентів не більше 4–6 год. Заморожування виділеної плазми до температури нижче –30 °С слід провести протягом 6 год. з моменту закінчення донації, а сама процедура охолодження до –30 °С не повинна тривати більше 1 год.

6.2.5.1.2.2. Заготівля плазми методом мануального плазмаферезу

1. Консервовану кров, взяту під час процедури мануального плазмаферезу, центрифугувати за режимом, наведеним у п. 6.2.2.1.2.1 (м'яке центрифугуваня). За допомогою екстрактора перевести більшу частину плазми у порожній супутній контейнер, залишаючи шар над еритроцитами для отримання еритроцитів із відповідними гематокритом.

2. Здійснити заморожування плазми до температури –30 °С одразу після отримання, але не пізніше 4–6 год. з моменту закінчення донації крові. Процес охолоджування до температури –30 °С не повинен тривати довше 1 год.

3. Отримані еритроцити перелити донору, попередньо додавши до них 100 мл розчину натрію хлориду 0,9%.

6.2.5.1.2.3. Заготівля плазми методом автоматичного плазмаферезу

Для отримання плазми методом автоматичного аферезу використовують спеціальні сепаратори. Після взяття цільної крові та її автоматичного перемішування з антикоагулянтом у процесі центрифугування та/або фільтрування відбувається відокремлення плазми від клітинних елементів та послідуюча їх реінфузія до кров'яного русла донора. Окремі етапи — взяття, сепарація та реінфузія — можуть відбуватись у визначеній послідовності (сепаратори з циклічним потоком) або одночасно (сепаратори з постійним потоком). Методи автоматичного плазмаферезу дозволяють отримувати до 800 мл об'єму плазми від одного донора.

Деякі типи сепараторів дозволяють паралельно отримувати плазму, КТ та еритроцити, аферез. Процедура автоматичного плазмаферезу має здійснюватися точно за інструкцією виробника.

Особливу увагу слід звернути на рекомендації до співвідношення крові з антикоагулянтом. Як антикоагулянт використовуються розчин ACD-A або 4% розчин цитрату натрію. Слід застосовувати розчини антикоагулянтів, рекомендовані виробником апарата (найкраще — розфасованих виробником). Навіть незначні відхилення від складу та пропорцій антикоагулянту можуть призвести до ускладнень у донора.

Здійснити заморожування плазми до температури –30 °С одразу після отримання, але не пізніше 4–6 год. з моменту закінчення донації крові. Процес охолоджування до температури –30 °С не повинен тривати довше 1 год.

УВАГА! *Плазма, отримана на апаратах для автоматизованого плазмаферезу з унікальною технологією мембранної фільтрації в поєднанні із центрифугуванням, класифікується як високоякісна лейкофільтрована із найнижчим вмістом лейкоцитів — менше ніж 10^4/л.*

6.2.5.1.3. Маркування компонента

ПСЗ має містити етикетку із зазначенням такої інформації:

1. Назва закладу, що здійснював заготівлю/виготовлення компонента.
2. Назва компонента згідно зі встановленим переліком.
3. Індивідуальний номер та штрих-код донації, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою.
4. Метод отримання (центрифугування, аферез).
5. Об'єм.
6. Дата заготівлі.
7. Термін придатності.
8. Назва і склад консервуючого розчину.
9. Умови зберігання.
10. Група крові за системою АВ0.
11. Позначку про результати аналізів донора на «ВІЛ-1, ВІЛ-2 нег.», «HbsAg-нег.», «HCV-нег.», «Сифіліс-нег.», «АлАТ — у межах норми».
12. Індивідуальний номер та штрих-код компонента, передбачений автоматизованою комп'ютерною системою.
13. Вказівки:
    - «Перед переливанням необхідно визначити групу крові пацієнта; провести біологічну пробу»;
    - «Переливати через систему для переливання крові з діаметром пор фільтра не більше 170–200 мкм».

УВАГА!

А. Якщо під час донації отриману дозу плазми розділяли (наприклад, при методі плазмаферезу), то це має бути відображено на етикетці.

Б. Якщо 1 доза плазми ділиться на дози для педіатричного використання або для подальшого виробництва, слід ці дози відповідним чином етикетувати, беручи до уваги всі поділи: перший поділ позначають, наприклад, цифрами 1, 2, 3, 4.

6.2.5.1.4. Зберігання і термін придатності

Компонент має зберігатися у замороженому стані. Відповідно до температури, при якій зберігають ПСЗ, визначається кінцевий термін її придатності.

№ з/п	Термін придатності	Температура зберігання
1	3 місяці	від –18 °С до –30 °С
2	36 місяців	від –30 °С і нижче

При зберіганні ПСЗ за різних температурних режимів термін придатності визначається за найвищим значенням температури, для чого період зберігання задокументовують (протоколи), зазначаючи діапазон температур у використовуваних холодильних пристроях.

Дози ПСЗ, призначені для клінічного використання, обов'язково карантинізують з повною забороною видачі компонента не менше 180 діб (відповідно до п. 6.1.6).

Плазму, призначену для промислового фракціонування, необхідно зберігати в умовах, заявлених отримувачем.

6.2.5.1.5. Транспортування

Транспортування здійснюють у замороженому стані при температурі не вище –18 °С, найкраще — у спеціальних автомобілях-морозильниках, автомобілях, обладнаних транспортним морозильником із електричним живленням або у контейнерах з ізоляцією у сухому льоді.

6.2.5.1.6. Контроль якості свіжозамороженої плазми

У відібраних зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Герметичність	Протікань не повинно бути з будь-якої частини контейнера	Усі одиниці
2	Візуальна оцінка	Забарвлення ніде не змінене, згустки, візуальні ознаки гемолізу відсутні(1)	
3	Об'єм (мл)	Встановлений об'єм ± 10%(2)	
4	Загальний білок	Не менше 50 г/л	4% всіх доз, але не менше 4 дози/тиждень
5	Ф. VIIIс	У середньому (після замороження та розмороження) ≥ 70%	Кожні 3 місяці пул із 3–6 доз
6	Еритроцити × 10^9/л*	Менше 6,0	4% усіх одиниць (не менш ніж 4 дози/місяць)
7	Лейкоцити × 10^9/л*	Менше 0,1	
8	Тромбоцити × 10^9/л*	Менше 50	

* *Визначити показник перед заморожуванням.*

(1) *Візуальний контроль: під час відокремлення у пресі, перед заморожуванням, після розмороження.*

(2) *Об'єм залежить від методу виготовлення препарату і встановлюється індивідуально для кожного центру донорства.*

6.2.5.1.7. Показання для застосування

Найчастіше ПСЗ використовується як сировина для фракціонування та виробництва препаратів.

Можливе застосування ПСЗ при лікуванні:

- порушень системи згортання крові, особливо у пацієнтів із дефіцитом кількох факторів згортання і в разі, якщо недоступні відповідні препарати, технологія виробництва яких передбачає інактивацію вірусів;
- тромбоцитопенічної пурпури;
- масивних крововтрат;
- проведенні замінних трансфузій.

6.2.5.1.8. Протипоказання

Не слід застосовувати ПСЗ:

– для поповнення об'єму циркулюючої крові, якщо одночасно не спостерігається дефіцит факторів згортання;

– як джерело імуноглобулінів;

– коли доступні відповідні препарати, технологія виробництва яких передбачає інактивацію вірусів;

– для лікування хворих, у яких спостерігається підвищена чутливість до білків плазми.

6.2.5.1.9. Засоби безпеки при застосуванні

1. Розморожувати компонент при температурі 37 °С у пристроях, що дозволяють контролювати температуру, наприклад, спеціальні розморожувачі для плазми, або водяний/сухий термостати.
2. Після розморожування проводять візуальний контроль, визначаючи герметичність контейнера. Переливання компонента з пошкоджених контейнерів, що протікають, заборонено.
3. Розморожений компонент, який містить згустки, переливати не рекомендовано.

6.2.5.1.10. Ускладнення

1. Негемолітичні післятрансфузійні реакції (переважно застуда, лихоманка, кропивниця).
2. Переобтяження кровообігу.
3. Сепсис, спричинений ненавмисним бактеріальним забрудненням компонента.
4. Можлива цитратна інтоксикація, при переливанні великий об'ємів плазми за короткий час.
5. Післятрансфузійна гостра дихальна недостатність (TRALI).
6. Анафілактичні та алергічні реакції.
7. Зараження іншими інфекційними агентами, які наразі є недослідженими або нерозпізнаними.

УВАГА! *При використанні компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.2.5.2. Кріопреципітат заморожений

6.2.5.2.1. Визначення і властивості

Кріопреципітат заморожений — це фракція білків, отриманих із плазми свіжозамороженої, сконцентрованих у малому об'ємі плазми. Кріопреципітат містить більшу частину Ф. VIII, фактора фон Віллебранда, фібриногену, Ф. XIII та фібронектину, присутніх у плазмі одразу після заготівлі.

6.2.5.2.2. Методи виготовлення

6.2.5.2.2.1. Отримання кріопреципітату сифонним методом

1. Контейнер із ПСЗ та поєднаний з ним порожній контейнер розміщують у пристрої для заморожування. Заморожувати як ПСЗ, причому вихідні отвори контейнерів мають розташовуватися внизу. До початку виготовлення кріопреципітату зберігати ПСЗ при температурі –30 °С або нижчій.
2. Контейнери із ПСЗ розмістити у утримувачах для виготовлення кріопреципітату й занурити у водяний термостат при температурі 4 °С.
3. Коли розморозиться близько 10 мл плазми, слід зняти пластиковий затискач і забезпечити вільне перетікання плазми у порожній контейнер, розміщений нижче від водяного термостата.

УВАГА!

А. У термостаті весь час необхідно підтримувати температуру 4 °С. Потрібні умови для виробництва кріопреципітату сифонним методом забезпечують спеціальні термостати з автоматичною регуляцією температури та функцією автоматичного помішування.

Б. Перевіряючи кількість плазми у первинному контейнері, слід вийняти його з термостата, попередньо призупинивши перетікання плазми за допомогою пластикового затискача.

4. Закінчити розморожування, коли в первинному контейнері залишиться майже безбарвний кристал льоду об'ємом 20–30 мл. Цей процес залежно від кількості доз, що піддаються переробці, триває 2–3 год.
5. Контейнери із кріопреципітатом та плазмою без Ф. VIII розділити за допомогою діелектричного запаювача. Кріопреципітат (без розморожування!) негайно помістити в морозильну камеру.

6.2.5.2.2.2. Виробництво кріопреципітату методом центрифугування

1. Заздалегідь виготовлену ПСЗ розморозити при температурі від 2 °С до 6 °С протягом 18–20 год. до досягнення часткового розморожування компонента (залишити невеличкий кристал льоду).
2. Центрифугувати компонент при температурі від 2 °С до 6 °С при 2000 g протягом 20 хв.

3. За допомогою екстрактора перевести надосад у порожній контейнер, контролюючи швидкість протікання так, щоб струмінь плазми не захоплював осад.

4. За допомогою запаювача розділити контейнери та швидко помістити контейнер із кріопреципітатом у морозильну камеру.

6.2.5.2.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.5.1.3.

6.2.5.2.4. Зберігання і термін придатності

Компонент слід зберігати у замороженому стані при температурі від –18 °С і нижче. Термін придатності компонента (відлік від дати взяття крові) залежить від температури зберігання та відповідає п. 6.2.5.1.4.

Розморожений кріопреципітат не можна заморожувати повторно, не використаний розморожений компонент утилізують.

6.2.5.2.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.5.1.5.

6.2.5.2.6. Контроль якості кріопреципітату замороженого

У відібраних зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Об’єм (мл)	30–40	Усі одиниці
2	Ф. VIIIc (МО/дозу)	Не менше 70	Кожні 2 місяці — пул із 3–4 доз[3]
3	Фібриноген (мг/дозу)	Не менше 140	1% усіх доз
4	Стерильність	Стерильно	1% усіх доз
5	Герметичність	Протікань не повинно бути з будь-якої частини контейнера	Усі дози
6	Візуальний контроль	Забарвлення ніде не змінене, згустки, візуальні ознаки гемолізу відсутні	

6.2.5.2.7. Показання для застосування

1. Дефіцит Ф. VIII (гемофілія А та хвороба фон Віллебранда), якщо недоступні відповідні препарати, технологія виробництва яких передбачає інактивацію вірусів.
2. Дисеміноване внутрішньосудинне зсідання (DIC).
3. Дефіцит та якісні зміни фібриногену.

6.2.5.2.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.5.1.8.

6.2.5.2.9. Ускладнення

1. Негемолітичні післятрансфузійні реакції (переважно застуда, лихоманка, кропивниця).
2. Сепсис, спричинений ненавмисним бактеріальним забрудненням компонента.
3. Зараження іншими інфекційними агентами, які наразі є недослідженими або нерозпізнаними.
4. Ризик вироблення інгібітора Ф. VIII у хворих на гемофілію.
5. У рідкісних випадках спостерігався гемоліз еритроцитів реципієнта, спричинений високим показником алоаглютинінів у донора.

УВАГА! *При використання компонента залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.2.5.3. Плазма, збіднена кріопреципітатом (кріосупернатантна плазма)

6.2.5.3.1. Визначення і властивості

Даний компонент отримують із ПСЗ після видалення кріопреципітату. Така плазма містить альбумін, імуноглобуліни і фактори згортання, наявні у ПСЗ, за винятком фібриногену та Ф. V, VIII. Компонент може бути призначений для клінічного використання або для подальшого фракціонування, наприклад, для виробництва Ф. IX.

6.2.5.3.2. Метод виготовлення

Компонент отримують як побічний продукт при виготовленні кріопреципітату (п. 6.2.5.2.2).

6.2.5.3.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.5.1.3.

6.2.5.3.4. Зберігання і термін придатності

Компонент слід зберігати у замороженому стані при температурі від –18 °С і нижче. Термін придатності компонента (відлік від дати взяття крові) залежить від температури зберігання та відповідає п. 6.2.5.1.4.

6.2.5.3.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.5.1.5.

6.2.5.3.6. Контроль якості плазми кріосупернатантної

У відібраних зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Візуальна оцінка	Не спостерігається зміни забарвлення, наявності згустків	Усі одиниці
2	Об’єм (мл)	Такий, що відповідає усталеному значенню для цього методу отримування плазми ± 10%	
3	Вміст залишкових клітин	Еритроцити: менше $6{,}0 \times 10^9$/л Лейкоцити: менше $0{,}1 \times 10^9$/л Тромбоцити: менше $50{,}0 \times 10^9$/л	4 дози/місяць

6.2.5.3.7. Показання для застосування

Лише при лікуванні тромбоцитопенічної пурпури.

6.2.5.3.8. Протипоказання

1. Компонент не повинен переливатися хворим з підвищеною чутливістю до білків плазми.
2. Плазму без Ф. VIII не рекомендують використовувати у повсякденній клінічній практиці, з огляду на ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу і доступність більш безпечних компонентів та препаратів.

6.2.5.3.9. Засоби безпеки при застосуванні

1. Перед переливанням відповідними лабораторними дослідженнями слід підтвердити групу крові реципієнта за системою АВ0.
2. Розморожувати компонент при температурі 37 °С у пристроях, що дозволяють контролювати температуру (наприклад, спеціальні розморожувачі для плазми, або водяний/сухий термостати).
3. Розморожений компонент, який містить згустки, переливати не рекомендують.
4. Після розморожування проводять візуальний контроль, визначаючи герметичність контейнера. Переливання компонента з пошкоджених контейнерів, що протікають, заборонено.
5. Плазму слід переливати одразу після розморожування. Повторне заморожування не припустиме.

6.2.5.3.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.5.1.10.

6.2.5.4. Плазма заморожена

6.2.5.4.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий після заморожування плазми, яку охолоджували пізніше 6 год. з моменту її взяття, але не пізніше 24 год., виготовляють методом фракціонування або плазмаферезу. Компонент характеризується низьким вмістом лабільних факторів згортання, зокрема активність Ф. VIII менше 0,8 МО/мл. Є сировиною для виробництва препаратів крові.

6.2.5.4.2. Методи виготовлення

Плазму, виготовлену методами фракціонування відповідно до п. 6.2.5.1.2.1 або аферезу (пп. 6.2.5.1.2.2 та 6.2.5.1.2.3), заморожують після 6 год. з моменту донації. У разі невідповідності ПСЗ до показників контролю якості, зазначеним у п. 6.2.5.1.6, зокрема активності Ф. VIII, усю серію кваліфікують як «Плазма заморожена» для фракціонування.

6.2.5.4.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.5.1.3.

6.2.5.4.4. Зберігання і термін придатності

Термін придатності компонента (відлік від дати взяття крові) залежить від температури зберігання: від –30 до –40 ºС протягом 12 місяців, нижче –40 ºС протягом 24 місяців.

6.2.5.4.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.5.1.5.

6.2.5.4.6. Контроль якості замороженої плазми

У відібраних зразках визначають:

№ з/п	Параметр	Необхідне значення	Частота контролю
1	Герметичність	Протікань не повинно бути з будь-якої частини контейнера	Усі одиниці
2	Візуальна оцінка	Забарвлення ніде не змінене, згустки візуальні ознаки гемолізу відсутні(1)	
3	Об’єм (мл)	Встановлений об’єм ± 10%(2)	
4	Загальний білок	Не менше 50 г/л	4% всіх доз, але не менше 4 доз/тиждень
5	Еритроцити × 10^9/л*	Менше 6,0	4% усіх одиниць (не менш ніж 4 доз/місяць)
6	Лейкоцити × 10^9/л*	Менше 0,1	
7	Тромбоцити × 10^9/л*	Менше 50	

* *Визначаються вимоги для аутологічних донацій та є рекомендаціями.*

6.2.5.4.7. Показання для застосування

Лише при лікуванні тромбоцитопенічної пурпури.

6.2.5.4.8. Протипоказання

1. Компонент не повинен переливатися хворим із підвищеною чутливістю до білків плазми.
2. Заморожену плазму не рекомендують використовувати у повсякденній клінічній практиці з огляду на відсутність у ній лабільних факторів згортання крові та доступність більш безпечних препаратів.

6.2.5.4.9. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.5.1.9.

6.2.5.4.10. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.5.1.10.

6.2.5.5. Плазма для фракціонування

6.2.5.5.1. Визначення і властивості

Даний компонент отримують фракціонуванням консервованої донорської крові, коли заморожування виділеної плазми здійснюється після 24 год. з моменту заготівлі, але не довше 7 діб після донації та зберігання крові при температурі від 2 °С до 6 °С; а також у випадках, коли плазму неможливо кваліфікувати як ПСЗ або Плазма заморожена.

6.2.5.5.2. Методи виготовлення

Компонент отримують методами, описаними у п. 6.2.2.1.2, якщо з плазми не виготовлені ПСЗ або ПЗ. Плазму свіжозаморожену та плазму заморожену, яку відбраковують з причин зміни забарвлення, наявності фібрину (згустків), а також у разі їх невикористання після розморожування, надалі кваліфікують як плазму для фракціонування. Для фракціонування не використовують плазму з ознаками гіперліпідемії.

6.2.5.5.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.5.1.3 можливе розміщення додаткової інформації за вимогою отримувача (установи, що здійснює фракціонування).

Компонент позначити: «Плазма для фракціонування». Етикетка повинна містити номер компонента, відомості про негативні результати аналізів на сифіліс та вірусні захворювання, а також усі інші дані, що їх вимагає отримувач (установа, що здійснює фракціонування).

6.2.5.5.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.5.4.4.

6.2.5.5.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.5.1.5.

6.2.5.5.6. Контроль якості

Не передбачений, можливе визначення окремих параметрів за вимогою замовника (установи, що здійснює фракціонування).

6.2.5.5.7. Показання для застосування

Не передбачене клінічне використання, компонент призначений виключно для переробки на препарати.

6.3. Компоненти крові для трансфузій у плід, замінного переливання новонародженим та переливання дітям раннього віку

Компоненти даної категорії передбачають спеціальне їх виготовлення, з урахуванням таких особливостей: нестандартний об'єм компонента; низька метаболічна функція; вищий, ніж у дорослих гематокрит; незрілість імунної системи реципієнта. Важливе уникнення розвитку післятрансфузійної хвороби «трансплантат проти господаря» та зараження вірусом цитомегалії, що набувають особливого значення при трансфузіях у плід, трансфузіях недоношеним дітям із малою вагою при народженні. Зі зростанням і розвитком дитини ці небезпеки значно зменшуються.

У відділеннях інтенсивної терапії дітям частіше переливають компоненти крові, ніж іншим пацієнтам; тому один із головних принципів виготовлення компонентів для педіатричного використання є зниження вмісту чужорідних антигенів у компонентах. Компоненти крові для педіатричного застосування готуються шляхом поділу однієї стандартної дози на менші. Відповідно до заявки лікаря, що призначає трансфузії, компоненти крові можуть піддавати процедурі видалення лейкоцитів або опроміненню.

6.3.1. Еритроцити для трансфузії у плід

6.3.1.1. Визначення і властивості

Даний компонент виділений із донорської крові групи 0, Rh-негативної (виняток, якщо в крові матері виявлено антитіла, що вказують на необхідність використання крові іншої групи). Еритроцити не можуть мати антигенів, до яких виявлено антитіла. Компонент може бути виготовлений і з крові матері (у цьому разі він має бути повністю звільнений від її плазми, яка містить антитіла, спрямовані проти еритроцитів плоду).

Еритоцити для внутрішньоматкової трансфузії повинні мати гематокрит від 0,70 до 0,85. Мають бути збіднені на лейкоцити методом фільтрації (для запобігання післятрансфузійному зараженню ЦМВ) та опромінені (для запобігання післятрансфузійній хворобі «трансплантат проти господаря»).

6.3.1.2. Метод виготовлення

Для виготовлення використовують еритроцитовмісні компоненти, бажано з видаленим ТЛШ, які зберігалися не довше 3-х діб з фенотипом, рекомендованим відділом трансфузійної імунології еритроцитів.

1. Із підібраних еритроцитів видаляють лейкоцити методом фільтрації, використовуючи при цьому зварювач. Найкраще, коли фільтрація була проведена до зберігання еритроцитів.
2. За допомогою зварювача з'єднати контейнер з еритроцитами, збідненими на лейкоцити, та порожній трансферний контейнер, у який переводять кількість компонента, що відповідає 110–115% від замовленого об'єму для переливання.
3. Контейнер із компонентом, призначеним для трансфузії у плід, центрифугувати при температурі від 2 °С до 6 °С відповідно до п. 6.2.2.1.2.1.
4. За допомогою екстрактора видалити надосад у порожній трансферний контейнер. До осаду еритроцитів додати розчин натрію хлориду 0,9% або розчин альбуміну 5%, якими довести компонент до потрібного об'єму та гематокриту.
5. Виготовлений компонент опромінюють відповідно до п. 6.2.2.11.2.

УВАГА!

А. Якщо компонент виготовляється з крові матері, то перед центрифугуванням слід додати еквівалентний об'єм розчину натрію хлориду 0,9% для максимального видалення плазми.

Б. Еритроцити рекомендується ресуспендувати у розчині альбуміну 5%. Розчин натрію хлориду 0,9% застосовувати лише у разі браку альбуміну — є ризик порушення натрієво-калієвої рівноваги.

6.3.1.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3 із позначенням у рубриці назви «Еритроцити, збіднені на лейкоцити, опромінені, для трансфузії у плід». Перед опромінюванням слід наклеїти на контейнер спеціальну променечутливу етикетку, що змінює своє забарвлення або вигляд під впливом γ- чи Х-променів.

6.3.1.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.0.4 термін придатності компонента, отриманого у закритій системі, визначається відповідно до терміну придатності первинного компонента, отриманого у відкритій системі, — 6 год. з моменту виготовлення та опромінення, але не більше 24 год. з моменту донації.

6.3.1.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.3.1.6. Контроль якості

Після виготовлення компонента зі з'єднувальної трубки обов'язково виготовляють зразок для проб на сумісність із сироваткою матері, а у зразках для контролю якості визначають:

Гематокрит: 0,7–0,85 (усі одиниці).

6.3.1.7. Показання для застосування

Значна анемія плода.

6.3.1.8. Засоби безпеки при застосуванні

Слід контролювати швидкість трансфузії, щоб уникнути раптових різких змін об'єму крові.

6.3.1.9. Ускладнення

1. Переобтяження кровообігу.
2. Гемолітичні післятрансфузійні реакції.
3. Зараження найпростішими (наприклад, малярія) трапляється в рідкісних випадках.
4. Сепсис, спричинений ненавмисним бактеріальним забрудненням компонента.

УВАГА! *При використанні компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.3.2. Тромбоцити для трансфузій у плід

6.3.2.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий методом аферезу або з дози крові методом фракціонування, має містити $45–85×10^9$ тромбоцитів. Компонент може бути виготовлений із крові донора, що не містить антигенів HPA, або ж із крові матері. У цьому випадку компонент має бути повністю звільнений від її плазми. Також тромбоцити для трансфузій у плід мають бути збіднені на лейкоцити методом фільтрації (для запобігання післятрансфузійному зараженню ЦМВ) та опромінені (для запобігання післятрансфузійній хворобі «трансплантат проти господаря»).

6.3.2.2. Методи виготовлення

6.3.2.2.1. Виготовлення тромбоцитів для трансфузії у плід із донорської плазми, збагаченої на тромбоцити

Виготовляють компонент із крові донора, сумісного за системою HPA.

1. Із донорської крові виділяють плазму відповідно до п. 6.2.3.1.2.1.
2. Зі збагаченої на тромбоцити плазми видалити лейкоцити методом фільтрації, діючи точно за рекомендаціями виробника фільтра. До контейнера зі збагаченою на тромбоцити плазмою під'єднують порожній трансферний контейнер. Усі маніпуляції здійснюють із використанням зварювача.
3. Контейнери слід повторно центрифугувати відповідно до п. 6.2.3.1.2.1, видалити надосад, залишаючи над осадом тромбоцитів близько 50 мл плазми. Ресуспендувати тромбоцити відповідно до п. 6.2.3.1.2.

УВАГА!

Якщо тромбоцити мають бути використані для переливання у день їх виготовлення, то над осадом тромбоцитів залишають 15–20 мл плазми.

4. Зберігати тромбоцити при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні.

5. Безпосередньо перед видачею компонента для переливання тромбоцити після зберігання повторно центрифугують відповідно до п. 6.2.3.1.2.1 та ресуспендують у 15–20 мл плазми.

6. Виготовлені тромбоцити для трансфузій у плід обов'язково опромінюють відповідно до п. 6.2.3.8.2, дотримуючись інструкції виробника обладнання.

6.3.2.2.2. Виготовлення тромбоцитів для трансфузії у плід із компонента, отриманого від донора автоматичним методом

1. З компонента, отриманого згідно з п. 6.2.3.3.2, видалити лейкоцити методом фільтрації відповідно до властивостей фільтра. Усі маніпуляції проводити за допомогою зварювача. Якщо апарат тромбоцитаферезу передбачає автоматичне видалення лейкоцитів, то додаткову фільтрацію не проводять.

2. Відібрати зразок для визначення кількості тромбоцитів. Після чого компонент ділять на дози із вмістом тромбоцитів не менше 60×10^9. Якщо передбачається їх зберігання у замороженому стані, то розділення здійснюють з урахуванням того, що після розмороження доза має містити $50–70 \times 10^9$ клітин.

3. Виготовлені дози зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні.

6.3.2.2.3. Виготовлення тромбоцитів для трансфузії у плід зі збагаченої на тромбоцити плазми матері

1. Виготовлення компонента проводять відповідно до п. 6.2.3.1.2.1 (пп. 1–4).

2. Безпосередньо перед видачею компонента для переливання, з метою повного видалення плазми матері до тромбоцитів додають 50 мл і повторно центрифугують відповідно до п. 6.2.2.6.2.

3. Повністю видалити надосад та ресуспендувати тромбоцити у розчині натрію хлориду 0,9%, 10–20 мл 5% розчину альбуміну або у розмороженій, карантинованій ПСЗ групи АВ.

4. Отримавши однорідну завись тромбоцитів, компонент опромінюють відповідно до п. 6.2.3.8.2.

6.3.2.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.3.1.3, із позначенням у рубриці назви «Тромбоцити, збіднені на лейкоцити, опромінені, для трансфузії у плід». Перед опромінюванням слід наклеїти на контейнер спеціальну променечутливу етикетку, що змінює своє забарвлення або вигляд під впливом γ- чи Х-променів.

6.3.2.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.3.1.4. Такі компоненти передбачають термінове використання після виготовлення — протягом 6 год.

6.3.2.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.3.1.5.

6.3.2.6. Контроль якості

Із первинної заготовленої дози відбирають зразок для серологічного контролю. З кінцевого виготовленого компонента відбирають зразок, у якому визначають:

– об'єм: менше 30 мл, усі дози;
– кількість тромбоцитів: 60×10^9/д — 90×10^9/д (усі дози).

6.3.2.7. Показання для застосування

Значна тромбоцитопенія, яка може бути спричинена алоімунізацією плода.

6.3.2.8. Засоби безпеки при застосуванні

1. Для уникнення різких змін об'єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії.
2. Контроль можливості кровотечі у місці проколу.

6.3.2.9. Ускладнення

Сепсис, спричинений випадковим бактеріальним забрудненням компонента.

УВАГА! *При використанні компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.3.3. Консервована донорська кров для замінного переливання

6.3.3.1. Визначення і властивості

Замінне переливання — це особливий різновид масивної трансфузії. Для того, щоб уникнути метаболічних та гемостатичних порушень, слід використовувати донорську кров, заготовлену в найбільш ранні сроки. Використання консервованої крові передбачає зниження ризику зараження ЦМВ та розвитку хвороби «трансплантат проти господаря». Для замінних трансфузій використовують консервовану донорську кров (п. 6.2.1.2), що зберігалась не більше 3-х діб, фенотип якої рекомендований відділом трансфузійної імунології. Гематокрит препарату має становити 0,40–0,50.

6.3.3.2. Спосіб отримання

Із підібраної дози консервованої донорської крові необхідно видалити лейкоцити та піддати її опроміненню. Послідовність виконання процедур довільна.

6.3.3.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3, із позначенням у рубриці назви «Консервована донорська кров, збіднена на лейкоцити, опромінена». Перед опромінюванням слід наклеїти на контейнер спеціальну променечутливу етикетку, що змінює своє забарвлення або вигляд під впливом γ- чи Х-променів.

6.3.3.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.1.4 термін придатності донорської крові для замінного переливання, отриманої у закритій системі, визначається відповідно до терміну придатності первинної дози, а отриманої у відкритій системі, — 6 год. з моменту виготовлення та опромінення, але не більше 24 год. з моменту донації.

6.3.3.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.1.5.

6.3.3.6. Контроль якості

Відповідно до п. 6.2.1.6.

6.3.3.7. Показання для застосування

1. Замінне переливання у новонароджених.
2. Масивні трансфузії у новонароджених та немовлят.

6.3.3.8. Засоби безпеки при застосуванні

Щоб уникнути різких змін об’єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії.

6.3.3.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.1.10.

6.3.4. Еритроцити, відмиті, ресуспендовані для замінного переливання

6.3.4.1. Визначення і властивості

Даний компонент отримують шляхом ресуспендування еритроцитів, зазвичай групи 0, у плазмі групи АВ або у плазмі, що відповідає групі крові реципієнта. Застосовують для замінного переливання новонародженим з гемолітичною хворобою, викликаною конфліктом системи АВ0, або

з імунізацією іншими антигенами еритроцитів, у такому випадку, вибір компонента визначають антитіла, що їх виробляє мати. У будь-якому разі компонент готують з еритроцитів, фенотип яких рекомендований відділом трансфузійної імунології.

6.3.4.2. Метод виготовлення

Для замінного переливання виготовляють еритроцити з компонента, що попередньо зберігали не більше 3 діб, із використанням карантинізованої ПСЗ.

1. Із відібраних еритроцитів видаляють лейкоцити методом фільтрації.відповідно до п. 6.2.2.7.2.
2. Збіднені на лейкоцити еритроцити центрифугують відповідно до п. 6.2.2.6.2. Видаляють надосад плазми у порожній приєднаний контейнер.
3. До контейнера з осадом еритроцитів за допомогою зварювача приєднують контейнер з розмороженою ПСЗ групи АВ або групи, що відповідає групі крові реципієнта, і додають її. За допомогою запаювача контейнери відокремлюють.
4. Виготовлений компонент опромінюють відповідно до п. 6.2.2.11.2.

УВАГА! *При виготовленні такого компонента опромінення має бути останньою маніпуляцією.*

6.3.4.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3 із зазначенням «Еритроцити, групи..., у плазмі групи...». Перед опромінюванням слід наклеїти на контейнер спеціальну променечутливу етикетку, що змінює своє забарвлення або вигляд під впливом γ- чи Х-променів. Маркування компонента необхідно проводити таким чином, щоб залишалась можливість відстежити кожен із використаних компонентів.

6.3.4.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.2.6.4. Компоненти, отримані у закритій системі, необхідно використати протягом 24 год. з моменту виготовлення, у відкритій системі — протягом 6 год.

6.3.4.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.3.4.6. Контроль якості

Контроль якості визначається у первинному компоненті відповідно до методу його заготівлі. З кінцевого компонента виготовляють зразки, у яких визначають:

– гематокрит: 0,40–0,50, не менше 4 доз на місяць.

6.3.4.7. Показання для застосування

1. Замінне переливання новонародженим.
2. Масивні трансфузії у новонароджених та немовлят.

6.3.4.8. Засоби безпеки при застосуванні

Щоб уникнути різких змін об’єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії.

6.3.4.9. Ускладнення

1. Переобтяження кровообігу.
2. Гемолітичні післятрансфузійні реакції.
3. Алоімунізація антигенами HLA.
4. Зараження найпростішими організмами (наприклад, малярія) трапляється в рідкісних випадках.
5. Сепсис, спричинений випадковим бактеріальним забрудненням компонента.

УВАГА! *При використанні компонентів крові залишається ризик передачі вірусних захворювань та сифілісу, незважаючи на старанний відбір донорів та негативні результати аналізів.*

6.3.5. Еритроцити для неонатологічного використання (поповнювальні трансфузії)

6.3.5.1. Визначення і властивості

Це компонент, отриманий з еритроцитів або еритроцитів у додатковому розчині, група яких за системами АВ0 та Rh відповідає крові дитини; у випадку виявлення антитіл у крові матері застосовують компонент іншої групи. Компонент має бути збіднений на лейкоцити методом фільтрації (для запобігання післятрансфузійному зараженню ЦМВ) та опромінений (для запобігання післятрансфузійній хворобі «трансплантат проти господаря»).

6.3.5.2. Метод виготовлення

Для виготовлення компонента слід використати еритроцити, фенотип яких рекомендовано відділом трансфузійної імунології еритроцитів, причому до видалення лейкоцитів первинний компонент має зберігатися не більше 3-х діб незалежно від різновиду консервуючого або додаткового розчину. Всі маніпуляції рекомендовано здійснювати за допомогою зварювача відповідно до п 6.1.1.2.3.

1. Із відібраних еритроцитів видалити лейкоцити методом фільтрації відповідно до п. 6.2.2.7.2.
2. За допомогою зварювача до контейнера з фільтрованими еритроцитами приєднати порожній трансферний контейнер та перевести еритроцити у кількості, що відповідає об'єму замовлених доз.
3. Безпосередньо перед видачею компонента для клінічного застосування рекомендовано його опромінити відповідно до п. 6.2.2.11.2.

6.3.5.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3. Перед опроміненням слід наклеїти на контейнер спеціальну променечутливу етикетку, що змінює своє забарвлення або вигляд під впливом γ- та Х-променів.

6.3.5.4. Зберігання і строк придатності

Зберігати відповідно до п. 6.2.2.7.4 та 6.2.2.11.4.

Термін придатності визначається також відповідно до антикоагулянту або додаткового розчину та виготовлення у відкритій чи закритій системі.

УВАГА! *Слід пам'ятати, що розділення на дози для неонатологічного використання слід здійснювати для компонента, що зберігався не більше 5 діб від моменту заготівлі, а опромінювати не більше 4 діб.*

6.3.5.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.3.5.6. Контроль якості

Здійснюється для первинної дози компонента, контроль якості виготовлених доз не передбачено.

6.3.5.7. Показання для застосування

1. Анемія у недоношених малят.
2. Поповнення дефіциту еритроцитів, що виник внаслідок взяття крові на аналізи.
3. Поповнення дефіциту еритроцитів, що виник під час хірургічних втручань.

6.3.5.8. Засоби безпеки при застосуванні

Щоб уникнути різких змін об'єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії. Рекомендована швидкість — 5 мл/кг/год.

6.3.5.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.3.4.9.

6.3.6. Тромбоцити для трансфузій новонародженим

6.3.6.1. Визначення і властивості

Даний компонент, отриманий фракціонуванням доз консервованої донорської крові або методом тромбоцитаферезу, має містити 50–70 $\times 10^9$ тромбоцитів у дозі. Для новонароджених із тромбоцитопенією, що виникла внаслідок алоімунізації антигенами HLA, компонент готують із донорської крові, сумісної за системою HLA із новонародженим, або ж із крові матері (тоді компонент має бути повністю позбавлений материнської плазми, яка містить антитіла, спрямовані проти тромбоцитів новонародженої дитини).

Компонент для неонатального використання має бути звільнений від лейкоцитів методом фільтрації (для запобігання післятрансфузійному зараженню ЦМВ), а також опромінений (для запобігання післятрансфузійній хворобі «трансплантат проти господаря»).

УВАГА! *Для новонароджених дітей із низькою вагою можливе використання компонента меншого об'єму, ніж дози для неонатального використання, у таких випадках виготовляють дози тромбоцитів для трансфузій у плід відповідно до п. 6.3.2.2.*

6.3.6.2. Методи виготовлення

6.3.6.2.1. Виготовлення тромбоцитів, відновлених з дози крові із донорської плазми, збагаченої на тромбоцити

1. Із донорської крові виділяють плазму відповідно до п. 6.2.2.1.2.3.
2. Зі збагаченої на тромбоцити плазми видалити лейкоцити методом фільтрації, діючи точно за рекомендаціями виробника фільтра. До контейнера зі збагаченою на тромбоцити плазмою під'єднати порожній трансферний контейнер. Усі маніпуляції здійснюють із використанням зварювача.
3. Контейнери повторно центрифугувати відповідно до п. 6.2.2.1.2.3, видалити надосад, залишаючи над тромбоцитами близько 50 мл плазми, після чого ресуспендувати тромбоцити.
4. Зберігати тромбоцити при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні.
5. Виготовлені тромбоцити для трансфузій новонародженим обов'язково опромінюють відповідно до п. 6.2.3.8.2, дотримуючись інструкції виробника обладнання.

6.3.6.2.2. Виготовлення тромбоцитів із компонента, отриманого від донора методом тромбоцитаферезу

1. Із компонента, отриманого відповідно до п. 6.2.3.3.2, видалити лейкоцити методом фільтрації. Усі маніпуляції проводити за допомогою зварювача. Якщо апарат тромбоцитаферезу передбачає автоматичне видалення лейкоцитів, то додаткову фільтрацію не проводять.
2. Відібрати зразок для визначення кількості тромбоцитів. Після чого компонент розділяють на дози зі вмістом тромбоцитів 60×10^9. Якщо передбачається їх зберігання у замороженому стані, то розділення здійснюють з урахуванням того, що після розмороження доза має містити $50–70 \times 10^9$ клітин.
3. Виготовлені дози зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні.
4. Виготовлені тромбоцити для трансфузій новонародженим обов'язково опромінюють відповідно до п. 6.2.3.8.2, дотримуючись інструкції виробника обладнання.

6.3.6.2.3. Виготовлення тромбоцитів, відновлених з дози крові, зі збагаченої на тромбоцити плазми матері

1. Виготовлення компонента проводять відповідно до п. 6.2.3.2.2 (пп. 1–4).
2. Отримані тромбоцити повторно центрифугують відповідно до п. 6.2.3.6.2.
3. Повністю видалити надосад та ресуспендувати тромбоцити у 25–50 мл розчину альбуміну або у розмороженій, карантинованій ПСЗ групи АВ.
4. Отримавши однорідну завись тромбоцитів, компонент опромінюють відповідно до п. 6.2.3.8.2.

6.3.6.2.4. Виготовлення тромбоцитів із компонента, отриманого від матері методом тромбоцитаферезу

1. Із компонента, отриманого відповідно до п. 6.2.3.3.2, видалити лейкоцити методом фільтрації. Усі маніпуляції проводити за допомогою зварювача. Якщо апарат тромбоцитаферезу передбачає автоматичне видалення лейкоцитів, то додаткову фільтрацію не проводять.

2. Відібрати зразок для визначення кількості тромбоцитів. Після чого компонент розділяють на дози з вмістом тромбоцитів 70×10^9. Якщо передбачається їх зберігання у замороженому стані (6.2.3.5.2), то розділення здійснюють з урахуванням того, що після розмороження доза має містити $50–70 \times 10^9$ клітин.

3. Виготовлені дози зберігають при температурі від 20 °С до 24 °С та постійному перемішуванні.

4. Безпосередньо перед видачею тромбоцити повторно центрифугують відповідно до п. 6.2.3.6.2.

4. Повністю видалити надосад та ресуспендувати тромбоцити у 50 мл розчину альбуміну або у розмороженій, карантинованій ПСЗ групи АВ.

5. Отримавши однорідну завись тромбоцитів, компонент опромінюють відповідно до п. 6.2.3.8.2.

6.3.6.3.Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.3.1.3. Перед опроміненням слід наклеїти на контейнер спеціальну променечутливу етикетку, що змінює своє забарвлення або вигляд під впливом γ- чи Х-променів.

6.3.6.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до пп. 6.2.3.7.4 та п. 6.2.3.8.4.

УВАГА! *Для новонароджених з низькою вагою потрібно зменшувати об'єм дози до 25 мл. У такому випадку термін придатності становить 6 год., незалежно від типу використаної системи (закрита або відкрита).*

6.3.6.5. Транспортування

Відповідно до 6.2.3.1.5.

6.3.6.6. Контроль якості

Визначають контроль якості первинних доз (відповідно до їх параметрів (пп. 6.2.3.1.6, 6.2.3.3.6 та 6.2.3.4.6), відібраних для виготовлення тромбоцитів для трансфузій новонародженим та з кожної виготовленої дози відбирають зразок, у якому визначають:

– об'єм: менше 50 мл — усі дози;
– вміст тромбоцитів: $2–3\times10^{12}$/л — усі дози.

6.3.6.7. Показання для застосування

Значна тромбоцитопенія у новонароджених.

Тромбоцити, виготовлені з крові матері для неонатального використання, рекомендують виключно для новонароджених із тяжкою тромбоцитопенією, що виникла внаслідок алоімунізації антигенами HPA.

6.3.6.8. Засоби безпеки при застосуванні

Щоб уникнути різких змін об'єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії.

6.3.6.9. Ускладнення

Відповідно до пп. 6.2.3.6.9 та 6.2.3.8.9.

6.3.7. Еритроцити для педіатричного використання

6.3.7.1. Визначення і властивості

Для педіатричного використання застосовують еритроцити із видаленим ТЛШ (п. 6.2.2.2), еритроцити з видаленим ТЛШ у додатковому розчині (п. 6.2.2.3) або еритроцити, збіднені на лейкоцити (п. 6.2.2.7), поділені на дози об'ємом від 25 до 100 мл.

6.3.7.2. Метод виготовлення

Дози відібраних еритроцитів, отриманих одним із методів відповідно до пп. 6.2.2.2.2, 6.2.2.3.2 або 6.2.2.7.2, розділяють на дози для педіатричного використання відповідно до рекомендацій п. 6.1.1.2.3.

6.3.7.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.0.3.

6.3.7.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.0.4.

6.3.7.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.0.5.

6.3.7.6. Контроль якості

Визначають контроль якості первинних доз відповідно до методу їх виготовлення (пп. 6.2.2.2.6, 6.2.2.3.6 або 6.2.2.7.6), контроль якості виготовлених доз не передбачено.

6.3.7.7. Показання для застосування

1. Анемія.
2. Поповнення дефіциту еритроцитів, що виник внаслідок взяття крові на аналізи.
3. Поповнення дефіциту еритроцитів, що виник під час хірургічних втручань.

6.3.7.8. Засоби безпеки при застосуванні

Щоб уникнути різких змін об'єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії. Безпечним вважається переливання з швидкістю 5 мл/кг/год.

6.3.7.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.3.1.9.

6.3.8. Тромбоцити для педіатричного використання

6.3.8.1. Визначення і властивості

Даний компонент отриманий будь-яким із методів виготовлення дози тромбоцитів (пп. 6.2.3.1, 6.2.3.4, 6.2.3.3). Зазвичай за один раз переливають 1 дозу КТ на 10 кг маси тіла реципієнта. Якщо компонент отримано методом автоматичного тромбоцитаферезу (п. 6.2.3.4), може виникнути необхідність розділення його на менші дози.

6.3.8.2. Метод виготовлення

Компонент, отриманий методом тромбоцитаферезу, поділити на педіатричні дози у закритій системі за допомогою зварювача. При виготовлені компонента з використанням фільтрів, необхідно обробляти щонайменше 2 дози тромбоцитів, для отримання необхідної кількості тромбоцитів у кінцевому компоненті.

6.3.8.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.3.1.3.

6.3.8.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.3.1.4.

6.3.8.5. Транспортування

Відповідно до п 6.2.3.1.5.

6.3.8.6. Контроль якості

Визначають контроль якості первинних доз відповідно до методу їх виготовлення (пп. 6.2.3.1.6, 6.2.3.4.6, 6.2.3.3.6), контроль якості виготовлених доз не передбачено.

6.3.8.7. Показання для застосування

Значна тромбоцитопенія.

6.3.8.8. Засоби безпеки при застосуванні

Щоб уникнути різких змін об'єму крові, слід контролювати швидкість трансфузії.

6.3.8.9. Ускладнення

Відповідно до пп. 6.2.3.1.9, 6.2.3.4.9, 6.2.3.3.9.

6.3.9. Плазма свіжозаморожена для педіатричного використання

6.3.9.1. Визначення і властивості

Це компонент, отриманий за методами відповідно до п. 6.2.5.1.2, розділений у закритій системі за рекомендаціями п. 6.1.1.2.3.

6.3.9.2. Метод виготовлення

Заготівлю плазми здійснюють згідно з п. 6.2.5.1.2, розділяють компонент згідно з п. 6.1.1.2.3. Заморожування здійснюють згідно із загальними вимогами до ПСЗ.

УВАГА! *Розділення плазми на дози для педіатричного використання необхідно проводити до заморожування.*

6.3.9.3. Маркування компонента

Відповідно до п. 6.2.5.1.3.

6.3.9.4. Зберігання і термін придатності

Відповідно до п. 6.2.5.1.4.

6.3.9.5. Транспортування

Відповідно до п. 6.2.5.1.5.

6.3.9.6. Контроль якості

Визначають контроль якості первинних доз відповідно до методу їх виготовлення (п. 6.2.5.1.6), контроль якості виготовлених доз не передбачений.

6.3.9.7. Показання для застосування

Відповідно до п. 6.2.5.1.7.

6.3.9.8. Засоби безпеки при застосуванні

Відповідно до п. 6.2.5.1.8.

6.3.9.9. Ускладнення

Відповідно до п. 6.2.5.1.9.

Розділ 7
ТРАНСФУЗІЙНА ІМУНОЛОГІЯ ЕРИТРОЦИТІВ

ЗМІСТ

7.1. Імуногематологічні дослідження донорів крові ... 179
7.2. Консультаційні аналізи для реципієнтів ... 180
7.2.1. Обстеження у консультаційній лабораторії ... 181
7.3. Основна апаратура, лабораторне устаткування та реактиви ... 181
7.3.1. Апаратура ... 181
7.3.1.1. Калібрування центрифуг для імуногематологічних аналізів ... 182
7.3.1.1.1. Калібрування центрифуги для тесту прямої аглютинації ... 182
7.3.1.1.2. Калібрування центрифуги для антиглобулінових тестів ... 183
7.3.2. Лабораторне устаткування ... 183
7.3.3. Реактиви ... 184
7.3.3.1. 0,15 моль/л розчин NaCl із pH 6,6–7,6 ... 184
7.3.3.2. Розчин низької іонної сили NaCl 0,03 моль/л (розчин LISS) ... 184
7.3.3.3. Розчин папаїну, активованого цистеїн гідрохлоридом ... 184
7.3.3.3.1. Склад ... 184
7.3.3.3.2. Виготовлення папаїнового реактиву ... 184
7.3.3.4. Розчин папаїну, активованого цистеїн гідрохлоридом з додаванням цистину ... 185
7.3.3.4.1. Склад реактиву ... 185
7.3.3.4.2. Приготування реактиву ... 185
7.3.3.4.3. Контроль активності папаїнових реактивів ... 185
7.3.3.5. Розчин EDTA-натрію (EDTA-Na_2) ... 186
7.3.3.6. Розчин тромбіну ... 186
7.3.3.7. Розчин полібрену ... 186
7.3.3.8. Розчин MEP для руйнування аутоантитіл на еритроцитах перед використанням їх для аутоадсорбції ... 186
7.3.3.9. Розчини для диференціації антитіл IgG та IgM ... 186
7.3.3.9.1. Розчин димеркаптоетанолу (2ME) ... 186
7.3.3.9.2. Розчин дитіотреїтолу (DTT) ... 186
7.3.3.10. Розчин хлорохін фосфату ... 186
7.3.3.11. Розчин кислого гліцину та EDTA ... 187
7.3.3.12. Стандарт анти-D ... 187
7.3.3.13. Розчини для зберігання еритроцитів ... 187
7.3.3.13.1. Модифікований розчин Альсевера ... 187
7.3.3.13.2. Розчин із додаванням сироватки людини ... 187
7.3.3.14. Зберігання еритроцитів у замороженому стані ... 188
7.3.3.14.1. Зберігання еритроцитів, заморожених із гліцерином ... 188
7.3.3.14.1.1. Склад розчину для заморожування еритроцитів ... 188
7.3.3.14.1.2. Заморожування еритроцитів ... 188
7.3.3.14.1.3. Розчини для відмивання розморожених еритроцитів ... 188
7.3.3.14.1.4. Розморожування еритроцитів ... 188
7.3.3.15. Бактерицидні засоби, що застосовуються для консервації зразків сироваток ... 189
7.3.3.15.1. Розчин тіомерсалу ... 189
7.3.3.15.2. Розчин натрію азиду ... 189
7.3.4. Основний набір діагностичних реактивів ... 189
7.3.4.1. Витяжки з насіння ... 190
7.3.4.1.1. Основний набір лектинів ... 190
7.3.4.1.2. Виготовлення витяжки з насіння ... 190
7.4. Принципи взяття крові, її зберігання та підготовки до аналізів ... 190
7.4.1. Взяття крові для імуногематологічних аналізів ... 190

7.4.2. Взяття крові для генетичних аналізів ... 191
7.4.3. Загальні принципи документації та виконання аналізів ... 191
7.5. Методики серологічних аналізів ... 195
7.5.1. Завісі еритроцитів ... 195
7.5.1.1. Завись еритроцитів у розчині NaCl ... 195
7.5.1.2. Завись еритроцитів, оброблених папаїном ... 195
7.5.1.2.1. Приготування еритроцитів, оброблених папаїном ... 195
7.5.2. Ензимні (ферментні) тести ... 195
7.5.2.1. Ензимний тест низької іонної сили (LEN) ... 195
7.5.2.2. Пробірковий тест з еритроцитами, обробленими папаїном (двоступеневий папаїновий тест) ... 196
7.5.3. Полібреновий тест ... 196
7.5.3.1. Реактиви для полібренового тесту ... 196
7.5.3.1.1. Розчин низької іонної сили (LIM) ... 196
7.5.3.1.2. 10% полібрен у буферному розчині NaCl ... 196
7.5.3.1.3. Розчин для приготування завісі еритроцитів (RS) ... 196
7.5.3.2. Проведення аналізу ... 196
7.5.4. Антиглобулінові тести ... 197
7.5.4.1. Антиглобулінові тести у пробірках ... 197
7.5.4.1.1. Контроль активності антиглобулінового реактиву ... 197
7.5.4.1.1.1. Сенсибілізація еритроцитів ... 197
7.5.4.1.1.2. Відмивання еритроцитів ... 197
7.5.4.1.1.3. Аналіз із антиглобуліновим реактивом ... 197
7.5.4.1.2. Контроль якості центрифуги для автоматичного відмивання еритроцитів ... 197
7.5.4.1.3. Прямий антиглобуліновий тест (ПАГТ) ... 198
7.5.4.1.3.1. Проведення аналізу в пробірках ... 198
7.5.4.1.4. Непрямий антиглобуліновий тест (НАГТ) ... 198
7.5.4.1.4.1. Класичний непрямий антиглобуліновий тест (НАГТ-NaCl) ... 198
7.5.4.1.4.2. Непрямий антиглобуліновий тест із застосуванням розчину низької іонної сили (НАГТ-LISS) ... 199
7.5.4.1.4.2.1. Підготовка еритроцитів ... 199
7.5.4.1.4.2.2. Проведення тесту НАГТ-LISS ... 199
7.5.4.1.4.3. Двоступеневий антиглобуліновий тест із застосуванням методики LISS ... 199
7.5.4.1.4.4. Непрямий антиглобуліновий тест із застосуванням поліетиленгліколю (НАГТ-PEG) ... 200
7.5.4.1.4.4.1. Реактиви ... 200
7.5.4.1.4.4.2. Проведення аналізу ... 200
7.5.4.1.5. Контроль негативних результатів антиглобулінового тесту ... 200
7.5.4.1.5.1. Принцип методу ... 200
7.5.4.1.5.2. Підготовка еритроцитів, сенсибілізованих відповідним чином ... 200
7.5.4.1.5.3. Інтерпретація результату ... 201
7.5.4.1.5.4. Контроль ймовірності негативного результату антиглобулінового тесту ... 201
7.5.4.1.6. Джерела помилок в антиглобуліновому тесті у пробірках ... 201
7.5.4.1.6.1. Найбільш поширені причини псевдопозитивних результатів ... 201
7.5.4.1.6.2. Найбільш поширені причини псевдонегативних результатів ... 201
7.5.5. Визначення титру антитіл у сироватці ... 202
7.5.5.1. Принцип дослідження ... 202
7.5.5.2. Метод у пробірках ... 202
7.5.5.3. Метод мікроколонок ... 202
7.5.6. Виявлення речовини АВН у слині ... 203
7.5.6.1. Підготовка слини до аналізу ... 203
7.5.6.2. Проведення аналізу ... 203
7.5.7. Відокремлення двох популяцій еритроцитів ... 204
7.5.7.1. Приклад двох популяцій еритроцитів груп АВ та А ... 204
7.5.7.2. Спосіб дій ... 204
7.5.7.3. Вивільнення еритроцитів з аглютинатів, отриманих під час розділення двох популяцій ... 204
7.5.8. Метод відокремлення перелитих еритроцитів від аутологічних ... 204
7.5.8.1. Спосіб дій ... 204
7.5.9. Адсорбція/елюція антитіл ... 205

7.5.9.1. Адсорбція антитіл 205
7.5.9.2. Методики елюції антитіл 206
7.5.9.2.1. Тепловий метод 206
7.5.9.2.2. Ефірно-тепловий метод 206
7.5.9.2.3. Метод із застосуванням кислого гліцину та EDTA 206
7.5.10. Виділення аутоантитіл із метою вивільнення антигенових детермінант на еритроцитах 207
7.5.10.1. Метод із застосуванням хлорохін фосфату 207
7.5.10.2. Метод із застосуванням кислого гліцину та EDTA 207
7.5.11. Адсорбція аутоантитіл із сироватки 207
7.5.11.1. Аутоадсорбція 208
7.5.11.1.1. Метод аутоадсорбції зі застосуванням еритроцитів, оброблених кислим гліцином, EDTA та папаїновим реактивом 208
7.5.11.1.1.1. Підготовка еритроцитів до аутоадсорбції 208
7.5.11.1.1.2. Виконання аутоадсорбції 208
7.5.11.1.1.3. Контроль аутоадсорбції 208
7.5.11.1.2. Метод аутоадсорбції із застосуванням еритроцитів, оброблених розчином MEP 209
7.5.11.1.3. Метод аутоадсорбції у середовищі 20% PEG 209
7.5.11.1.3.1. Проведення адсорбції 209
7.5.11.1.3.2. Контроль результативності аутоадсорбції 209
7.5.11.2. Алоадсорбція 209
7.5.11.2.1. Алоадсорбція аутоантитіл у середовищі 20% PEG 210
7.5.11.2.1.1. Проведення алоадсорбції 210
7.5.11.2.1.2. Контроль результативності алоадсорбції 210
7.5.11.2.2. Алоадсорбція аутоантитіл еритроцитами, обробленими папаїном 210
7.5.11.2.2.1. Проведення алоадсорбції 210
7.5.11.2.2.2. Контроль результативності алоадсорбції 210
7.5.12. Диференціація антитіл IgG та IgM 211
7.5.12.1. Обробка сироватки 2ME 211
7.5.12.2. Обробка сироватки DTT 211
7.5.13. Виявлення дефекту в оболонці еритроцитів за допомогою полібрену 211
7.5.13.1. Підготовка еритроцитів 211
7.5.13.2. Проведення аналізу 212
7.5.13.3. Інтерпретація результатів 212
7.5.14. Колонкові (гельові) мікрометоди 212
7.5.15. Автоматизація в імуногематологічних дослідженнях 212
7.5.15.1. Автоматичні лінії 213
7.5.15.2. Напівавтомати 213
7.5.15.3. Випробування автоматичних ліній 213
7.5.15.4. Випробування реактивів, що застосовуються в автоматичних аналізах 213
7.5.15.5. Щоденний контроль автоматичних аналізів 213
7.5.15.6. Архівування операційних даних 213
7.6. Аналізи антигенів і антитіл групових систем еритроцитів у донорів та у пацієнтів 214
7.6.1. Аналіз груп крові за системою AB0 214
7.6.1.1. Набір діагностичних реактивів і стандартних еритроцитів 214
7.6.1.1.1. Реактиви 214
7.6.1.1.2. Стандартні еритроцити 214
7.6.1.1.3. Контроль комплекту реактивів і стандартних еритроцитів 214
7.6.1.2. Порядок проведення аналізу груп крові AB0 215
7.6.1.3. Визначення антигену A_1 на еритроцитах, призначених для аналізу AB0 215
7.6.1.4. Причини відхилень від класичної схеми оцінки результатів аналізів груп крові AB0 216
7.6.1.4.1. Технічні помилки 216
7.6.1.4.2. Нетипові властивості аналізованих еритроцитів або сироваток 216
7.6.1.5. Слабкі різновиди антигенів за системою AB0 216
7.6.1.6. Наявність двох популяцій еритроцитів 217
7.6.1.7. Поліаглютинація 218
7.6.1.8. Наявність алогемолізинів 218
7.6.1.9. Значне зниження рівня алоаглютинінів AB0 або їх відсутність 219
7.6.1.9.1. Порядок дій у разі значного зниження рівня алоаглютинінів AB0

або їх відсутності ... 219
7.6.1.10. Рулонізація еритроцитів («монетні» стовпчики) ... 219
7.6.1.10.1. Порядок дій у разі підозри на рулонізацію ... 219
7.6.1.11. Наявність неочікуваних алоантитіл ... 219
7.6.1.11.1. Наявність антитіл анти-A_1 ... 219
7.6.1.11.2. Наявність інших алоантитіл ... 219
7.6.1.12. Аутоаглютинація ... 220
7.6.1.12.1. Порядок дій ... 220
7.6.2. Визначення груп крові за системою АВ0 у новонароджених та немовлят ... 221
7.6.2.1. Порядок дій ... 221
7.6.3. Аналіз антигену D ... 221
7.6.3.1. Визначення антигену D у донорів ... 221
7.6.3.1.1. Інтерпретація результатів аналізів ... 222
7.6.3.1.2. Труднощі в інтерпретації результатів аналізів антигену D ... 222
7.6.3.1.2.1. Слабка аглютинація аналізованих еритроцитів із реактивами анти-D ... 222
7.6.3.1.2.2. Категорії антигену D (D частковий) ... 222
7.6.3.2. Визначення антигену D у реципієнтів крові та в жінок до періоду менопаузи ... 223
7.6.3.2.1. Інтерпретація результатів аналізів ... 223
7.6.3.2.2. Труднощі в інтерпретації результатів аналізів антигену D ... 223
7.6.3.2.2.1. Позитивний результат реакції з одним із реактивів анти-D, негативний результат з іншим реактивом анти-D або слабка аглютинація аналізованих еритроцитів з обома реактивами ... 223
7.6.3.3. Дві популяції еритроцитів унаслідок недавньої трансфузії ... 223
7.6.4. Визначення антигенів еритроцитів різних групових систем та їх документування ... 224
7.6.4.1. Визначення фенотипу Rh ... 224
7.6.4.2. Визначення фенотипів в інших групових системах ... 225
7.6.4.3. Популяція донорів із визначеними антигенами еритроцитів для потреб гемотерапії ... 225
7.6.5. Виявлення імунних антитіл ... 226
7.6.5.1. Виявлення антитіл у реципієнтів крові, вагітних жінок, а також у донорів та реципієнтів кровотворних стовбурових клітин ... 226
7.6.5.2. Виявлення антитіл у донорів крові ... 226
7.6.6. Визначення специфічності антитіл ... 226
7.6.7. Порядок дій з кров'ю донорів, у яких виявлено імунні антитіла ... 227
7.6.7.1. Кваліфікування плазми з антитілами на виробництво препаратів крові ... 227
7.7. Проба серологічної сумісності між реципієнтом та донором перед переливанням крові ... 228
7.7.1. Основні імуногематологічні принципи гемотерапії ... 228
7.7.2. Відхилення від принципів ... 228
7.7.2.1. Вибір еритроцитовмісних компонентів групи 0 для переливання пацієнтам з іншою групою ... 228
7.7.2.2. Вибір еритроцитовмісних компонентів групи А або В для переливання пацієнтам із групою АВ ... 228
7.7.2.3. Вибір крові для масивних переливань ... 228
7.7.3. Проба сумісності ... 229
7.7.3.1. Кров реципієнта ... 229
7.7.3.2. Кров донора ... 230
7.7.3.3. Порядок дій, якщо результат аналізу групи крові реципієнта не відповідає даним, зазначеним у направленні ... 231
7.7.3.4. Порядок дій, якщо результат аналізу групи крові зі зразка, взятого із сегмента дренажної трубки, не відповідає даним на етикетці контейнера ... 231
7.7.3.5. Виконання проби сумісності у пробірковому тесті ... 231
7.7.3.6. Інтерпретація результатів проби сумісності ... 232
7.7.3.7. Формулювання результатів проб сумісності ... 233
7.7.3.8. Вибір крові для термінової трансфузії в ургентних випадках ... 234
7.7.4. Аналізи, що робляться перед переливанням крові новонародженим та немовлятам до 4-х місяців ... 234
7.7.5. Аналізи, що робляться перед аутотрансфузією ... 236
7.8. Імунологічний аналіз гемолітичних післятрансфузійних реакцій ... 236
7.8.1. Рання реакція ... 236

7.8.2. Відстрочена реакція ... 237
7.9. Імуногематологічні аналізи у діагностиці гемолітичної хвороби плода і новонародженого (ГХПН) ... 238
7.9.1. Аналізи під час вагітності ... 238
7.9.1.1. Виявлення антитіл системи Rh та інших групових систем ... 239
7.9.1.2. Ідентифікація алоантитіл ... 239
7.9.1.3. Визначення титру антитіл ... 239
7.9.1.3.1. Інтерпретація результатів аналізів ... 240
7.9.1.4. Аналізи крові батька дитини ... 240
7.9.1.5. Серологічні аналізи еритроцитів плода ... 240
7.9.2. Аналізи після пологів ... 241
7.9.2.1. Кров матері ... 241
7.9.2.2. Кров новонародженого ... 241
7.9.2.3. Діагностика ГХПН ... 241
7.9.2.4. Діагностика ГХПН при АВ0-конфлікті ... 242
7.9.2.4.1. Пошук антитіл IgG анти-А/анти-В у сироватці матері ... 242
7.9.2.4.2. Аналізи в новонародженого ... 242
7.9.2.4.3. Елюція антитіл методом Луї ... 242
7.9.2.5. Діагностика ГХПН у рідкісному серологічному конфлікті ... 242
7.9.2.5.1. Антитіла до антигенів з низькою частотою поширення ... 243
7.9.2.5.2. Антитіла до поширених антигенів ... 243
7.9.3. Принципи вибору крові для трансфузії у плід та обмінної трансфузії ... 243
7.9.3.1. Вибір крові для трансфузії у плід ... 243
7.9.3.2. Вибір крові для обмінної трансфузії ... 243
7.9.3.3. Проба серологічної сумісності ... 244
7.9.4. Лабораторні аналізи, пов'язані з профілактикою конфлікту за антигеном D системи Rh ... 244
7.9.4.1. Виявлення еритроцитів плода у кровообігу матері: тест кислотної елюації модифікованим методом Клейхауера-Бетке ... 245
7.9.4.1.1. Реактиви ... 245
7.9.4.1.2. Виконання аналізу ... 245
7.9.4.1.3. Інтерпретація результату ... 246
7.9.4.2. Інші методи виявлення еритроцитів плода у кровообігу матері ... 246
7.10. Аналізи при аутоімунній гемолітичній анемії (АІГА) ... 246
7.10.1. АІГА з аутоантитілами теплового типу ... 246
7.10.2. АІГА з аутоантитілами холодового типу ... 246
7.10.2.1. Диференціація аутоантитіл холодового типу системи І: природні та клінічно важливі ... 246
7.10.2.1.1. Спосіб дій ... 247
7.10.3. Пароксизмальна холодова гемоглобінурія (ПХГ) ... 247
7.10.3.1. Підготовка матеріалу до аналізів ... 247
7.10.3.2. Виконання аналізу ... 247
7.10.3.3. Інтерпретація результатів ... 248
7.11. Імуногематологічні аналізи, пов'язані з пересадкою кровотворних стовбурових клітин ... 248
7.11.1. Як чинити у випадках несумісності за системою АВ0 між донором та реципієнтом ... 248
7.11.1.1. Висока несумісність за системою АВ0 ... 249
7.11.1.2. Низька несумісність за системою АВ0 ... 249
7.11.1.3. Водночас висока і низька несумісність за системою АВ0 ... 249
7.11.2. Гемолітичні реакції у хворих із пересадженими стовбуровими клітинами ... 250
7.11.2.1. Гемолітична реакція у випадку високої несумісності ... 250
7.11.2.2. Гемолітична реакція у випадку низької несумісності ... 250
7.11.2.3. Аутоімунна гемолітична анемія ... 251
7.11.2.4. Виявлення двох популяцій еритроцитів ... 251
7.12. Принципи постійної документації результатів аналізів груп крові (внесення запису до документів, що посвідчують особу, та до книг реєстру медичних послуг) ... 251
7.12.1. Спосіб ведення постійної документації груп крові ... 252
7.12.2. Картки груп крові ... 254

7.13. Серологічний контроль якості реактивів, узятої крові та її компонентів ... 255
7.13.1. Контроль діагностичних реактивів для аналізів груп крові ... 255
7.13.1.2. Контроль реактивів для аналізу антигенів системи AB0 ... 255
7.13.1.3. Контроль реактивів для аналізу антигену D системи Rh ... 255
7.13.1.4. Контроль реактивів для аналізу інших антигенів системи Rh ... 255
7.13.1.5. Контроль діагностичних реактивів для аналізу антигенів інших групових систем ... 256
7.13.1.6. Контроль полівалентного антиглобулінового реактиву (анти-IgG + анти-C3d) ... 256
7.13.1.7. Спосіб дій після оцінки фірмових діагностичних реактивів ... 256
7.13.2. Контроль розчинів, що застосовуються в аналізах ... 256
7.13.2.1. Розчин NaCl ... 256
7.13.2.2. Розчин LISS ... 256
7.13.2.3. Папаїновий реактив ... 256
7.13.3. Серологічний контроль узятої крові ... 256
7.13.4. Контроль якості у лабораторії трансфузійної імунології ... 258
7.13.4.1. Контроль якості устаткування ... 258
7.13.4.2. Контроль якості реактивів ... 258
7.13.4.3. Контроль якості методики аналізів ... 258
7.13.4.4. Контроль якості праці ... 258
7.13.4.4.1. Внутрішній контроль ... 258
7.13.4.4.2. Зовнішній контроль ... 258
7.13.4.4.3. Підготовка контрольного матеріалу ... 258
7.13.4.4.4. Завдання для контрольованої лабораторії ... 259
7.13.4.4.5. Завдання для закладу служби крові, який здійснює контроль ... 259
7.14. Принципи імунізації донорів крові ... 259
7.14.1. Вказівки щодо лікарських висновків про допустимість імунізації з метою одержання медичних імунобіологічних препаратів ... 259
7.14.2. Принципи взяття крові для імунізації ... 259
7.14.3. Спланована імунізація з метою отримання антитіл анти-D ... 261
7.14.3.1. Схеми внутрішньовенної імунізації ... 261
7.14.3.1.1. Виклик первинної імунної відповіді ... 261
7.14.3.1.2. Стимуляція вторинної імунної відповіді ... 262
7.14.3.2. Документація щодо імунізації донорів ... 263

Відділ трансфузійної імунології еритроцитів виконує такі функції:

1. Імуногематологічні дослідження — визначення груп крові донорів, пацієнтів і вагітних жінок.

2. Обстеження донорів плазми з антитілами анти-Rh_o(D), призначеної для виготовлення імуноглобуліну анти-D, що застосовується для профілактики резус-конфлікту.

3. Професійний контроль трансфузійних імуногематологічних досліджень та результатів аналізів, що виконуються в лабораторіях, підпорядкованих закладу служби крові (ЗСК).

Контроль здійснюється за рахунок:

– підвищення кваліфікації персоналу лабораторії та отримання свідоцтв, що надають право здійснювати відповідні дослідження;
– проведення зовнішнього контролю якості аналізів та перевірок (здійснюється не рідше ніж раз на рік);
– надання цілодобових консультацій щодо обстеження у сфері трансфузійної імунології для всіх лабораторій, підпорядкованих ЗСК, та лікарень на підзвітній території.

Відділ трансфузійної імунології має складатися:

1) з лабораторії визначення груп крові донорів — «апробації донорів»;

2) з консультаційної лабораторії імунології еритроцитів, яка проводить аналізи для реципієнтів і вагітних жінок;

3) з лабораторії обстеження донорів, які проходять імунізацію антигеном D (вона може бути підпорядкована лабораторії груп крові донорів).

Керівником відділу трансфузійної імунології може бути особа, що має диплом з лабораторної діагностики з досвідом роботи у сфері імуногематологічних досліджень щонайменше 3 роки; рекомендовано мати спеціалізацію з питань трансфузійної імунології та медичної лабораторної трансфузіології.

Керівником лабораторії може бути особа, що має диплом з лабораторної діагностики, здатна самостійно виконувати імуногематологічні дослідження з визначення груп крові. До обов'язків керівника входить забезпечення лабораторії необхідним обладнанням, апаратурою; своєчасне забезпечення реактивами, бланками і журналами для реєстрації результатів аналізів; організація роботи персоналу; здійснення контролю за дослідженнями та їх реєстрацією; організація навчання працівників лабораторії, а також працівників територіальних лабораторій трансфузійної імуногематології.

Професійний нагляд за дослідженнями з трансфузійної імунології, які проводяться у ЗСК, здійснює профільний ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України». Заклади служби крові, у свою чергу, здійснюють спеціалізований контроль за дослідженнями, які проводяться у підпорядкованих їм лабораторіях імуногематології.

Якщо ЗСК уклав із лікарнею, в якій міститься територіальне відділення, договір щодо виконання імуногематологічних аналізів, керівник відділу трансфузійної імунології або вповноважена ним особа зобов'язані двічі на рік здійснювати повноцінну інспекцію лабораторії при закладах охорони здоров'я.

ЗСК встановлює вимоги щодо набору реактивів, у тому числі й стандартних еритроцитів, для виконання аналізів у лабораторіях трансфузійної імунології при закладах охорони здоров'я.

Головний лікар закладу служби крові зобов'язаний забезпечувати цілодобову консультацію щодо обстеження у сфері трансфузійної імунології для лікарень на підзвітній території. Такі консультації має надавати спеціаліст відділу трансфузійної імунології з великим практичним досвідом роботи і теоретичною підготовкою.

Під час виконання аналізів обов'язковим є такий принцип: усі визначення в одному зразку крові здійснює одна особа.

7.1. Імуногематологічні дослідження донорів крові

1. Визначення груп крові за системою АВ0 із використанням 2-х наборів моноклональних реактивів анти-А і анти-В, які походять від різних клонів, та стандартних еритроцитів груп 0, A_1 та В. Можливе використання двох серій від одного клону.
2. Визначення антигену D системи Rh за допомогою 2-х моноклональних реактивів анти-D, що походять від різних клонів і дозволяють виявити слабкий різновид антигену D (D^u), його категорію.
3. Визначення антигену K системи Kell у регулярних, кадрових донорів, а також фенотипу Rh у всіх кадрових донорів групи 0, а за можливості — і у донорів інших груп крові.
4. Визначення антигену K у K-позитивних донорів.
5. Визначення важливих для клінічної практики антигенів інших групових систем у регулярних, кадрових донорів, особливо групи 0.
6. Виявлення та ідентифікація імунних антитіл:
   – у первинних донорів;
   – у всіх кадрових донорів, які пройшли гемотерапію в період між попередньою та наступною донаціями, а також у жінок, що мають в анамнезі вагітність.

УВАГА!

А. При аналізах груп крові за системою АВ0, коли беруться два зразки донорської крові та використовуються 2 набори моноклональних реактивів, якщо лаборант використовує зразки невідмитих еритроцитів, можливий аналіз одного зразка одним набором реактивів, а другого — іншим.

Б. При визначенні груп крові за системою АВ0 в автоматизованих системах, які забезпечують однозначну ідентифікацію обстежуваного зразка, допускається застосовувати один набір моноклональних реактивів анти-А і анти-В — за умови, що в кожному зразку донорської крові визначають антитіла анти-А і анти-В. Детальні правила наведено у п. 7.5.15.

В. Повний аналіз груп крові за системою АВ0, аналіз антигену D системи Rh, як і всіх інших антигенів, виконується двічі на зразках крові, взятих у різний час.

Г. При роботі з автоматизованими системами можливе застосування для визначення алоаглютинінів набору еритроцитів A_1 і В, без урахування еритроцитів групи 0.

Ґ. Внесення записів про групу крові за системою АВ0 та Rh у комп'ютерну систему або в картку донора мусить ґрунтуватися на результатах аналізів двох зразків крові: зразка, взятого в лабораторії, та зразка, взятого безпосередньо після донації у відділі заготівлі крові.

Д. Головний лікар ЗСК після погодження з керівником відділу трансфузійної імунології видає розпорядження стосовно того, в яких саме територіальних відділеннях можливо виконувати імуногематологічні дослідження, наведені у підпунктах 3–5; інші ж територіальні відділення, що не мають відповідних умов, від цих обов'язків звільняються.

Е. Специфічність імунних антитіл, яка визначена у територіальних імуногематологічних лабораторіях, має бути встановлена чи підтверджена в лабораторії ЗСК.

Є. Ідентифікація антитіл холодового типу стосується лише тих випадків, коли їх виявляють під час визначення груп крові за системою АВ0, і коли реакція відбувається у розширеному тепловому діапазоні (від 30 до 37 °С).

Для аналізів груп крові за системами АВ0, Rh, Kell, Duffy та Kidd застосовуються діагностичні реактиви, в тому числі еритроцити з фенотипом СЄ. Для визначення антигенів інших групових систем можливе використання діагностичних реактивів, й зокрема без еритроцитів із фенотипом СЄ.

Для виявлення іррегулярних (імунних) антитіл використовуються стандартні еритроцити з фенотипом СЄ. Ідентифікація виявлених антитіл можлива за допомогою стандартних еритроцитів з фенотипом СЄ.

Рутинні мануальні імуногематологічні методи можливо замінювати колонковими та автоматичними мікрометодами, описаними у п. 7.5.15, а також іншими методами, перевіреними та затвердженими ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України».

7.2. Консультаційні аналізи для реципієнтів

Аналізи виконують у консультаційній лабораторії ЗСК у випадках, коли територіальні імуногематологічні лабораторії закладів охорони здоров'я стикаються із труднощами. У лабораторію слід передати проаналізований зразок крові та свіжовзятий зразок крові разом із результатами попередніх аналізів, а також клінічними даними хворого (Зразок №7.1). Отриманому зразку крові в лабораторії присвоюють порядковий номер і записують його у журналі аналізів. У невідкладних випадках слід записати також годину надходження зразка та годину видачі результату. Біля прізвища хворого слід зазначити клінічні дані, вказані в направленні на аналіз. Протоколи аналізів мають бути розбірливими, повинні закінчуватися формулюванням результату, зрозумілим для замовника (отримувача); формулювання має збігатися з виданим результатом. У журналі аналізів і на бланку з результатом має бути підпис особи, яка здійснювала аналіз, та підпис особи, яка здійснює контроль за аналізами (керівник лабораторії або вповноважена ним особа). Допускається використовувати бланки, які містять відповідні рубрики щодо протоколів у сфері найчастіше виконуваних аналізів; у формулярах також має залишатися місце для результатів додаткових (непередбачених) аналізів. Дані щодо хворих та результатів аналізів слід вводити в комп'ютер. Допускається паралельно вести документацію в алфавітному порядку.

У неробочий час чергові зобов'язані вести в окремому журналі (журнал рапортів) реєстр виконаних дій, щоразу зазначаючи годину надходження зразка й годину видачі результату. Ці відомості мають щоденно перевірятися керівником лабораторії або вповноваженою особою.

Зразок №7.1

НАПРАВЛЕННЯ
на консультаційні імуногематологічні аналізи

(печатка закладу) Дата: _____

До консультаційної лабораторії
закладу служби крові

Прошу виконати аналіз
Прізвище та ім'я хворого _____
Дата народження або ідентифікаційний номер _____
Діагноз _____
Анамнез (вагітності — дати; переливання крові — дати) _____
Результати імуногематологічних аналізів:
Група крові _____
Імунні антитіла _____
Результат проби сумісності _____
Інше _____
Гематологічні дані:
Еритроцити _____ Hb _____ Ht _____
Білірубін _____ Інше _____

_____
(розбірливий підпис та печатка закладу)

7.2.1. Обстеження у консультаційній лабораторії

У консультаційній лабораторії проводяться такі аналізи:

1. Встановлення групи крові за системою АВ0.
2. Діагностика антигену D за системою Rh, включно з його слабкими різновидами та категоріями.
3. Ідентифікація іррегулярних антитіл.
4. Діагностика аутоімунних гемолітичних анемій (АІГА).
5. Підбір крові для хворих у випадках наявності ауто- та алоантитіл, а також після кожного повідомлення про несумісність у перехресній пробі.
6. Імуногематологічний аналіз посттрансфузійних ускладнень.
7. Визначення фенотипу Rh, антигену K або інших антигенів у імунізованих осіб, а також для запобігання алоімунізації хворих, які потребують багаторазової гемотерапії (наприклад, у разі АІГА).
8. Діагностика імуногематологічного конфлікту між матір'ю та плодом, гемолітичної хвороби плода і новонародженого (ГХПН), а також підбір крові для трансфузії плода, обмінної трансфузії, поповнювальної трансфузії.
9. Виконання сімейних аналізів у випадках виявлення рідкісних фенотипів та алоантитіл, спрямованих до поширених антигенів.
10. Аналізи реципієнтів і донорів алогенних трансплантацій, особливо стовбурових клітин кровотворної системи.

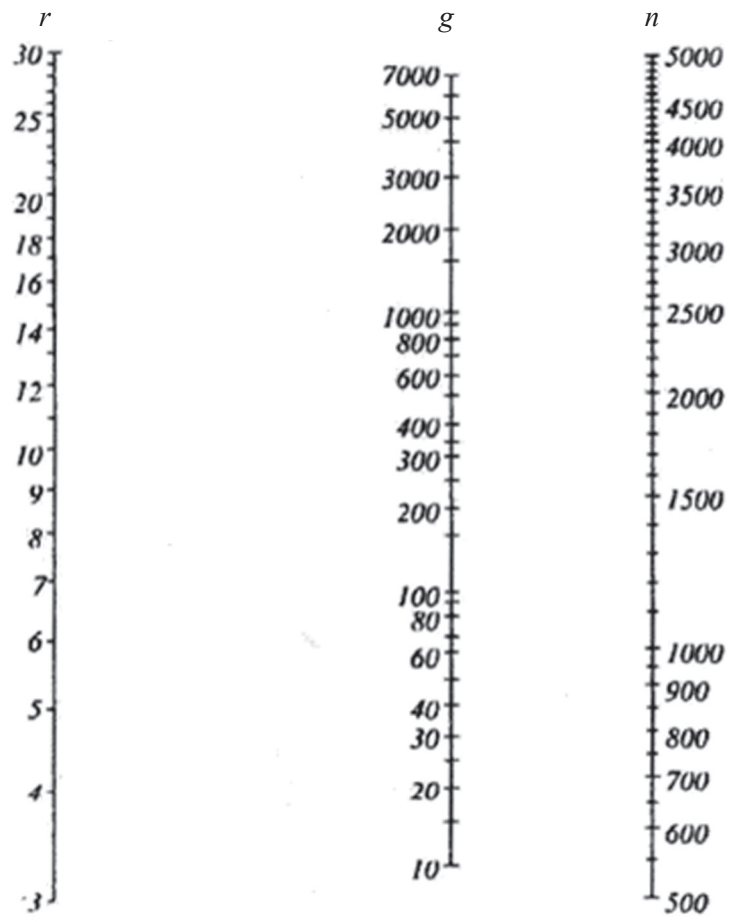
7.3. Основна апаратура, лабораторне устаткування та реактиви

7.3.1. Апаратура

Потрібне таке обладнання:

– холодильник із температурою 2–6 °С;
– морозильна камера з температурою від –20 °С до –80 °С — для зберігання діагностичних сироваток, сироваток хворих, у яких виявлено алоантитіла, а також запасів стандартних еритроцитів та еритроцитів із рідкісними фенотипами;
– термостат;
– повітряний обігрівальний блок із регуляцією температури;
– «водяна баня» із регуляцією температури до 100 °С;
– лабораторна центрифуга з горизонтальним ротором із прискоренням 3850 × g та регуляцією часу центрифугування (рис. 7.1);
– гематокритна центрифуга;
– світловий мікроскоп;
– апаратура для мікроколонкових тестів або інших тестів, перевірених та затверджених ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України»;
– автоматизовані лінії для аналізів груп крові.

УВАГА! *Кожен холодильник, морозильна камера та термостат мають бути оснащені двома незалежними приладами визначення температури. Обов'язковим є триразовий контроль температури впродовж доби, ведення температурних листків або підключення до комп'ютерного моніторингу температури.*



r — радіус центрифуги у см
n — кількість обертів/хв.

Як користуватися номограмою

– Виміряти радіус (*r*) центрифуги (відстань від осі центрифуги до дна центрифужного стакана для пробірки).
– На осі *r* позначити виміряний радіус центрифуги.
– На осі *g* позначити необхідне значення відносної відцентрової сили (*g*).
– Використовуючи лінійку, провести пряму через дві позначені точки. Місце перетину прямої з віссю *n* визначає потрібну кількість обертів/хв.

Рис. 7.1. Номограма для визначення відносної відцентрової сили (*g*)

7.3.1.1. Калібрування центрифуг для імуногематологічних аналізів

Кожна центрифуга має бути відкалібрована для визначення оптимального режиму (кількості обертів і часу центрифугування), щоб забезпечити максимальну інтенсивність аглютинації та уникнути псевдопозитивних результатів. Калібрувальні вимірювання проводять, застосовуючи режим центрифугування при 2000 об./хв. та 2500 об./хв.

7.3.1.1.1. Калібрування центрифуги для тесту прямої аглютинації

1. Підготувати 2–5% завись еритроцитів А і В у розчині NaCl.
2. Виконати аналіз титру сироватки анти-В та обрати розведення, при якому аглютинація еритроцитів В становить 1+.
3. У 5 пробірок додати по краплі еритроцитів А (негативний контроль); у 5 пробірок додати по краплі еритроцитів В (позитивний контроль).
4. В усі пробірки додати по краплі обраного розведеного анти-В.
5. У центрифузі розмістити дві пробірки, що містять зразки негативного і позитивного контролю.
6. Відцентрифугувати (наприклад, протягом 10 сек.) і визначити інтенсивність аглютинації.
7. Повторити процедуру з черговими парами пробірок, центрифугуючи їх протягом різного часу (наприклад, 15, 20, 30 та 45 сек.).

Інтерпретація результатів

Оптимальними є параметри центрифугування (кількість обертів і час центрифугування), при яких:
– осад еритроцитів чіткий і не розшаровується;
– надосад над еритроцитами прозорий;
– осад еритроцитів легко розводиться;
– аглютинація у зразку для позитивного контролю становить 1+;
– аглютинація у зразку для негативного контролю відсутня.

7.3.1.1.2. Калібрування центрифуги для антиглобулінових тестів

1. Сироватку анти-D (неповні антитіла) розводять розчином NaCl до отримання в НАГТ реакції на 1+.
2. Підготувати:
   а) 3% завись Rh-позитивних еритроцитів у розчині LISS (позитивний контроль);
   б) 3% завись Rh-негативних еритроцитів у розчині LISS (негативний контроль).
3. Промаркувати 5 пробірок для позитивного контролю та 5 пробірок для негативного контролю.
4. У кожну пробірку додати по 2 краплі розведеної сироватки анти-D.
5. Додати у пробірки, відповідно, по дві краплі Rh_o(D)-позитивних еритроцитів (для позитивного контролю) та по дві краплі Rh_o(D)-негативних еритроцитів (для негативного контролю).
6. Інкубувати всі пробірки в температурі 37 °С протягом 20 хв.
7. Наповнити пробірки розчином NaCl та центрифугувати пробірки попарно (зразки позитивного та негативного контролю) при 2500 об./хв. протягом різного часу (наприклад, 90, 120, 180 сек.).
8. Після центрифугування надосад видалити.
9. Осад еритроцитів відмити 4 рази.

УВАГА! *Оптимальним часом центрифугування еритроцитів під час їх відмивання є найкоротший час, при якому:*
- *після центрифугування надосад має бути прозорий, без домішок еритроцитів;*
- *після видалення надосаду еритроцити утворюють на дні чіткий осад, який не розливається по стінках;*
- *осад еритроцитів має легко розводитись у залишках рідини.*

10. В обрані пробірки до осаду еритроцитів (після останнього промивання) додати по 2 краплі антиглобулінової сироватки.
11. Центрифугувати протягом 20 сек. (наприклад) та з'ясувати результати.

УВАГА! *Оптимальним часом центрифугування еритроцитів з антиглобуліновою сироваткою є такий час, після якого:*
- *осад еритроцитів буде чітко видимим і не розливатиметься;*
- *рідина над еритроцитами буде прозорою;*
- *осад еритроцитів можна буде легко розвести;*
- *аглютинація у зразку позитивного контролю становитиме* 1+*;*
- *аглютинація у зразку негативного контролю не спостерігатиметься.*

Якщо вищенаведені умови не виконуються, аналіз еритроцитів з антиглобуліновою сироваткою слід повторити, застосовуючи, відповідно, коротший або довший час центрифугування.

7.3.2. Лабораторне устаткування

Лабораторія повинна бути обладнана таким устаткуванням:
1. Пробірки виключно для одноразового використання:
   а) для взяття крові — пластикові, розміром близько 100 мм × 15 мм, круглодонні, з конусоподібним дном, або ж спеціальні пластикові пробірки;
   б) для виконання аналізів — скляні або пластикові, розміром близько 70 мм × 10 мм.
2. Предметні скельця.
3. Одноразові пластини зі штучного матеріалу з пласкими заглибинами або скляні.
4. Пастерівські піпетки — за можливості, одноразового використання.
5. Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками.
6. Лабораторні стакани або контейнери зі штучного матеріалу.
7. Контейнери для скла та використаних лабораторних матеріалів (обладнання).
8. Пластикові камери для розмішення скелець чи пластинок (вистелені всередині пористим штучним матеріалом).
9. Штативи для пробірок — дво- чи багаторядні (металеві або зі штучного матеріалу).

10. Самоклейні наліпки.
11. Водостійкі маркери.
12. Мірні колби ємністю 1–2 л.

7.3.3. Реактиви

Щоденно перед використанням слід проводити візуальний контроль реактивів. Якщо є помутніння чи наявні дефекти — використання реактиву не можливе.

7.3.3.1. 0,15 моль/л розчин NaCl із pH 6,6–7,6

До 9 г NaCl додати дистильовану воду до 1000 мл. Якщо pH розчину виходить за межі інтервалу 6,6–7,6, то слід довести розчин до зазначеного pH за допомогою фосфатного буфера.

УВАГА! *Якщо використовується розчин без додавання фосфатного буфера, контроль pH слід здійснювати щоденно.*
При застосуванні буферного розчину слід контролювати кожну нову серію реактиву перед його застосуванням в аналізах.

7.3.3.2. Розчин низької іонної сили NaCl 0,03 моль/л (розчин LISS)

Реактиви:

0,17 моль/л розчин NaCl	180 мл
0,15 моль/л фосфатний буфер pH	6,720 мл
0,3 моль/л натрію гліцин із pH 6,7	800 мл

Приготування розчину гліцинату натрію:
1. 22,5 г глікоколю розвести у 800 мл дистильованої води.
2. Додаючи по краплях 1 моль/л NaOH, довести до pH 6,7.
3. Доповнити дистильованою водою до об'єму 1000 мл.

Приготувавши розчин LISS, треба перевірити pH: він має перебувати в межах 6,5–7,0. Оптимальне значення pH — 6,7.

УВАГА!

А. Контроль якості розчину LISS полягає у проведенні антиглобулінового тесту з еритроцитами Rh+ та Rh-, завішеними в цьому розчині та сенсибілізованими стандартом анти-D згідно з рекомендацією у п. 6.5.4.1.

Б. Виготовлений розчин LISS стерилізують при температурі 105 °С при 0,2 атм протягом 30 хв., після чого зберігають порціями (50–100 мл) у замороженому стані або при температурі 2–6 °С.

7.3.3.3. Розчин папаїну, активованого цистеїн гідрохлоридом

7.3.3.3.1. Склад

1. Розчин папаїну:
10 г папаїну розвести у 250 мл 0,07 моль/л фосфатного буфера з pH 6,2; ретельно перемішати і залишити до наступного дня в холодильнику при температурі 4 °С.
2. Фосфатний буфер — 0,07 моль, pH — 6,2:
KH_2PO_4: 9,078 г/л дистильованої води — 8 частин
Na_2HPO_4: 11,188 г/л дистильованої води — 2 частини
3. Розчин цистеїн гідрохлориду:
4,85 г L-цистеїн гідрохлориду розвести у 25 мл фосфатного буфера, склад якого наведений вище.

7.3.3.3.2. Виготовлення папаїнового реактиву

1. Розчин папаїну відцентрифугувати і перелити в колбу об'ємом 1 л.
2. Додати приготований розчин L-цистеїн гідрохлориду.
3. Доповнити фосфатним буфером до об'єму 1 л.

4. Інкубувати протягом 1 год. на «водяній бані» або в термостаті при температурі 37 °С.
5. Профільтрувати.
6. Проконтролювати активність розчину.
7. Поділити на порції малого об'єму (1–2 мл), використовуючи для цього щільно закриті ампули або скляні трубочки.
8. Зберігати в замороженому стані.

УВАГА!

А. Папаїновий реактив можна також зберігати при температурі 4 °С протягом 3 місяців.

Б. Реактив, вилучений з холодильника чи розморожений, може бути використаний для досліджень лише протягом кількох годин.

7.3.3.4. Розчин папаїну, активованого цистеїн гідрохлоридом з додаванням цистину

Цей реактив меншою мірою залежить від температурних коливань.

7.3.3.4.1. Склад реактиву

100 мл фосфатного буфера 0,07 моль/л із pH 6,7;
0,48 г L-цистеїн гідрохлориду;
1 г L-цистину;
1 г папаїну.

7.3.3.4.2. Приготування реактиву

1. 1 г папаїну розвести у 25 мл фосфатного буфера і залишити на 30 хв. при кімнатній температурі.
2. До 1 г L-цистину додати до 72,5 мл фосфатного буфера і залишити на 30 хв. при кімнатній температурі.
3. Обидва розчини (1 і 2) центрифугувати протягом 10 хв. при 1370 × *g*.
4. 0,48 г цистеїн гідрохлориду розвести у 2,5 мл фосфатного буфера.
5. Надосадову рідину з пробірки з папаїном змішати з розчином цистеїн гідрохлориду (2 + 5).
6. Надосадову рідину з пробірки з L-цистином змішати з розчином папаїну та цистеїн гідрохлоридом (2 + 5).
7. Отриману суміш помістити на «водяну баню» при температурі 37 °С на 1 год., потім центрифугувати протягом 10 хв. при 1370 × *g*.

Зібрати піпеткою надосадовий розчин, розлити у малі контейнери та заморозити.

УВАГА!

А. Реактив можна зберігати у замороженому стані протягом кількох місяців.

Б. Реактив не втрачає своєї активності, якщо залишити його на 8 год. при кімнатній температурі (на час роботи) і після цього знову заморозити.

7.3.3.4.3. Контроль активності папаїнових реактивів

1. На 2-х предметних скельцях розмістити з одного боку краплю сироватки анти-D (людської), а з іншого — краплю сироватки групи АВ.
2. До кожної з крапель додати по 1 краплі папаїнового реактиву.
3. До 2-х крапель на одному скельці додати по краплі 10% зависі еритроцитів Rh+ у розчині NaCl, а на другому — по краплі 10% зависі еритроцитів Rh–.
4. Перемішавши реагенти, помістити скельця у камеру зі зволоженим пористим покриттям і залишити при кімнатній температурі на 15 хв.
5. Наявність аглютинації еритроцитів Rh+ із сироваткою анти-D за відсутності аглютинації в інших краплях свідчить про активність реактиву та відсутність неспецифічних реакцій.

УВАГА! *Для того щоб переконатися у належній активності папаїнового реактиву, слід порівняти титр та інтенсивність аглютинації, виражені в балах (див. п. 7.4.3), діагностичної сироватки анти-D з еритроцитами Rh+ у колоїдному та папаїновому тестах. Якщо титр сироватки в папаїновому середовищі перевищує щонайменше 2 розведення, а кількість балів удвічі вища, ніж у колоїдному середовищі, — це вказує на належну активність реактиву.*

7.3.3.5. Розчин EDTA-натрію (EDTA-Na_2)

1. 5 г EDTA-Na_2 розвести у 100 мл 0,15 моль/л розчину NaCl.
2. Кров брати у пропорції: 1 частина розчину EDTA-Na_2 та 9 частин крові.
3. Одразу після взяття крові слід ретельно перемішати вміст пробірки.

УВАГА! *Замість розчину EDTA-Na_2 часто використовується EDTA-K_2, тому у тексті вживається скорочення EDTA.*

7.3.3.6. Розчин тромбіну

1. До маточного розчину тромбіну додати розчину NaCl, щоб отримати концентрацію 50 од/мл.
2. Приготований розчин тромбіну розлити по пробірках малими порціями (6–8 крапель) або скляних трубочках і зберігати у замороженому стані.

Спосіб застосування: до 7–10 мл крові додають 2 краплі розчину тромбіну.

7.3.3.7. Розчин полібрену

Безпосередньо перед аналізом приготувати 1% розчин полібрену в 0,15 моль/л NaCl із pH 7,0.

УВАГА! *Реактив полібрену слід зберігати у щільно закритому контейнері — через його сильні гігроскопічні властивості.*

7.3.3.8. Розчин МЕР для руйнування аутоантитіл на еритроцитах перед використанням їх для аутоадсорбції

1. Приготувати 0,1 моль/л розчин 2-меркаптоетанолу (2МЕ) у розчині NaCl із pH 7,3–7,4.
2. До 20 крапель розчину 2МЕ додати 5 крапель папаїнового реактиву і 20 крапель 0,15 М розчину NaCl. Вміст ретельно перемішати.

УВАГА*! Реактив МЕР готується безпосередньо перед застосуванням.*

Спосіб застосування: 2 частини реактиву змішати з 1 частиною осаду еритроцитів із крові, взятої на EDTA-Na_2.

7.3.3.9. Розчини для диференціації антитіл IgG та IgM

7.3.3.9.1. Розчин димеркаптоетанолу (2МЕ)

Приготувати 0,1 моль/л розчин 2МЕ у фосфатному буфері з pH 7,3–7,4.

Спосіб застосування: до 1 частки сироватки додається еквівалентний об'єм реактиву, приготовленого перед використанням.

7.3.3.9.2. Розчин дитіотреїтолу (DTT)

Реактиви:

1. Фосфатний буфер із pH 7,3.
2. DTT — приготування розчину 0,01 М:
   а) приготувати наважку 0,154 г DTT;
   б) доповнити фосфатним буфером із pH 7,3 до 100 мл.

7.3.3.10. Розчин хлорохін фосфату

Приготувати 20% розчин фосфату хлорохіну в 0,15 М NaCl і довести до pH 5,1.

УВАГА! *Розчин слід зберігати у холодильнику.*

7.3.3.11. Розчин кислого гліцину та EDTA

Реактиви:

1. Буфер 0,1 М гліцину-HCl із pH 1,5 (0,75 г гліцину + 100 мл 0,15 М NaCl) — pH встановити за допомогою концентрованої HCl.
2. 10% EDTA.
3. 1 М TRIS-NaCl (12,1 г TRIS + 5,25 г NaCl + 100 мл дистильованої води).

УВАГА! *Вищенаведені реактиви можна зберігати у замороженому стані (–20 °С) в об'ємах, що відповідають їх застосуванню, а саме:*

– реактив 1 — по 20 крапель;

– реактиви 2 і 3 — по 5 крапель.

7.3.3.12. Стандарт анти-D

Стандарти анти-D мають бути розроблені відповідно до вимог иіжнародного стандарту.

1. Містить 0,1 міжнародної одиниці (0,02 мкг) IgG анти-D у 1 мл.
2. Стандарт може бути виготовлений власними силами та перевірений у відповідній лабораторії ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України».
3. Стандарт анти-D обов'язково застосовується для контролю НАГТ (непрямого антиглобулінового тесту) та ензимного (ферментного) тесту LEN.
4. Використання Стандарту анти-D виключає технічні помилки під час виконання аналізів.

7.3.3.13. Розчини для зберігання еритроцитів

7.3.3.13.1. Модифікований розчин Альсевера

Склад:

глюкоза	102,5 г
натрію хлорид	23,5 г
натрію цитрат ($Na_2C_6H_5O_7 \times H_2O$)	40,0 г
лимонна кислота однозаміщена	0,5 г
інозин	20,0 г
хлорамфенікол	1,65 г
неоміцин сульфат	1,0 г
дистильована вода	до 5000 мл

Ретельно перемішати, бажано за допомогою магнітного шейкера. Перевірити pH і довести до 6,81–6,88 за допомогою лимонної кислоти або дикарбонату натрію. Профільтрувати і розлити у стерильні контейнери.

До осаду відмитих еритроцитів додають 5 частин розчину Альсевера. У цьому розчині еритроцити можна зберігати протягом 28 днів при температурі 2–6 °С.

7.3.3.13.2. Розчин із додаванням сироватки людини

Склад:

EDTA	7,44 г
$Na_2HPO_4 \times 12H_2O$	7,16 г
глюкоза	12,50 г
сироватка людини групи крові АВ	200 мл
хлороцид (хлорамфенікол, детреоміцин, хлороміцетин)	1,0 г

Приготування:

1. Відважені 3 перші реактиви висипати у мірну колбу об'ємом 1 л.
2. Додати 50–100 мл дистильованої води.
3. Злегка підігріти до повного розчинення компонентів.
4. Охолодивши розчин, додати сироватку людини та хлороцид.
5. Довести розчин до pH 7,0–7,2 за допомогою 1 N NaOH.

До 1 частини осаду еритроцитів додають 9 частин розчину. Перед застосуванням еритроцити дворазово відмивають розчином NaCl. Вони можуть бути використані для аналізів протягом 3–4 тижнів.

УВАГА! *Допускається зберігання еритроцитів у збагачувальних розчинах (SAGM, ADSOL). Строк придатності еритроцитів, що зберігаються таким способом, становить 28 днів. Для подовження цього терміну до 35 днів і більше треба порівняти експресію антигенів у перший та останній дні зберігання.*

7.3.3.14. Зберігання еритроцитів у замороженому стані

Еритроцити можна зберігати замороженими, способом, описаним нижче. Можливе також застосування готових реактивів та розчинів відповідно до інструкцій виробників.

7.3.3.14.1. Зберігання еритроцитів, заморожених із гліцерином

7.3.3.14.1.1. Склад розчину для заморожування еритроцитів

Цитрат натрію × $2H_2O$	30,0 г
$NaH_2PO_4 \times 2H_2O$	3,1 г
Na_2HPO_4	2,8 г
Дистильована вода	600 мл

7.3.3.14.1.2. Заморожування еритроцитів

1. Після розведення складників перевірити pH розчину, який має становити 7,0.
2. Додати 400 мл гліцерину і перемішати.
3. Можливе заморожування крові, заготовленої на консерванті (CPD, CPDA), яку зберігали при температурі 4 °C не довше 24 год.
4. Надосад з контейнера видаляють повністю.
5. Повільно, при постійному перемішуванні, додати до еритроцитів еквівалентний об'єм розчину для заморожування.
6. Розлити еритроцити порціями у вузькі пробірки одноразового використання та помістити в морозильну камеру.

Еритроцити, що зберігаються при температурі –20 °C, є придатними до використання протягом 3–6 місяців.

УВАГА! *Еритроцити, що зберігаються при температурі –80 °C і нижче, придатні до використання протягом кількох років.*

7.3.3.14.1.3. Розчини для відмивання розморожених еритроцитів

Розчин №1

Гліцерин	12 мл
Розчин цитрату натрію 0,19 моль/л	88 мл

Розчин №2

Гліцерин	5 мл
Розчин цитрату натрію 0,19 моль/л	95 мл

Розчин №3

Змішати однакові частини розчину №2 та розчину №4.

Розчин №4

Розчин NaCl 0,17 моль/л.

7.3.3.14.1.4. Розморожування еритроцитів

1. Пробірку із замороженими еритроцитами перенести у кімнатну температуру.
2. Одразу після розморожування додати еквівалентний об'єм розчину №1 та обережно, але ретельно перемішати.

3. Центрифугувати протягом 5 хв. при 600 × g.

4. Після видалення надосаду додати розчин №2 в об'ємі, еквівалентному осаду еритроцитів, та відцентрифугувати. Повторювати дії з наступними розчинами для відмивання, додаючи по черзі розчини №3 та №4.

5. Зробити завись еритроцитів у відповідному середовищі.

УВАГА! *Зазвичай під час першого, а інколи й другого промивання виявляється частковий гемоліз, який зникає під час наступних відмивань. Якщо спостерігається інтенсивний гемоліз і забарвлення надосаду не зникає впродовж усього циклу відмивання — еритроцити слід відбракувати.*

Розморожені еритроцити не можна заморожувати повторно.

7.3.3.15. Бактерицидні засоби, що застосовуються для консервації зразків сироваток

7.3.3.15.1. Розчин тіомерсалу

Тіомерсал	1,0 г
Боракс безводний	1,6 г
(або боракс 10-водний	3,0 г)

Доповнити дистильованою водою до 100 мл.

До 100 частин сироватки додати 1 частину розчину.

7.3.3.15.2. Розчин натрію азиду

Натрію азид	1,0 г

Доповнити дистильованою водою до 100 мл.

До 100 частин сироватки додати 1 частину розчину.

УВАГА!

А. Натрію азид є сильною отрутою.

Б. Бактерицидні засоби слід додавати до зразків сироваток, які планується зберігати.

7.3.4. Основний набір діагностичних реактивів

Нижче наведений основний набір діагностичних реактивів, що використовуються в ЗСК. Комплекти для імуногематологічних лабораторій лікарень затверджує ЗСК.

Система AB0: моноклональні реактиви анти-A і анти-B; лектин анти-A_1.

Система Rh: анти-D, анти-C, анти-C^w, анти-c, анти-E, анти-e.

Система Kell: анти-K, анти-k, анти-Kp^a, анти-Kp^b.

Система Duffy: анти-Fy^a, анти-Fy^b.

Система Kidd: анти-Jk^a, анти-Jk^b.

Система MNS: анти-M, анти-N, анти-S, анти-s.

Система P: анти-P_1, анти-$P+P_1+P^k$ (анти-Tj^a).

Система Lewis: анти-Le^a, анти-Le^b.

Поліспецифічний антиглобуліновий реактив: анти-IgG + анти-C3.

Моноспецифічний антиглобуліновий реактив: анти-IgG, анти-IgM, анти-IgA, анти-C3d.

(Більшість згаданих реактивів містять моноклональні антитіла)

Сироватки групи AB для виявлення поліаглютинації.

Спеціально підібрані сироватки людини груп крові за системою AB0 і анти-D за системою Rh — для спеціальних аналізів.

Стандартні еритроцити фенотипу CE:

– для аналізу системи AB0: еритроцити A_1, B і 0;

– для перевірки активності та специфічності реактиву анти-D системи Rh: еритроцити 0 Rh+ та 0 Rh–;

– для перевірки активності та специфічності реактиву анти-K системи Kell: еритроцити K+ та K–;

– для виявлення імунних антитіл (табл. 7.6. та 7.7).

Стандартні еритроцити для ідентифікації антитіл.

Їх отримують із крові, взятої від спеціально підібраних донорів групи 0. Якщо плазму видаляють, то слід додати збагачувальний розчин (наприклад, SAGM, ADSOL). Рекомендується фільтрація, оскільки лейкоцити можуть послаблювати експресію деяких антигенів на еритроцитах. Поділ еритроцитів на порції здійснюють у закритій системі. Рекомендується робити порції об'ємом близько 1 мл, у сегментах з'єднувальних трубок, при цьому кожен сегмент має бути промаркований, із зазначенням номера донації, терміну придатності та інформації про фенотип. Можливо фенотип зазначати скорочено (наприклад, 0 Rh– K+), але тоді має додатково укладатися список, який містить номери донацій та повні описи фенотипів. Виготовлені таким чином еритроцити можна використовувати протягом 28 днів. Якщо еритроцити від донора уперше входять до складу набору — слід проконтролювати експресію антигенів у перший і останній день зазначеного терміну придатності (табл. 7.7).

7.3.4.1. Витяжки з насіння

Витяжки (екстракти) з деяких видів насіння містять білки, що називаються лектинами, які у певному розведенні специфічним чином реагують із деякими антигенами еритроцитів та спричиняють їх аглютинацію. Лектини застосовують в аналізах антигенів груп крові системи AB0 (наприклад, Dolichos biflorus, Ulex europaeus) та MNS (наприклад, Vicia graminea), а також при визначенні явища поліаглютинації.

7.3.4.1.1. Основний набір лектинів

Dolichos biflorus	анти-A_1 (містить також анти-Tn та анти-Cad)
Ulex europaeus	анти-H
Arachis hypogea	анти-T
Salvia sclarea	анти-Tn
Salvia horminum	анти-Tn + анти-Cad
Vicia graminea	анти-N

7.3.4.1.2. Виготовлення витяжки з насіння

1. Насіння перемолоти в порошок.
2. До 1 г порошку з насіння додати 10 мл розчину NaCl і добре перемішати.
3. Суміш залишити при кімнатній температурі на кілька годин.
4. Центрифугувати протягом 10 хв. зі швидкістю 1370 × g.
5. Перенести супернатант в окрему пробірку та проконтролювати його активність та специфічність з використанням відповідних еритроцитів.
6. Якщо активність відповідає нормі і застережень немає, але спостерігаються явно слабші реакції з еритроцитами, що не містять антигену, який відповідає лектинові, — слід розвести надосад розчином NaCl і повторно проконтролювати активність та специфічність.
7. Активний і специфічний розчин поділити на малі порції та заморозити.

7.4. Принципи взяття крові, її зберігання та підготовки до аналізів

7.4.1. Взяття крові для імуногематологічних аналізів

1. Узяти 5–10 мл венозної крові в одноразову пробірку (пробірки мають бути з постійними етикетками).
2. Одразу після взяття крові на етикетці друкованими літерами зазначити прізвище, ім'я, дату народження (або номер ідентифікаційного коду), а для донорів — номер донації. (Якщо застосовується система штрих-кодів — наклеїти на пробірку відповідний код).
3. Ті самі дані зазначити на додатку, що супроводжує зразок (№7.1, див. п. 7.2), разом з приміткою, які аналізи мають бути виконані.
4. Якщо аналізи:

   а) мають бути розпочаті в день узяття зразка — пробірку з кров'ю зберігають при температурі 37 °C протягом близько 10–15 хв., після чого центрифугують протягом 5 хв. при 600 × *g*;

б) мають проводитися наступного дня — відділити кров від стінок пробірки і помістити в холодильник, при температурі 2–6 °С, а наступного дня відцентрифугувати;

в) неодмінно мають бути виконані одразу ж після взяття крові, або ж якщо зразок крові належить особі з порушеннями системи згортання — слід додати до крові розчин тромбіну (п. 7.3.3.6).

5. Після центрифугування відокремити сироватку і перенести її в окрему пробірку, а з еритроцитів зробити завись відповідної концентрації і в належному середовищі.

УВАГА! *У новонароджених, немовлят і малих дітей беруть менші об'єми крові (спосіб дій — п. 7.3.3.5).*

7.4.2. Взяття крові для генетичних аналізів

Перш ніж брати кров, слід визначити кількість лейкоцитів у циркулюючій крові.

1. Узяти близько 1,5 мл крові в одноразову пробірку зі штучного матеріалу, причому в пробірці вже має бути EDTA (як для аналізу морфології крові).

2. Узяту кров передати у відповідну лабораторію (лабораторію молекулярної біології) ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України» у строк, що не перевищує 36 год. від моменту взяття.

3. Якщо кров планується передати в лабораторію пізніше, слід до того часу зберігати її в замороженому стані, при температурі від –20 до –80 °С.

УВАГА! *Якщо виявлено, що кількість лейкоцитів нижча від нижньої межі норми, — кров слід узяти щонайменше у дві пробірки.*

7.4.3. Загальні принципи документації та виконання аналізів

1. Зареєструвати зразок крові у відповідному Журналі аналізів (Зразок №7.3) за порядковим номером.

2. Якщо зразок крові належить донору — зазначити номер донації або вклеїти етикетку з відповідним номером донації.

3. Пробірку з кров'ю позначити номером її реєстрації та перевірити відповідність номера запису в журналі.

4. Тим самим номером позначити усе скляне лабораторне приладдя (пробірки, пластини, предметні скельця).

5. Вести детальні протоколи всіх виконаних аналізів.

6. Усі результати аналізів на групу крові та проб на сумісність слід визначати та реєструвати в журналі, причому виконувати ці дії мають дві людини. Особа, яка робить аналіз, і особа, яка його перевіряє, мають поставити свої підписи у журналі. Результати, які видаються, мають бути підписані керівником лабораторії або вповноваженою особою (Зразок №7.4).

7. При застосуванні автоматичних систем з однозначною ідентифікацією донора/пацієнта та системи автоматизованого розпізнавання результатів (детальні принципи наведено у п. 7.5.15), допускається здійснення перевірки та запису результату однією особою. Тоді вести записи у журналах необов'язково.

8. Рекомендується вести окремий журнал для записів аналізів контрольних діагностичних реактивів та стандартних еритроцитів (Зразок №7.5), що використовувалися в цей день в усіх лабораторіях.

УВАГА! *Не допускається вести додаткову (робочу) нумерацію.*

Зразок №7.2

Заклад Дата _____

Відділення

(печатка)

До лабораторії трансфузійної серології

у _____

НАПРАВЛЕННЯ
на аналіз групи крові

Прізвище та ім'я _____

Дата народження або ідентифікаційний код _____

Діагноз _____

Попередні результати аналізів (група крові, імунні антитіла) _____

_____

(розбірливий підпис особи, яка бере кров)

_____

(печатка та підпис лікаря-куратора)

Зразок №7.3

ЖУРНАЛ АНАЛІЗІВ ГРУП КРОВІ
(для пацієнтів та вагітних жінок)

Сторінка 1

№ з/п	Дата	Прізвище та ім'я, дата народження або ідентифікаційний код	Відділення			Примітки
			Група крові		Іррегулярні (непостійні) антитіла	
			AB0	Rh		

Сторінка 2

Система AB0					Rh		Антитіла							Підписи
Моноклональні реактиви		Еритроцити			Моноклональні реактиви		Ензимний тест			НАГТ (непрямий антиглобулиновий тест)			Аутоконтроль (якщо результати скринінгу позитивні)	
							Стандартні еритроцити							
анти-		0	A1	B	анти-		I	II	III	I	II	III		
A	B				D	D								

Зразок №7.4

(печатка лабораторії) Дата _____

№ аналізу _____

Відділення _____

РЕЗУЛЬТАТ
аналізу групи крові

Прізвище та ім'я _____

Дата народження або індивідуальний код _____

Група крові _____

Імунні антитіла _____

Примітки _____

_____

Аналіз виконав: Перевірив:

_____ _____
(розбірливий підпис) (печатка та підпис)

Зразок №7.5

ПРОТОКОЛ
контрольних аналізів набору зразків

Дата _____

Специфічність реактиву
Серія (клон) Реакції з еритроцитами
Термін придатності 0 A_1 B Rh+ Rh- K+ K-

_____

_____

анти-A_____

анти-B_____

анти-D_____

анти-K_____

Стандарт анти-D _____

СТАНДАРТНІ ЕРИТРОЦИТИ ДЛЯ АНАЛІЗІВ АНТИТІЛ

Дата (від _____ до _____)

№ (донації) Фенотип*

_____

_____

I _____

_____

II_____

_____

III_____

_____

* Можливе внесення інструкції, надісланої виробником стандартних еритроцитів.

Імуногематологічні аналізи слід виконувати на пластинах зі штучного матеріалу або зі скла, на предметних скельцях, а також в одноразових пробірках. Слід застосовувати також одноразові або автоматичні піпетки. Допускається багаторазово застосовувати і звичайні пастерівські піпетки, але їх перед кожною зміною вмісту треба кілька разів ретельно промити розчином NaCl. У серологічних аналізах основною одиницею вимірювання є крапля, що вільно спадає з піпетки, нахиленої завжди під одним і тим самим кутом. В усіх аналізах, що виконуються на пластинах або скельцях, до 1 краплі реактиву або досліджуваної сироватки додають 1 краплю завісі еритроцитів. Порядок дій загалом ролі не відіграє, однак з точки зору практичної зручності краще спершу розміщувати діагностичні реактиви та аналізовані сироватки. Якщо робити навпаки, то, особливо під час аналізу крові кількох осіб, важко помітити, чи всюди в еритроцити додано реактив або сироватку. Вміст перемішують чистою скляною паличкою. Якщо аналізи виконуються на пластинах зі штучного матеріалу із заглибинами, то мішати реагенти за допомогою скляної палички не потрібно.

Для всіх аналізів, окрім аналізів із застосуванням моноклональних реактивів, результати яких розпізнаються за кілька хвилин, предметні скельця поміщують у вологі камери, які попереджають висихання краплі.

Результати визначають, беручи в руку пластину чи скельце та легко похитуючи їх. Результати аналізів, які виконуються у пробірках, визначають, відцентрифугувавши пробірку та струсивши осад еритроцитів у ній (для цього треба легко вдарити пальцем по пробірці). Висновок про наявність/відсутність аглютинатів роблять за допомогою натурального або штучного освітлення та білого фону.

Сам аналіз завжди має бути доповнений контрольними аналізами. Вони полягають у перевірці специфічності та активності діагностичних реактивів; слід також спостерігати за поведінкою еритроцитів у розчині, в якому вони завішені.

Основною умовою правильного виконання аналізів є чистота пластинок, пробірок та реактивів. Це особливо суттєво для антиглобулінового тесту, для якого потрібні одноразові пробірки. Залишки сироватки людини у не досить ретельно промитому посуді або в розчині NaCl, який служить для промивання еритроцитів та промивання піпетки, призводять до нейтралізації антиглобулінового реактиву. Щоб запобігти забрудненню діагностичних реактивів, кожен з них беруть окремою піпеткою.

Про кожен проведений аналіз складається протокол, у якому знаком «+» позначають реакцію аглютинації, знаком «–» — відсутність аглютинації. Інтенсивність аглютинації доцільно позначати таким чином:

4+: повна аглютинація у вигляді одного згустка еритроцитів;

3+: кілька великих згустків еритроцитів;

2+: згустки середньої величини, при мікроскопії видно вільні еритроцити;

1+: дрібні аглютинати, в мікроскопії видно численні еритроцити, що не злиплися.

Інтенсивність аглютинації еритроцитів під впливом сироватки та її розчинів можна кількісно виразити в балах, застосовуючи такі значення:

4+ = 12;

3+ = 10;

2+ = 8;

1+ = 5;

залишок = 2.

Зразки крові для аналізів, стандартні еритроцити та моноклональні реактиви слід зберігати в холодильнику при температурі 2–6 °С, а діагностичні сироватки — у морозильній камері. Виймати їх можна лише на час аналізу.

7.5. Методики серологічних аналізів

7.5.1. Завісі еритроцитів

7.5.1.1. Завись еритроцитів у розчині NaCl

1. Зі зразка крові після його повного осадження (якщо його взяли у суху пробірку) відібрати з дна кілька крапель еритроцитів та перенести в окрему пробірку.
2. Наповнити пробірку розчином NaCl та ретельно перемішати вміст.
3. Зачекати випадання на дно пробірки дрібних згустків.
4. Завись еритроцитів без згустків перенести до окремої пробірки.
5. Центрифугувати протягом 3 хв. при 340 × g.
6. Повністю видалити надосад.
7. З осаду еритроцитів зробити завись у розчині NaCl:
   а) 3–4% — для пробіркового тесту (або згідно з рекомендацією виробника реактивів);
   б) 5–10% — для методики на площині (або згідно з рекомендацією виробника реактивів).

7.5.1.2. Завись еритроцитів, оброблених папаїном

Для кожної серії папаїнового реактиву (п. 7.3.3.3.) має бути встановлений оптимальний час папаїнізації еритроцитів.

7.5.1.2.1. Приготування еритроцитів, оброблених папаїном

1. Розвести 1 частину папаїнового реактиву у 9 частинах розчину NaCl.
2. 4 краплі розведеного реактиву змішати з 1 краплею відмитих, ущільнених еритроцитів.
3. Інкубувати при температурі 37 °С протягом часу, встановленого для цієї серії реактиву.
4. Тричі відмити еритроцити великою кількістю розчину NaCl та зробити 3–5% завись у цьому розчині.

УВАГА! *Якщо в наборі еритроцитів, обраних для папаїнізації, немає Rh_o(D)-позитивних еритроцитів, то слід їх додати, щоб під час аналізу вони використовувались як позитивний контроль.*

7.5.2. Ензимні (ферментні) тести

7.5.2.1. Ензимний тест низької іонної сили (LEN)

Цей тест особливо ефективний для виявлення антитіл системи Rhesus. Тест характеризується високою чутливістю і дозволяє скоротити час аналізу порівняно з тестом із папаїнованими еритроцитами.

1. Двічі відмити еритроцити розчином NaCl та один раз — розчином LISS.
2. Зробити 3–4% завись еритроцитів у розчині LISS.
3. Розвести папаїновий реактив розчином LISS у співвідношенні: 1 крапля реактиву на 2 краплі розчину LISS.
4. До 2-х крапель завісі еритроцитів додати краплю розведеного папаїнового реактиву.
5. Пробірку з цим вмістом помістити на 10 хвилин в термостат або на «водяну баню» з температурою 37 °С.
6. Додати 2 краплі аналізованої сироватки, ретельно перемішати і залишити на 3 хвилини при температурі 37 °С.
7. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150–340 × g.
8. Визначити результат, дуже обережно струшуючи пробірку.

УВАГА! *Обов'язково виконати водночас контрольні аналізи:*

а) Rh_o(D)-позитивні та Rh_o(D)-негативні еритроцити + Стандарт анти-D;

б) еритроцити, використані для аналізів, + сироватка групи АВ.

7.5.2.2. Пробірковий тест з еритроцитами, обробленими папаїном (двоступеневий папаїновий тест)

Тест служить передусім для виявлення антитіл системи Rhesus. Чутливість цього тесту можна порівняти з чутливістю тесту LEN.

Для аналізу використовують 3–5% завись папаїнізованих еритроцитів у розчині NaCl, приготованих відповідно до п. 7.5.1.3.1.

1. До 2-х крапель аналізованої сироватки додати 1 краплю еритроцитів.
2. Суміш інкубувати протягом 30 хв. при температурі 37 °С.
3. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150–340 × g.
4. Результат визначити макроскопічним способом.

УВАГА! *Обов'язково виконати водночас контрольні аналізи:*

а) позитивний контроль: Rh_o(D) + Стандарт анти-D;

б) негативний контроль: усі різновиди використаних еритроцитів + сироватка, що не містить антитіл.

7.5.3. Полібреновий тест

Це дуже чутлива методика, що служить для виявлення антитіл класу IgG, окрім антитіл системи Kell. Методика вимагає точності та уважності, а також досвіду в інтерпретації результатів.

7.5.3.1. Реактиви для полібренового тесту

7.5.3.1.1. Розчин низької іонної сили (LIM)

Глюкоза	50 г
EDTA	2 г

Доповнити дистильованою водою до 1 л та довести до pH 6,4 за допомогою 2 М NaOH.

7.5.3.1.2. 10% полібрен у буферному розчині NaCl

Цей маточний розчин слід зберігати у температурі 2–6 °С. Перед початком роботи над аналізами треба приготувати робочий 0,05% розчин, для чого розвести 1 частину 10% полібрену 199 частинами NaCl.

7.5.3.1.3. Розчин для приготування завісі еритроцитів (RS)

Цитрат натрію	3,53 г
Глюкоза	2,0 г

Доповнити дистильованою водою до 100 мл.

7.5.3.2. Проведення аналізу

1. Помістити у пробірку 2 краплі аналізованої сироватки, 1 краплю 3% завісі еритроцитів у розчині NaCl, 0,6 мл реактиву LIM та перемішати.
2. Залишити на хвилину у кімнатній температурі.
3. Додати 2 краплі робочого розчину полібрену.
4. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150 × g.
5. Видалити надосад.
6. Додати 2 краплі реактиву RS.
7. Обережно перемішати, тримаючи пробірку/штатив із пробірками під кутом 45°. Через 10 сек. агрегати зникнуть, аглютинати залишаться.
8. Визначити результат.
9. Якщо аглютинація не відбулась — тричі промити еритроцити.
10. З метою виявлення антитіл системи Kell додати антиглобулінову сироватку.

УВАГА! *Обов'язково виконати водночас контрольні аналізи:*

а) Rh_o(D)-позитивні та Rh_o(D)-негативні еритроцити + Стандарт анти-D;

б) еритроцити, використані в аналізі, + сироватка групи АВ.

7.5.4. Антиглобулінові тести

Антиглобуліновий тест дозволяє виявити неповні антитіла, а також компоненти системи комплементу, пов'язані з еритроцитами. Із цією метою застосовують антиглобулінову сироватку, отриману від піддослідних тварин, імунізованих глобуліном людини, або ж моноклональні антитіла. Внаслідок реакції антитіл, які містяться в антиглобуліновому реактиві, із глобулінами, абсорбованими на поверхні еритроцитів, відбувається їх аглютинація.

У повсякденних аналізах застосовують так званий поліспецифічний антиглобуліновий реактив, який містить антитіла проти імуноглобулінів класу G та проти компонентів системи комплементу.

У спеціалізованих аналізах застосовують реактиви окремої моноспецифічності, спрямовані до окремих класів імуноглобулінів і до деяких компонентів системи комплементу.

7.5.4.1. Антиглобулінові тести у пробірках

Вкрай важливо правильно діяти під час визначення результату кожного антиглобулінового тесту. Енергійно струшувати вміст пробірки неприпустимо: це часто призводить до розбивання аглютинатів, а отже, й одержання псевдонегативного результату.

Під час розпізнавання результатів слід застосовувати одну з двох методик:

– пробірку тримають майже горизонтально і поволі обертають, щоб осад еритроцитів відійшов від дна на певну відстань, не більшу ніж 1 см; можливо також обережно постукати пальцем по стінці пробірки;

– пробірку тримають майже вертикально, погойдують і створюють легку вібрацію, обережно стукаючи пальцем по її стінці.

Розрізняють два різновиди антиглобулінового тесту: прямий (ПАГТ) та непрямий (НАГТ).

Перед виконанням прямого антиглобулінового тесту або водночас із непрямим антиглобуліновим тестом проводять контроль активності антиглобулінового реактиву.

7.5.4.1.1. Контроль активності антиглобулінового реактиву

7.5.4.1.1.1. Сенсибілізація еритроцитів

1. Приготувати 3–4% зависі Rh_o(D)-позитивних та Rh_o(D)-негативних еритроцитів у розчині NaCl.
2. У дві пробірки помістити по 2 краплі цих зависей.
3. Додати по 5 крапель Стандарту анти-D та перемішати, струшуючи пробірки.
4. Перенести пробірки на 60 хв. у термостат (температура має становити 37 °C).

7.5.4.1.1.2. Відмивання еритроцитів

1. Після інкубації 4 рази відмити еритроцити великою кількістю розчину NaCl.
2. Після останнього відмивання та центрифугування одним енергійним рухом видалити надосад і, не змінюючи положення пробірки, видалити його залишок фільтрувальним папером або лігніном, розміщеним на лабораторному столику.

7.5.4.1.1.3. Аналіз із антиглобуліновим реактивом

1. Приготувати антиглобуліновий реактив за наведеними інструкціями.
2. До осаду еритроцитів додати по 2 краплі антиглобулінового реактиву та обережно перемішати.
3. Центрифугувати протягом 45–60 сек. при 150–340 × *g*.
4. Ресуспендувати осад еритроцитів, погойдуючи пробірку або обережно постукуючи по ній пальцем.
5. Визначити результати. Аглютинація у пробірці, яка містить Rh_o(D)-позитивні еритроцити, та відсутність аглютинації у пробірці з Rh_o(D)-негативними еритроцитами свідчать про активність та специфічність антиглобулінового реактиву, а також про правильне виконання аналізу.

7.5.4.1.2. Контроль якості центрифуги для автоматичного відмивання еритроцитів

Контроль слід здійснювати щонайменше 1 раз на тиждень.

1. Дві частини Стандарту анти-D інкубувати протягом 45 хв. з однією частиною 3% зависі відмитих Rh-позитивних еритроцитів у розчині NaCl. Якщо контроль центрифуги здійснюють в НАГТ-LISS, то слід застосовувати 1 частину Стандарту.

2. У пробірки (не менш ніж 9 шт.) додати 1 частину сенсибілізованих еритроцитів.
3. У решту пробірок додати 1 частину тих самих еритроцитів, але несенсибілізованих.
4. В усі пробірки додати 2 частини сироватки без антитіл.
5. Увімкнути програму відмивання.
6. В усі пробірки додати 2 частини антиглобулінової сироватки.
7. Відцентрифугувати і визначити результати.
8. Звернути увагу, чи в усіх пробірках із сенсибілізованими еритроцитами інтенсивність аглютинації однакова. Якщо спостерігаються відмінності — слід звернутися до сервісного центру.

7.5.4.1.3. Прямий антиглобуліновий тест (ПАГТ)

Прямий антиглобуліновий тест призначений для виявлення антитіл, зв'язаних з еритроцитами *in vivo*. Його проводять:
- для новонароджених із підозрою на гемолітичну хворобу (ГХН);
- для хворих із підозрою на аутоімунну гемолітичну анемію (АІГА);
- для реципієнтів крові під час досліджень посттрансфузійних ускладнень.

7.5.4.1.3.1. Проведення аналізу в пробірках

1. Краплю згущених еритроцитів 4-разово відмити великою кількістю розчину NaCl при температурі 4–8 °С та зробити 3–4% завись у цьому розчині або в розчині LISS.
2. Дві краплі зависі перенести в окрему пробірку.
3. Відцентрифугувати і ретельно видалити надосад.
4. Додати 2 краплі антиглобулінового реактиву.
5. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150–340 × *g*.
6. Ресуспендувати осад еритроцитів, дуже обережно погойдуючи пробірку і спостерігаючи за наявністю аглютинатів.

Слід також виконати контрольні дії:

1. Дві краплі зависі аналізованих еритроцитів та дві краплі розчину NaCl відцентрифугувати; якщо виявлено аглютинацію — позитивний результат ПАГТ є недостовірним.
2. До осаду Rh-позитивних та Rh-негативних еритроцитів, попередньо інкубованих зі Стандартом анти-D і 4-разово відмитих, додати 2 краплі антиглобулінового реактиву; позитивний результат з Rh-позитивними еритроцитами та негативний з Rh-негативними свідчить про специфічність та активність антиглобулінового реактиву.

УВАГА! *У випадку хворих з аутоантитілами холодового типу еритроцити промивають розчином NaCl при температури 37 °С.*

7.5.4.1.4. Непрямий антиглобуліновий тест (НАГТ)

Непрямий антиглобуліновий тест застосовують:
- для виявлення імунних алоантитіл у сироватці крові донорів та реципієнтів;
- вибору крові для переливань;
- виявлення імунних алоантитіл у вагітних жінок;
- аналізу антигену D системи Rh виключно у донорів;
- визначення антигенів на еритроцитах за допомогою реактивів, активних у цьому тесті.

Під час виконання всіх різновидів непрямого антиглобулінового тесту аутоконтроль при скринінгу імунних антитіл і в пробі сумісності можна не проводити. Однак аутоконтроль є обов'язковим:
- під час ідентифікації виявлених антитіл;
- якщо в проведеному тесті з усім набором еритроцитів виходять позитивні результати.

Аутоконтроль дозволяє диференціювати ало- та аутоантитіла.

7.5.4.1.4.1. Класичний непрямий антиглобуліновий тест (НАГТ-NaCl)

1. Приготувати 3–4% завись еритроцитів у розчині NaCl (включно з Rh-позитивними та Rh-негативними еритроцитами для контролю, а також, якщо є потреба, і з аутологічними еритроцитами — для аутоконтролю).
2. До 2 крапель зависі еритроцитів, зокрема й аутологічних, додати 5 крапель відповідної сироватки та перемішати.

3. До Rh-позитивних та Rh-негативних еритроцитів додати по 5 крапель Стандарту анти-D та перемішати.
4. Інкубувати протягом 60 хв. при температурі 37 °С.
5. Після інкубації обережно струсити осад і перевірити однорідність завісі.
6. Завись 4-разово відмити великою кількістю розчину NaCl.
7. Після останнього відмивання ретельно видалити надосад.
8. До осаду еритроцитів додати 2 краплі антиглобулінового реактиву.
9. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150–340 × g.
10. Ресуспендувати осад еритроцитів, дуже обережно погойдуючи пробірку і спостерігаючи наявність аглютинатів.

УВАГА! *Якщо після інкубації спостерігається наявність аглютинатів, що свідчить про присутність повних алоантитіл у сироватці, — надалі тест з цією зависсю еритроцитів проводити не слід.*
Це зауваження стосується всіх різновидів непрямого антиглобулінового тесту.

7.5.4.1.4.2. Непрямий антиглобуліновий тест із застосуванням розчину низької іонної сили (НАГТ-LISS)

Цей тест можна застосовувати замість класичної методики непрямого антиглобулінового тесту. Оскільки чутливість його — висока, а час виконання коротший, його особливо рекомендують для виконання проби на сумісність.

7.5.4.1.4.2.1. Підготовка еритроцитів

1. Відмити еритроцити 2-разово розчином NaCl і 1 раз — розчином LISS.
2. Таким самим способом приготувати Rh_o(D)-позитивні та Rh_o(D)-негативні еритроцити, що мають бути контролем.
3. З осаду еритроцитів зробити 3–4% завись у розчині LISS.

7.5.4.1.4.2.2. Проведення тесту НАГТ-LISS

1. До 2 крапель зависей еритроцитів додати 2 краплі аналізованої сироватки, а до контрольних еритроцитів — по 2 краплі Стандарту анти-D.
2. Суміші інкубувати протягом 20 хв. при температурі 37 °С.
3. Перевірити однорідність завісі.
4. Однорідні завісі 4-разово відмити розчином NaCl.
5. Ретельно видалити надосад, додати до осаду еритроцитів по 2 краплі антиглобулінового реактиву і ретельно перемішати.
6. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150–340 × *g*.
7. Ресуспендувати осад еритроцитів, дуже обережно погойдуючи пробірку і спостерігаючи наявність аглютинатів.

7.5.4.1.4.3. Двоступеневий антиглобуліновий тест із застосуванням методики LISS

Це чутливий метод, призначений для виявлення алоантитіл, які пов'язані з системою комплементу (наприклад, антитіла системи Kidd та Lewis). Метод особливо рекомендують для аналізу сироваток, які зберігалися протягом тривалого часу, а також сироваток хворих, у яких активність компонентів системи комплементу послаблена або втрачена.

1. До обстежуваної сироватки додати 5% розчин EDTA у співвідношенні: 1 крапля розчину на 9 крапель сироватки.
2. До 2 крапель 3–4% завісі еритроцитів у розчині LISS додати 2 краплі сироватки та інкубувати протягом 20 хв. при температурі 37 °С.
3. Перевірити однорідність завісі.
4. Завись 4-разово відмити розчином NaCl.
5. До осаду відмитих еритроцитів додати 4 краплі сироватки (джерело комплементу), яка не містить іррегулярних антитіл; сироватка має бути виділена зі свіжозаготовленої донорської крові.
6. Суміш інкубувати протягом 20 хв. при температурі 37 °С.
8. Еритроцити 4-разово відмити розчином NaCl.

9. Ретельно видаливши надосад, до осаду еритроцитів додати 2 краплі антиглобулінового реактиву — поліспецифічного або анти-С3.

10. Центрифугувати протягом 30–60 сек. при 150–340 × *g*.

11. Ресуспендувати осад еритроцитів, дуже обережно погойдуючи пробірку і спостерігаючи наявність аглютинатів.

УВАГА! *Одночасно з аналізом слід провести контрольні аналізи. Для позитивного контролю взяти еритроцити Le(a+) або Jk(a+), для негативного — Le(a–) або Jk(a–) та інкубувати їх із сироваткою анти-Le^a або анти-Jk^a.*

7.5.4.1.4.4. Непрямий антиглобуліновий тест із застосуванням поліетиленгліколю (НАГТ-PEG)

7.5.4.1.4.4.1. Реактиви

1. Буферний розчин 0,15 М NaCl із pH 7,2.
2. 20% розчин PEG молекулярної маси 3500–4000 у буферному розчині має зберігатися у температурі 4 °С.
3. Антиглобуліновий реактив анти-IgG.

Перед виконанням аналізів потрібну порцію розчину PEG слід підігріти до кімнатної температури.

7.5.4.1.4.4.2. Проведення аналізу

1. Приготувати 4% завись еритроцитів у буферному розчині.
2. Додати до 2 крапель сироватки 1 краплю завісі еритроцитів та 4 краплі розчину PEG.
4. Інкубувати при температурі 37 °С протягом 15 хв.
5. Перевірити однорідність завісі.
6. Однорідну завись 4-разово відмити великою кількістю розчину NaCl.
7. Ретельно видаливши надосад, до осаду еритроцитів додати 2 краплі реактиву анти-IgG та перемішати.
8. Центрифугувати протягом 20 сек. при 340 × g.
9. Визначити результат, обережно погойдуючи пробірку.

УВАГА! *Одночасно з аналізом слід провести контрольні аналізи з Rh-позитивними та Rh-негативними еритроцитами, сенсибілізованими Стандартом анти-D.*

7.5.4.1.5. Контроль негативних результатів антиглобулінового тесту

Застосування в антиглобулінових тестах зразків позитивного контролю (у вигляді еритроцитів, сенсибілізованих Стандартом анти-D) не гарантує повного захисту від псевдонегативних результатів, які є наслідком не досить ретельного відмивання еритроцитів. Саме тому в більшості світових лабораторій впроваджено методику, яка має на меті перевірку достовірності кожного негативного результату антиглобулінового тесту. Рекомендується впровадити цю методику і в ЗСК, а поступово — і в лабораторіях імуногематології лікарень. Однак це вимагає спеціальної підготовки персоналу.

7.5.4.1.5.1. Принцип методу

Треба довести, що негативний результат антиглобулінового тесту є правильним, оскільки в суміші з еритроцитами антиглобуліновий реактив лишився невикористаним. Його присутність виявляють шляхом позитивної реакції з еритроцитами, слабо сенсибілізованих антитілами.

7.5.4.1.5.2. Підготовка еритроцитів, сенсибілізованих відповідним чином

1. Зробити у розчині NaCl кілька розведень сироватки, яка містить неповні антитіла анти-D.
2. Узявши D-позитивні еритроцити з гетерозиготною експресією (наприклад, DCcee), проаналізувати кожне розведення в антиглобуліновому тесті.
3. Для подальших дій обрати ті еритроцити, які після сенсибілізації антитілами дали з антиглобуліновим реактивом аглютинацію з інтенсивністю між 2+ та 3+.
4. Приготувати 5% завись 3-разово відмитих несенсибілізованих еритроцитів у розчині NaCl та перенести по 1 частині до 2-х пробірок.

5. В обидві пробірки додати по 2 частини антиглобулінового реактиву, перемішати та відцентрифугувати.

6. В одну пробірку додати 1 частину сироватки (без аглютинуючих іррегулярних антитіл), розведеної 1/1000 розчином NaCl; у другу пробірку — 1 частину розчину NaCl.

7. В обидві пробірки додати 1 частину 3–4% слабосенсибілізованих контрольних еритроцитів у розчині NaCl та відцентрифугувати.

7.5.4.1.5.3. Інтерпретація результату

Відсутність аглютинації у пробірці, яка містить розведену 1:1000 сироватку, та аглютинація (дві популяції еритроцитів) у пробірці, яка містить розчин NaCl, свідчить про правильний вибір розведення сироватки анти-D для сенсибілізації еритроцитів.

Якщо ж аглютинація спостерігається також у пробірці, до якої додано розведену сироватку, це свідчить про надто сильну сенсибілізацію еритроцитів. У такому разі всю процедуру слід повторити, обравши для сенсибілізації інше розведення сироватки.

УВАГА! *Після встановлення, яке саме розведення сироватки анти-D оптимальне для аглютинації еритроцитів, слід готувати щодня свіжі порції сенсибілізованих відмитих еритроцитів.*

7.5.4.1.5.4. Контроль ймовірності негативного результату антиглобулінового тесту

Після визначення результатів антиглобулінового тесту в кожну з пробіркок, у яких міститься негативний результат, додати 1 частину слабосенсибілізованих еритроцитів, перемішати, відцентрифугувати і перевірити результат.

Наявність аглютинації (дві популяції еритроцитів) в усіх пробірках, у яких антиглобуліновий тест кваліфікували як негативний, свідчить про правильне його виконання.

Відсутність аглютинації свідчить про помилки технічного характеру; у такому разі слід повторити антиглобуліновий тест.

Результат контролю записують у протоколі аналізу.

УВАГА! *Вищеописаний контроль антиглобулінового тесту застосовують до всіх методик НАГТ, а також до ПАГТ, виконаних методом у пробірках.*

7.5.4.1.6. Джерела помилок в антиглобуліновому тесті у пробірках

7.5.4.1.6.1. Найбільш поширені причини псевдопозитивних результатів

1. Надто швидке або надто тривале центрифугування еритроцитів із антиглобуліновим реактивом.

2. Ігнорування наявності у сироватці повних антитіл, активних при температурі 37 °С.

3. Бактеріальне забруднення еритроцитів або сироваток; брудні пробірки. Для аналізів слід брати виключно одноразові пробірки!

4. Забруднення розчину NaCl іонами важких металів.

У методиці LISS (окрім вищеописаних найпоширеніших джерел помилок) антиглобулінові реактиви, що мають високу активність стосовно компонентів системи комплементу, можуть виявляти ці компоненти, зв'язані аутоантитілами холодового типу на еритроцитах, особливо якщо еритроцити перебувають у вигляді згустка. У таких випадках реакцію ідентичної інтенсивності отримують при проведенні аналізу із аутологічними еритроцитами (аутоконтроль). Тест слід повторити, застосовуючи класичну методику НАГТ або моновалентний антиглобуліновий реактив анти-IgG.

7.5.4.1.6.2. Найбільш поширені причини псевдонегативних результатів

1. Надто повільне або надто короткий час центрифугування еритроцитів з антиглобуліновим реактивом.

2. Нейтралізація антиглобулінового реактиву залишками сироватки людини; причиною може бути недостатньо ретельне відмивання еритроцитів або використання багаторазових пробірок.

3. Застосування для інкубування неправильної пропорції сироватки та еритроцитів. Це особливо стосується методики LISS, при якій надмірна кількість сироватки, що інкубується з еритроцитами, підвищує іонну силу середовища та послаблює ефект реакції, яка відбувається протягом 20 хвилин.

4. Надто короткий або надто довгий час інкубування.
5. Перерви в ході виконання дій на всіх етапах антиглобулінового тесту після фази інкубування еритроцитів із сироваткою; а особливо — перерви під час промивання еритроцитів, що можуть призвести до елюції антитіл, пов'язаних з еритроцитами.

7.5.5. Визначення титру антитіл у сироватці

Титр антитіл — це максимальне розведення сироватки, в якому ще спостерігається серологічна реакція з відповідним антигеном. Титр виражається числом, яке являє собою зворотнє число від величини розведення сироватки. Наприклад, якщо максимальне реагуюче розведення становить 1:32, то титр виражається числом 32.

7.5.5.1. Принцип дослідження

1. Розрахувати точний об'єм сироватки, потрібний для виконання аналізу, беручи до уваги кількість узятих зависей еритроцитів, середовище та діапазон температури.
2. У ряд пробірок (за винятком першої) помістити однакові об'єми рідини, яка служить для розведення аналізованої сироватки (наприклад, розчин NaCl, сироватка людини групи крові АВ).
3. Додати в першу і другу пробірку досліджувану сироватку в об'ємі, еквівалентному об'єму використаної рідини.
4. Перемішавши піпеткою, перенести з другої пробірки половину одержаного об'єму у третю пробірку.
5. Ті самі дії повторювати до кінця ряду.

УВАГА! *Описані дії найкраще виконувати за допомогою автоматичних піпеток. При використанні пастерівських піпеток одиницею вимірювання є крапля, що повільно спадає, — піпетку слід тримати завжди в одному й тому самому положенні, під одним кутом.*

7.5.5.2. Метод у пробірках

1. Підготувати відповідну кількість рядів пробірок. Кількість пробірок у ряду має дорівнювати кількості в ряду початкових (маточних) розведень.
2. Із кожної пробірки ряду розведень, починаючи з останньої, перенести по дві краплі.
3. Додати у весь ряд по краплі потрібної 3–4% зависі еритроцитів.
4. Інкубувати при відповідній температурі протягом визначеного часу; температура і час інкубування залежать від специфічності антитіл.
5. Після центрифугування визначити результати.

УВАГА! *З метою визначення титру антитіл у сироватці за допомогою НАГТ слід брати такі пропорції сироватки та зависі еритроцитів, як рекомендовано у п. 7.5.4.*

7.5.5.3. Метод мікроколонок

Цей метод рекомендують для визначення титру антитіл анти-А і анти-В класів IgM та IgG у сироватці реципієнта та/або донора кровотворних стовбурових клітин.

Визначення титру антитіл класу IgM на нейтральній карті

1. Зробити ряд розведень аналізованої сироватки у розчині NaCl у геометричній прогресії.
2. Позначити карти порядковими номерами розведень сироватки (2, 4, 8, 16, 32, 64 тощо).
3. В усі мікроколонки додати відповідну кількість 0,8% зависі еритроцитів групи А (або В) у розчині LISS, а потім — відповідну кількість розведеної сироватки (згідно з методикою аналізу, рекомендованою виробником реактивів).
4. Карти із сумішшю еритроцитів та розведень сироватки інкубувати протягом 15 хв. при кімнатній температурі (18–22 °С).
5. Відцентрифугувати карти і запротоколювати результати реакцій.

Визначення титру антитіл класу IgG на карті для НАГТ

Аналіз робиться із сироваткою, що була попередньо оброблена реактивами, які знищують антитіла IgM (2 МЕ або DTT).

1. Зробити ряд розведень сироватки, обробленої DTT або 2 МЕ, у розчині NaCl у геометричній прогресії.
2. Позначити карту для НАГТ порядковими номерами розведень сироватки (2, 4, 8, 16, 32, 64 тощо).
3. В усі мікроколонки додати відповідну кількість 0,8% завісі еритроцитів групи А (або В) у розчині LISS, а потім — відповідну кількість розведеної сироватки (згідно з методикою аналізу, рекомендованою виробником реактивів).
4. Інкубувати 15 хв. при температурі 37 °С.
5. Відцентрифугувати карти і запротоколювати результати реакцій.

7.5.6. Виявлення речовини АВН у слині

Цей аналіз роблять задля ідентифікації різновидів антигенів системи АВ0.

7.5.6.1. Підготовка слини до аналізу

1. Зібрати кілька мілілітрів слини в суху пробірку (у випадку немовлят — слиною змочують фільтрувальний папір або марлю) та помістити у пробірку, яка містить кілька крапель розчину NaCl.
2. Відцентрифугувати і перевести надосад в окрему пробірку.
3. Пробірку розташувати на «водяній бані» з киплячою водою і витримати протягом 10 хв.

Якщо аналіз планується робити не в день отримання слини, зразок слід зберігати у замороженому стані.

7.5.6.2. Проведення аналізу

1. Встановити розведення сироватки, моноклонального реактиву або лектину, що планується використовувати під час аналізу (вони мають бути розведені розчином NaCl, до отримання інтенсивності аглютинації стандартних еритроцитів на 2+). Встановлюючи розведення сироватки анти-А, слід застосовувати еритроцити A_2; для сироватки анти-В — еритроцити A_1B; для лектину Н — еритроцити групи 0.
2. Приготувати кілька розведень аналізованої слини, а також слини секретора і несекретора у розчині NaCl (у пропорції 1:5, 1:20, 1:80 та 1:320), та помістити по 2 краплі у ряд пробірок.
3. У ряди розведень додати ідентичну кількість реактиву анти-А, анти-В або лектину анти-Н у попередньо встановленому розведенні.
4. У додаткову пробірку помістити розведений реактив і додати ідентичну кількість розчину NaCl.
5. Залишити пробірки на 30 хв. при кімнатній температурі.
6. В усі пробірки додати по 2 краплі 3% завісі еритроцитів (тих самих, які були використані для визначення розведення реактиву).
7. Суміші залишити на 15 хв. при кімнатній температурі.
8. Визначити результати мікроскопічним способом.

УВАГА! *Інтерпретацію результатів подано у таблиці 7.1.*

Таблиця 7.1

Оцінка секреції групової субстанції А

Сироватка анти-А + Розведення слини					Сироватка анти-А та Розчин NaCl	Стан секреції
Еритроцити A_2	1:5	1:20	1:80	1:320		
	++	++	++	++	++	Несекретор
	–	–	–	+	++	Нормальний секретор
	–	–	+	++	++	Слабкий секретор

7.5.7. Відокремлення двох популяцій еритроцитів

Для розпізнання двох популяцій еритроцитів, що відрізняються антигенами, треба виявити наявність аглютинатів на фоні однорідної завісі еритроцитів після контакту з відповідними антитілами.

7.5.7.1. Приклад двох популяцій еритроцитів груп АВ та А

Анти-А	Анти-В	Анти-А, В
4+	Великі аглютинати на тлі однорідної завісі	4+

У такому разі для поділу 2-х популяцій застосовують реактив анти-В.

7.5.7.2. Спосіб дій

1. Приготувати 25% завись еритроцитів у розчині NaCl.
2. У пробірку розміром 100 × 15 мм помістити 0,5 мл завісі еритроцитів.
3. Додати до неї 4 частини діагностичного реактиву, який у реакції із цими еритроцитами спричиняв їх часткову аглютинацію.
4. Обережно центрифугувати протягом кількох секунд при дуже низьких обертах центрифуги.
5. Зібрати верхній шар еритроцитів (аглютинати осідають на дно) та перенести в окрему пробірку.
6. Наповнити пробірку розчином NaCl.
7. Повторювати дії, описані в підпунктах 4–6, до моменту отримання однорідної завісі еритроцитів (без аглютинатів).
8. До краплі однорідної завісі додати краплю реактиву, що застосовувався для поділу еритроцитів, відцентрифугувати та визначити результат. Відсутність аглютинації свідчить про правильне розділення двох популяцій.

УВАГА! *Наявність аглютинатів свідчить про необхідність повторення всієї процедури.*

7.5.7.3. Вивільнення еритроцитів з аглютинатів, отриманих під час розділення двох популяцій

За цією методикою антитіла, які механічно вивільняють з аглютинатів, зв'язуються з відповідним для них антигеном, який міститься у груповій субстанції або слині, а еритроцити переходять у завись.

1. Ретельно ізольовані аглютинати відмити розчином NaCl.
2. До 1 частини аглютинатів додати 4 частини слини відповідного секретора, розведеної 1:2 сироваткою групи АВ.
3. Вміст пробірки енергійно струшувати протягом близько 30 хвилин.
4. Еритроцити, звільнені від антитіл, тричі відмиті розчином NaCl та мікроскопією проконтролювати однорідність завісі.
5. Виконати фенотипічний аналіз, порівнюючи результати з результатами аналізів неаглютинованої популяції еритроцитів.

УВАГА! *Можливе виділення двох популяцій еритроцитів за допомогою діагностичних реактивів інших групових систем, поза рамками системи АВ0, якщо ці реактиви містять повні антитіла, наприклад, анти-М, анти-P_1.*

7.5.8. Метод відокремлення перелитих еритроцитів від аутологічних

Цей метод є придатним лише для тих випадків, коли від останнього переливання минуло понад 3 дні.

7.5.8.1. Спосіб дій

1. Узяти у хворого (реципієнта) кров на консервант EDTA.
2. Еритроцити тричі відмити розчином NaCl. Під час останнього відмивання слід застосовувати вищі оберти центрифугування — для максимального ущільнення еритроцитів.
3. Ретельно видалити надосад, не порушуючи цілісність білуватого лейкоцитарно-тромбоцитарного шару над еритроцитами.

4. Видалити лейкоцитарно-тромбоцитарний шар, а прилеглий, верхній, шар еритроцитів перенести в окрему пробірку і старанно перемішати.

5. Наповнити еритроцитами 10 гематокритних капілярів, залишаючи незаповненими відрізки завдовжки 2 см, і запаяти капіляри або щільно закрити спеціальним пластичним матеріалом.

6. Помістити капіляри в гематокритну центрифугу і центрифугувати протягом 15 хв.

7. Верхні частини капілярів, в яких містяться еритроцити хворого, відрізати на відстані 3–5 мм нижче від рівня відцентрифугованої колонки еритроцитів і перенести їх в окрему пробірку, наповнену розчином NaCl.

8. За допомогою пастерівської піпетки звільнити еритроцити, що містяться у відрізаних фрагментах капілярів, і завись перевести в окрему пробірку.

9. Еритроцити тричі відмити розчином NaCl.

10. Таким самим способом виділити з нижніх частин капілярних трубок суміш перелитих еритроцитів та еритроцитів хворого.

11. Здійснити одночасно фенотипічні аналізи еритроцитів із верхнього та нижнього шарів капілярних трубок; порівняти результати.

УВАГА! *Цей метод не є ефективним у випадках уповільненого відновлення еритроцитів у хворого (аплазія кісткового мозку).*

7.5.9. Адсорбція/елюція антитіл

Адсорбцію та елюцію здійснюють для:

– ідентифікації наявних у сироватці поліспецифічних алоантитіл; у таких випадках зразки сироватки слід адсорбувати кількома різновидами еритроцитів із підібраними відповідним чином антигенами, а одержані елюати аналізувати набором стандартних еритроцитів;

– підтвердження виявлених різновидів антигенів, насамперед A, B та D; у таких випадках діагностичні реактиви слід адсорбувати досліджуваними еритроцитами, а елюати аналізувати за допомогою стандартних еритроцитів, що містять відповідний антиген.

Елюцію антитіл здійснюють також із метою встановлення специфічності антитіл, пов'язаних із еритроцитами *in vivo*, а саме:

а) при гемолітичних післятрансфузійних реакціях;

б) для хворих з аутоімунною гемолітичною анемією;

в) для новонароджених із гемолітичною хворобою.

У випадках б) та в) елюат може бути використаний для підбору крові для переливання.

УВАГА! *Застосовуючи у методах адсорбції/елюції антитіл розчин кислого гліцину та EDTA, можливе використання фірмових реактивів та, відповідно, порядок дій згідно з рекомендаціями виробника.*

7.5.9.1. Адсорбція антитіл

Принципи проведення адсорбції:

1. Еритроцити 4-разово відмити розчином NaCl.

2. До осаду еритроцитів додати досліджувану сироватку або реактив, що містить антитіла (у співвідношенні: 1 частина еритроцитів до 2 частин сироватки або реактиву).

3. Суміш інкубувати протягом 1–2 год. при температурі, яка є оптимальною для реакції наявних антитіл, час від часу струшуючи вміст пробірки.

4. Відцентрифугувати при тій же температурі.

5. Відділити сироватку та помістити в окрему пробірку — для проведення порівняльного аналізу вмісту антитіл до і після абсорбції еритроцитами.

6. З еритроцитів, використаних для адсорбції, виготовити елюат і проаналізувати його специфічність.

УВАГА! *Якщо антитіла, що містяться у сироватці, виявляють слабку активність, то слід збільшити частину сироватки по відношенню до еритроцитів, використаних для адсорбції (наприклад, 4 частини сироватки та 1 частину еритроцитів).*

7.5.9.2. Методики елюції антитіл

Загальні принципи:

Еритроцити, сенсибілізовані антитілами, відмити щонайменше 4 рази великою кількістю розчину NaCl. Для еритроцитів, сенсибілізованих антитілами холодового типу, застосовують розчин NaCl, охолоджений до температури 0 °С. Еритроцити, сенсибілізовані антитілами теплового типу, відмивають розчином NaCl кімнатної температури. Центрифужні стакани заповнюють водою, температура якої ідентична температурі використаного розчину NaCl. Якщо елюції передує адсорбція антитіл, то необхідно зберегти надосад після останнього відмивання еритроцитів та проаналізувати його одночасно з елюатом. Це робиться для контролю правильності відмивання еритроцитів. Елюати, незалежно від методу їх виготовлення, слід аналізувати одразу після виготовлення або ж зберігати в замороженому стані до моменту аналізу.

7.5.9.2.1. Тепловий метод

Цей метод застосовують головним чином для елюції антитіл класу IgM системи АВ0.

1. Осад відмитих еритроцитів розподілити по кількох пробірках, у кількості не більше 10 крапель.
2. Додати еквівалентний об'єм розчину NaCl, а для неповних антитіл — сироватку групи АВ.
3. Помістити пробірки у водяний термостат при температурі 56 °С на 10–15 хв. (не довше), постійно але обережно струшуючи їхній вміст.
4. Центрифугувати при температурі 56 °С протягом 1–3 хв.
5. Одразу після центрифугування відокремити надосад від осаду еритроцитів.

УВАГА!

А. Якщо еритроцити були сенсибілізовані слабоактивними антитілами — можливе додавання меншої кількості розчину NaCl або сироватки групи АВ (наприклад, 1/2 об'єму).

Б. Отриманий елюат має червоне забарвлення у зв'язку з неминучим гемолізом, що ускладнює його аналіз колонковим мікрометодом.

7.5.9.2.2. Ефірно-тепловий метод

Цей метод використовують головним чином для елюції антитіл класу IgG. Завдяки цьому методу отримують елюат, збагачений антитілами, вивільненими зі строми еритроцитів.

1. До осаду відмитих еритроцитів додати 1 частину розчину NaCl та 1,5 частини етилового ефіру. Пробірку щільно закоркувати.
2. Енергійно струшувати вміст пробірки протягом 2–5 хв.
3. Центрифугувати протягом 10 хвилин при 610 × *g*, для розподілення суміші на 3 шари.
4. Після центрифугування верхній, ефірний, шар відалити.
5. Пробірку, що містить середній шар зі стромою еритроцитів, а також нижній шар — антитіла, — помістити для випаровування ефіру приблизно на 5 хв. на «водяну баню» при температурі 56 °С, і постійно перемішувати скляною паличкою до повного випаровування залишків ефірного шару.
6. Після випаровування ефіру пробірки центрифугувати при температурі 56 °С протягом 5 хв. при 610 × *g*. Одразу відокремити надосад від осаду, не зачіпаючи шар строми еритроцитів.

7.5.9.2.3. Метод із застосуванням кислого гліцину та EDTA

Цей метод використовують для елюції антитіл класу IgG. Перевагою методу є одержання безбарвного елюату, придатного і для аналізів колонковим мікрометодом.

1. Еритроцити, сенсибілізовані антитілами, відмити 6 разів розчином NaCl.
2. До 10 крапель осаду еритроцитів додати заздалегідь підготовані реактиви: 20 крапель буфера 0,1 моль/л гліцину та 5 крапель 10% EDTA-Na_2.
3. Ретельно перемішавши, залишити при кімнатній температурі на 2 хв.
4. Додати 3 краплі 1 моль/л TRIS-NaCl, перемішати і центрифугувати протягом 1 хв. при 600 × *g*.
5. Прозорий надосад/елюат перенести в окрему пробірку.
6. За допомогою лакмусового паперу перевірити pH елюату і довести його за допомогою TRIS-NaCl до 7,0–7,4.

7.5.10. Виділення аутоантитіл із метою вивільнення антигенових детермінант на еритроцитах

Вилучення аутоантитіл із метою визначення фенотипу еритроцитів є необхідним, якщо в аналізах застосовуються сироватки людини. Однак, використовуючи моноклональні реактиви, можна визначити фенотип і без вилучення аутоантитіл. Виняток становлять аутоантитіла з високою специфічністю, які зустрічаються дуже рідко. У такому випадку звільнення еритроцитів від аутоантитіл стає необхідністю.

7.5.10.1. Метод із застосуванням хлорохін фосфату

Хлорохін повністю вилучає з поверхні еритроцитів антитіла класу IgG, залишаючи компоненти С3 системи комплементу, абсорбованого *in vivo*. Цей реактив не знищує антигенів систем AB0, MNS, Ii, Kell, Duffy, Kidd, Gerbich, а також LW, однак ослаблює експресію антигенів системи Rh. Під впливом хлорохіну руйнуються антигени системи Lewis.

1. Із крові, узятої на EDTA, приготувати осад еритроцитів, попередньо відмитих 4 рази розчином NaCl.
2. До 4 частин розчину хлорохін фосфату (п. 7.3.3.11) додати 1 частину осаду еритроцитів.
3. Суміш інкубувати при температурі 37 °С протягом 30–60 хв., при цьому кілька разів струсити вміст пробірки.
4. Еритроцити 4-разово відмити розчином NaCl.
5. Перевірити ефективність дії хлорохіну за допомогою ПАГТ.

УВАГА! *Негативний результат ПАГТ дозволяє виконувати фенотипічні аналізи.*

7.5.10.2. Метод із застосуванням кислого гліцину та EDTA

Кисле середовище спричиняє повне відокремлення молекул IgG від поверхні еритроцитів. Цей швидкий і дуже зручний метод успішно замінює методику з використанням реактиву МЕР, яка застосовувалася вище. Метод із кислим гліцином та EDTA не впливає на зміну експресії антигенів різних групових систем, за винятком антигенів системи Kell, експресія яких значно послаблюється. Антигени цієї системи, однак, можна виявити, застосовуючи мікроколонковий метод із гелем.

1. Одну краплю густих еритроцитів 3-разово відмити розчином NaCl.
2. До 20 крапель розчину кислого гліцину додати 5 крапель EDTA.
3. Двадцять п’ять (25) крапель цієї суміші додати до осаду еритроцитів і залишити при кімнатній температурі на 1–2 хв.
4. Додати 3 краплі 1 моль/л TRIS-NaCl і відцентрифугувати.
5. Лакмусовим папером перевірити pH надосаду і довести його до 7,0–7,4 за допомогою TRIS-NaCl; при цьому після додавання кожної краплі перемішувати вміст пробірки; центрифугувати її та перевіряти pH.
6. Видалити надосад і 4-разово відмити еритроцити розчином NaCl.
7. Провести ПАГТ.

УВАГА! *Негативний результат ПАГТ свідчить про повне звільнення еритроцитів від антитіл та вказує, що еритроцити придатні для фенотипічних аналізів. Якщо ж результат ПАГТ позитивний — еритроцити треба ще раз обробити сумішшю кислого гліцину та EDTA і повторити всю процедуру.*

7.5.11. Адсорбція аутоантитіл із сироватки

Адсорбцію аутоантитіл проводять для хворих з АІГА для з’ясування наявності у сироватці, окрім аутоантитіл, імунних алоантитіл, виявлення яких є дуже важливим, зокрема, при підборі крові для переливання. Для абсорбції аутоантитіл можливе застосування аутологічних еритроцитів (аутоадсорбція) або правильно підібраних алогенних еритроцитів (алоадсорбція, яку називають також диференційною адсорбцією). Застосування аутоадсорбції чи алоадсорбції залежить від наявності переливання крові цьому хворому у 3-місячний період до теперішнього аналізу. Якщо

таке переливання мало місце, аутоадсорбція може виявитися неефективною, оскільки еритроцити хворого являють собою в такому разі суміш власних та перелитих еритроцитів, які *in vitro* можуть адсорбувати алоантитіла. Отже, для адсорбування аутоантитіл слід тоді застосувати алоадсорбцію.

7.5.11.1. Аутоадсорбція

Аутоадсорбцію найчастіше проводять за допомогою аутологічних еритроцитів, звільнених від аутоантитіл. Якщо аутоантитіла дають сильнішу реакцію в ензимному тесті, ніж в антиглобуліновому, — для аутоадсорбції беруть еритроцити, оброблені кислим гліцином та EDTA, а потім — папаїновим реактивом, або ж еритроцити, оброблені реактивом MEP. Якщо аутоантитіла дають сильнішу реакцію в антиглобуліновому тесті, ніж в ензимному, аутоадсорбцію проводять за допомогою еритроцитів, оброблених розчином хлорохін фосфату, або еритроцитів у середовищі PEG.

7.5.11.1.1. Метод аутоадсорбції зі застосуванням еритроцитів, оброблених кислим гліцином, EDTA та папаїновим реактивом

7.5.11.1.1.1. Підготовка еритроцитів до аутоадсорбції

1. Еритроцити 3-разово відмити розчином NaCl.
2. У двох пробірках розмістити по 10 крапель осаду еритроцитів.
3. До 40 крапель розчину кислого гліцину додати 10 крапель EDTA.
4. В обидві пробірки додати по 25 крапель приготованого реактиву.
5. Пробірки залишити при кімнатній температурі на 1 хв. (не довше ніж на 1,5 хв.).
6. Додати по 3 краплі TRIS-NaCl — для нейтралізації суміші.
7. Пробірки відцентрифугувати і перевірити pH супернатанту; pH треба довести до 7,4 за допомогою покрапельного додавання TRIS-NaCl.
8. Еритроцити 3-разово відмити розчином NaCl.
9. Розвести папаїновий реактив у співвідношенні: 1 частина реактиву на 9 частин розчину NaCl.
10. До осаду відмитих еритроцитів у пробірках додати по 20 крапель розведеного папаїнового реактиву.
11. Інкубувати протягом 10–15 хв. при температурі 37 °C.
12. Еритроцити 4-разово відмити розчином NaCl.

УВАГА! *Осад еритроцитів в одній пробірці використовується для проведення однієї аутоадсорбції. Другу пробірку слід залишити на цей час у холодильнику (температура 2–6 °C) і використати еритроцити для контролю сироватки після аутоадсорбції; якщо ж одноразова аутоадсорбція виявилася неефективною — ці еритроцити слід узяти для проведення наступної адсорбції.*

7.5.11.1.1.2. Виконання аутоадсорбції

1. До осаду еритроцитів додати 10 крапель аналізованої сироватки та перемішати.
2. Пробірку із цим вмістом витримати 10 хв. при температурі 37 °C і час від часу струшувати для полегшення контакту аутоантитіл з антигенними детермінантами на еритроцитах.
3. Відцентрифугувати і перевести надосад в окрему пробірку.

7.5.11.1.1.3. Контроль аутоадсорбції

Сироватку, з якою здійснювали аутоадсорбції, слід проконтролювати за допомогою еритроцитів, узятих з осаду, що залишився у другій пробірці; при цьому слід застосувати методику безпосередньої аглютинації у розчині NaCl або колонковий мікрометод. Відсутність аглютинації свідчить про те, що аутоадсорбція проведена правильно. Наявність аглютинації вказує на необхідність проведення повторної аутоадсорбції.

УВАГА! *Якщо із сироватки треба усунути аутоантитіла до антигенів, які руйнує папаїновий реактив, етап папаїнування еритроцитів перед аутоадсорбцією слід пропустити. У цьому випадку можна подовжити час інкубування сироватки з еритроцитами.*

7.5.11.1.2. Метод аутоадсорбції із застосуванням еритроцитів, оброблених розчином МЕР

1. Приготувати близько 2 мл осаду еритроцитів хворого.
2. Додати 2 частини реактиву МЕР (п. 7.3.3.8) та інкубувати при температурі 37 °С протягом 20 хв.
3. Еритроцити відмити 4-рази великою кількістю розчину NaCl.
4. Перевірити за допомогою антиглобулінового тесту виділення аутоантитіл.
5. Якщо результат антиглобулінового тесту позитивний — провести ще раз інкубацію еритроцитів із реактивом МЕР.
6. До частини осаду еритроцитів, звільнених від аутоантитіл (наприклад, до 20 крапель), додати еквівалентний об'єм аутологічної сироватки та інкубувати протягом 60 хвилин при температурі 37 °С.
7. Відцентрифугувати та перевести надосад (сироватку) еритроцитів в окрему пробірку.
8. Проконтролювати результат аутоадсорбції за допомогою антиглобулінового тесту, додаючи до адсорбованої сироватки аутологічні еритроцити, попередньо оброблені реактивом МЕР.

УВАГА!

А. Негативний результат антиглобулінового тесту з аутологічними еритроцитами, позбавленими аутоантитіл, вказує, що у сироватці можливе визначення алоантитіл.

Б. Позитивний результат антиглобулінового тесту свідчить про необхідність проведення повторної аутоадсорбції.

В. Реактив МЕР руйнує детермінанти антигенів систем Kell, MNS та Gerbich, послаблює експресію антигенів LW та Duffy, посилює експресію антигенів систем Rh, Kidd, P, Ii та Lewis.

7.5.11.1.3. Метод аутоадсорбції у середовищі 20% PEG

Окрім вищеописаних методів, можливе застосування принципу адсорбації аутоантитіл нативними еритроцитами (які не піддавались елюції аутоантитіл та дії ензимів) із додаванням 20% PEG, який посилює реакцію антитіло–антиген. Цей метод рекомендують особливо у випадках, коли активність аутоантитіл у сироватці вища в антиглобулінових тестах, ніж в ензимних.

7.5.11.1.3.1. Проведення адсорбції

1. Приготувати близько 2 мл ущільнених, попередньо 3-разово відмитих еритроцитів хворого.
2. Змішати рівні частини (наприклад, по 25 крапель) еритроцитів, сироватки та PEG.
3. Суміш інкубувати протягом 15 хв. при температурі 37 °С.
4. Відцентрифугувати і перевести надосад, що містить сироватку та PEG, в окрему пробірку.

7.5.11.1.3.2. Контроль результативності аутоадсорбції

Для цієї мети слід узяти еритроцити хворого, звільнені від аутоантитіл за допомогою методу з кислим гліцином (п. 7.5.10.2). Аналіз слід провести в межах антиглобулінового тесту, беручи такі пропорції: 4 краплі сироватки (в якій уже є PEG) та 1 крапля 3–5% аутологічних еритроцитів, з яких вилучено аутоантитіла.

1. Інкубувати протягом 15 хв. при температурі 37 °С.
2. Відмити еритроцити 4 рази.
3. Проаналізувати їх з антиглобуліновою сироваткою анти-IgG.

Негативний результат свідчить, що аутоантитіла адсорбовано. Позитивний результат вказує на необхідність проведення повторної аутоадсорбції. Чергову аутоадсорбцію проводять, змішуючи той самий об'єм сироватки з новою порцією аутологічних еритроцитів, уже не додаючи PEG. Вільну від аутоантитіл сироватку аналізують зі стандартними еритроцитами з метою виявлення алоантитіл. Аналіз слід зробити в межах антиглобулінового тесту: 4 краплі сироватки (в якій уже є PEG) та 1 крапля 3–5% зависі стандартних еритроцитів. Наступні етапи — як описано вище, починаючи з підпункту 1.

7.5.11.2. Алоадсорбція

Для проведення цього типу адсорбції слід обирати стандартні еритроцити так, щоб вони диференціювалися між собою визначеними фенотипами. Доречною буде інформація фенотипу еритроцитів хворого за системами Rh, Kidd, антигенів K, M та S, а також, якщо це можливо, антигенів Duffy

та s, оскільки це дозволяє брати меншу кількість різновидів стандартних еритроцитів для адсорбції. Найчастіше алоадсорбцію проводять із 2–3 різновидами гомозиготних еритроцитів за кожною з-поміж названих систем. Адсорбцію проводять окремо з кожним різновидом еритроцитів.

Приклад підбору комплекту еритроцитів для адсорбції для пацієнта з фенотипом DCCee K-:

1) DCCee kk MM ss Jk(a-b+) Fy(a+b-);
2) DCCee kk NN SS Jk(a+b-) Fy(a-b+).

Якщо активність аутоантитіл в ензимному тесті вища, ніж в антиглобуліновому, алоадсорбцію проводять з еритроцитами, обробленими папаїном. Якщо ж аутоантитіла виявляють вищу активність в антиглобуліновому тесті, ніж в ензимному, — алоадсорбцію проводять у середовищі PEG.

7.5.11.2.1. Алоадсорбція аутоантитіл у середовищі 20% PEG

7.5.11.2.1.1. Проведення алоадсорбції

1. Приготувати приблизно по 2 мл ущільнених еритроцитів, призначених для адсорбції, попередньо відмитих у розчині NaCl.
2. В окремих пробірках змішати однакові частини: сироватки, ущільнених еритроцитів одного різновиду та 20% PEG.
3. Суміш інкубувати протягом 15 хв. при температурі 37 °С.
4. Відцентрифугувати і перевести супернатанти, що містять сироватку та PEG, в окремі пробірки.

7.5.11.2.1.2. Контроль результативності алоадсорбції

Для цього слід узяти еритроцити хворого, з яких вилучено антитіла за допомогою кислого гліцину (п. 7.5.10.2). Аналіз слід провести в межах антиглобулінового тесту, беручи такі пропорції: 4 краплі сироватки (в якій уже є PEG) та 1 крапля 3–5% завісі аутологічних еритроцитів, з яких вилучено аутоантитіла.

1. Інкубувати протягом 15 хв. при температурі 37 °С.
2. Відмити еритроцити 4 рази.
3. Проаналізувати їх з антиглобуліновою сироваткою анти-IgG.

Негативний результат свідчить, що аутоантитіла адсорбовано. Позитивний результат вказує на необхідність проведення повторної алоадсорбції. Чергову алоадсорбцію проводять, змішуючи той самий об’єм сироватки з новою порцією еритроцитів (кожного різновиду окремо), вже не додаючи PEG. Вільну від аутоантитіл сироватку аналізують зі стандартними еритроцитами з метою виявлення алоантитіл. Аналіз слід зробити в межах антиглобулінового тесту: 4 краплі сироватки (в якій уже є PEG) та 1 крапля 3–5% завісі зразкових еритроцитів у NaCl. Наступні етапи — як описано вище, починаючи з підпункту 1.

7.5.11.2.2. Алоадсорбція аутоантитіл еритроцитами, обробленими папаїном

7.5.11.2.2.1. Проведення алоадсорбції

1. Приготувати близько 2 мл ущільнених еритроцитів, призначених для адсорбції, попередньо відмитих у розчині NaCl.
2. Еритроцити папаїнізувати (згідно з п. 7.5.1.3.1).
3. В окремих пробірках змішати однакові об’єми сироватки та густих еритроцитів, оброблених папаїном одного різновиду.
4. Суміш інкубувати протягом 30 хв. при температурі 37 °С.
5. Відцентрифугувати та перевести сироватку в окремі пробірки.

7.5.11.2.2.2. Контроль результативності алоадсорбції

Для цього слід узяти еритроцити хворого, з яких вилучено антитіла за допомогою кислого гліцину (п. 7.5.11.2); ці еритроцити мають бути один раз відмиті розчином LISS.

Аналіз слід робити в межах антиглобулінового тесту LISS: 2 краплі сироватки та 2 краплі 2–3% завісі аутологічних еритроцитів у розчині LISS.

1. Інкубувати протягом 20 хв. при температурі 37 °С.
2. Відмити 4 рази.
3. Проаналізувати з багатоспецифічною антиглобуліновою сироваткою.

Негативний результат свідчить, що аутоантитіла адсорбовано. Позитивний результат вказує на необхідність проведення повторної алоадсорбції. Чергову алоадсорбцію проводять, змішуючи той самий об'єм сироватки з новою порцією еритроцитів, оброблених папаїном (кожного різновиду окремо). Вільну від аутоантитіл сироватку аналізують зі стандартними еритроцитами з метою виявлення алоантитіл.

УВАГА! *Дуже важливо правильно проаналізувати результати реакції сироватки після алоадсорбції зі стандартними еритроцитами. Слід усвідомлювати, що алогенні еритроцити адсорбують не тільки аутоантитіла із сироватки хворого, але можуть також адсорбувати й алоантитіла. Тому реакції сироватки після адсорбції одним різновидом еритроцитів можуть відрізнятися від реакцій сироватки, адсорбованої еритроцитами іншого фенотипу.*

7.5.12. Диференціація антитіл IgG та IgM

Цей метод застосовується, коли необхідно встановити, чи є в аналізованій сироватці, окрім аглютинінів IgM, також неповні антитіла IgG тієї самої специфічності.

Обробка сироватки 2ME та DTT спричиняє розпад і втрату серологічної активності антитіл класу IgM.

7.5.12.1. Обробка сироватки 2ME

1. Додати до аналізованої сироватки такий самий об'єм 0,1 моль/л 2ME у фосфатному буфері з pH 7,4.
2. Суміш витримати 2 год. при температурі 37 °C.
3. Здійснити аналізи зі стандартними еритроцитами в межах тестів, у яких виявлялися антитіла. Позитивний результат свідчить про наявність антитіл IgG, негативний вказує на присутність антитіл IgM.

7.5.12.2. Обробка сироватки DTT

Проведення аналізу:

1. У пробірку помістити однаковий об'єм (наприклад, 1 мл) аналізованої сироватки та 0,01M DTT.
2. Суміш інкубувати при температурі 37 °C протягом 2 год.
3. Провести аналізи сироватки, обробленої DTT, зі стандартними еритроцитами в межах тестів, у яких виявлялися антитіла, тобто в тесті з NaCl, а також в НАГТ.

7.5.13. Виявлення дефекту в оболонці еритроцитів за допомогою полібрену

Цей метод дозволяє виявити дефект, пов'язаний з дефіцитом сіалової кислоти, що перевищує 5–7% нормального значення. Нормальні еритроцити, що мають негативний заряд, піддаються агрегації в середовищі позитивно зарядженого високомолекулярного полімеру. Завішені в цьому середовищі еритроцити, негативний заряд яких набагато зменшується (через дефіцит сіалової кислоти), взаємно відштовхуються і не зліплюються.

7.5.13.1. Підготовка еритроцитів

1. Обробити папаїном правильно підібрані контрольні еритроцити, застосовуючи цього разу дещо довший (приблизно на 5 хв.) час контакту з ензимом, порівняно з часом, який береться при підготовці еритроцитів для аналізу антитіл.
2. Приготувати 25% завісі контрольних еритроцитів — звичайних та папаїнованих, а також аналізованих еритроцитів у розчині NaCl, буферованому до pH 7,0.

7.5.13.2. Проведення аналізу

1. У 3 пробірки помістити по 1 мл 1% розчину полібрену і в кожну з них додати по 5 крапель відповідної завісі еритроцитів; ретельно перемішати.
2. Одразу ж перевести вміст пробірок у 3 піпетки ємністю 1 мл або у трубки Вестерґрена і встановити їх у вертикальному положенні.
3. Через 5 хв. визначити результат уперше, а через 20 хв. — удруге.

7.5.13.3. Інтерпретація результатів

Слід порівняти, як поводяться аналізовані еритроцити та еритроцити контрольні. Якщо аналізовані еритроцити поводяться так само, як і звичайні контрольні (тобто спадають донизу), то нема підстав для висновку про дефіцит сіалової кислоти, що перевищував би 5–7%. На дефіцит сіалової кислоти вказує результат, при якому аналізовані еритроцити залишаються у завісі, так само як папаїнізовані контрольні еритроцити.

7.5.14. Колонкові (гельові) мікрометоди

Переваги колонкових тестів:
- приходять на заміну тестам, які вимагають скелець та пробірок;
- прості, безпечні та зручні у застосуванні;
- дозволяють економити діагностичні реактиви;
- дозволяють швидко здійснити велику кількість аналізів на малому об'ємі крові;
- дуже чутливі й роблять можливим виявлення навіть дуже слабких антитіл;
- виключають багато неспецифічних реакцій, наприклад, рулонізацію («монетні» стовпчики);
- в антиглобуліновому тесті не вимагають етапу відмивання еритроцитів, що дозволяє уникнути найбільш поширеної помилки.

УВАГА!

А. Застосування гелів або скляних кульок, які заповнюють мікропробірки, дозволяє ретельно ізолювати еритроцити від оточуючого середовища. Такі наповнювачі затримують сироватку разом із надлишком невикористаних у реакції антитіл та інших глобулінів, що має особливо важливе значення в антиглобуліновому тесті.

Б. Застосування колонкових тестів у передтрансфузійних аналізах значно прискорює підбір крові для хворого та збільшує безпеку трансфузії.

В. Завдяки великій чутливості тестів зростає і вірогідність виявлення антитіл холодового типу, несуттєвих із клінічної точки зору. У таких випадках упродовж усього аналізу слід підтримувати температуру 37 °С.

7.5.15. Автоматизація в імуногематологічних дослідженнях

Автоматичні лінії служать для повсякденних аналізів груп крові, визначення фенотипів еритроцитів та виявлення імунних алоантитіл. Вони мають знайти застосування у всіх ЗСК, зокрема при обстеженні донорів. Завдяки відповідному устаткуванню та функціям ці апарати роблять неможливою заміну одного зразка крові іншим та зменшують ризик помилок. Імуногематологічні реакції можна безпосередньо визначати та порівнювати з даними на моніторі або у роздруківці результатів. Роздруківки проведених аналізів разом із їх результатами мають зберігатися у швидкозшивачах; отже, відпадає потреба в журналах результатів обстежень, які містять протоколи аналізів, написані вручну. Крім того, апаратура надає можливість архівування всіх протоколів серологічних реакцій та результатів разом із номерами пластинок чи карток, а також назвами застосованих методик, завдяки чому результати в разі потреби можна легко відновити. Додаткова перевага — дуже економне використання діагностичних реактивів.

Виробник автоматичних і напівавтоматичних ліній має забезпечити можливість безпосередньої передачі результатів донорських аналізів у єдину комп'ютерну базу.

В аналізах груп крові реципієнтів не можна відмовлятися від візуального контролю, якщо автоматичний датчик не реєструє і не інтерпретує двох популяцій еритроцитів.

7.5.15.1. Автоматичні лінії

Автоматичні лінії самостійно проводять усю процедуру аналізу — від узяття матеріалу з досліджуваного зразка до видачі результату. Автоматична лінія виконує такі завдання:

– ідентифікацію досліджуваного зразка;
– ідентифікацію реактивів, а також підтримання реактивів у стані, готовому до вживання;
– приготування відповідних зависей еритроцитів;
– нанесення аналізованого матеріалу та реактивів на мікропластини, їх поміщення у мікропробірки тощо;
– проведення аналізу згідно з установленим алгоритмом, включно з моніторингом головних етапів процесу: дозування досліджуваних зразків та реактивів, час і температура інкубації, час і швидкість центрифугування, визначення результату та його інтерпретація, забезпечення безперервності процесу.

7.5.15.2. Напівавтомати

Напівавтомати — це системи, в яких окремі дії виконує оператор, наприклад:

– готує реактиви, стандартні еритроцити, мікропластини або карти з мікропробірками та реєструє їх дані (різновиди та номери серій, фенотип тощо);
– здійснює моніторинг етапів процесу, наприклад, час і температуру інкубації;
– стежить за безперервністю процесу.

7.5.15.3. Випробування автоматичних ліній

Перед допущенням до використання автоматичні та напівавтоматичні лінії мають бути випробувані. Ця процедура полягає у паралельному проведенні аналізів мануальним та автоматичними методами; можливе випробування за результатами автоматичного методу, який застосовувався у закладі раніше протягом тривалого часу та дозволяє оцінити правильність функціонування нової апаратури.

Випробування апаратури слід проводити після кожної несправності і після кожного технічного контролю.

Раз на тиждень слід здійснювати калібрування автоматичного датчика, діючи згідно з інструкцією виробника.

7.5.15.4. Випробування реактивів, що застосовуються в автоматичних аналізах

Кожну нову серію діагностичних реактивів та розчинників (ділюентів) слід випробовувати, проводячи одночасно аналізи щонайменше 5 зразків крові з новою серією реактивів та серією, яка застосовувалась раніше.

7.5.15.5. Щоденний контроль автоматичних аналізів

Контроль полягає у перевірці активності та специфічності реактивів, які були використані у цей конкретний день. Найчастіше для контролю груп крові AB0 та антигену D застосовують еритроцити груп AB Rh+ та 0 Rh-. Якщо реактиви зафіксовані на мікропластинах — контрольні аналізи стосуються кожної нової серії. Під час контролю достовірності антиглобулінового тесту при аналізі імунних антитіл слід застосовувати Стандарт анти-D. Інтенсивність реакції зі Стандартом не повинна перевищувати ++. Якщо інтенсивність вища, Стандарт треба відповідною мірою розвести.

Друк результатів контрольних аналізів має супроводжуватися приміткою (штампом): «Комплект пройшов контроль ……..(дата), визнається придатним до аналізів», а також підписом та печаткою особи, яка проводила контрольні аналізи.

7.5.15.6. Архівування операційних даних

Архівування стосується таких даних:

– дата аналізу;
– особа, що призначає проведення аналізу;
– особа, що обслуговує апаратуру;
– особа, що відповідає за остаточний результат;
– інформація щодо реактивів: різновиди та номери серій;

- інформація щодо аналізів активності кожного реактиву;
- зауваження щодо можливого ручного коригування результатів;
- остаточні результати аналізу;
- порядок дій в разі сигналу про помилки, що повідомляє використана автоматична система.

УВАГА! *В автоматичних аналізах можна не проводити ензимний тест при скринінгу імунних антитіл у хворих та у вагітних жінок.*

7.6. Аналізи антигенів і антитіл групових систем еритроцитів у донорів та у пацієнтів

Перед початком аналізів реактиви та стандартні еритроцити слід довести до кімнатної температури.

7.6.1. Аналіз груп крові за системою АВ0

Групу крові за системою АВ0 визначають на підставі наявності або відсутності аглютинації еритроцитів, аналізованих із діагностичними реактивами, а також наявності або відсутності аглютинації стандартних еритроцитів A_1 та В з аналізованою (досліджуваною) сироваткою. Стандартні еритроцити групи 0 являють собою контрольний зразок, а їх аглютинація після контакту з аналізованою сироваткою свідчить про наявність іррегулярних антитіл. Якщо аналізовані еритроцити не реагують з діагностичними реактивами — виявлення у сироватці антитіл анти-Н за допомогою еритроцитів групи 0 полегшує розпізнавання фенотипу Bombay.

7.6.1.1. Набір діагностичних реактивів і стандартних еритроцитів

7.6.1.1.1. Реактиви

Застосовують 2 комплекти моноклональних діагностичних реактивів:
- Комплект 1: анти-А та анти-В;
- Комплект 2: анти-А і анти-В з інших клонів, відмінних від Комплекту 1.

Можливе використання комплектів, які містять реактиви з 2-х різних серій одного клону.
Реактиви слід застосовувати згідно з рекомендаціями виробника.

7.6.1.1.2. Стандартні еритроцити

Стандартні еритроцити являють собою зависі еритроцитів груп крові 0, A_1 та В. Стандартні еритроцити слід застосовувати згідно з рекомендаціями виробника.

УВАГА!

А. Еритроцити A_1 відбирають із крові групи А за допомогою аналізу з лектином анти-A_1.

Б. Усі складові діагностичного комплекту мають знаходитися в замкнутих контейнерах, оснащених крапельницями.

В. У випадку застосування автоматичних методів (із дотриманням принципів, описаних у п. 7.5.15) допускається використання одного комплекту моноклональних реактивів анти-А і анти-В — за умови, що для кожного зразка крові донора/реципієнта визначають антитіла анти-А і анти-В.

Г. Визначаючи алоантитіла АВ0 в автоматичних системах, можна оминути увагою еритроцити групи 0.

7.6.1.1.3. Контроль комплекту реактивів і стандартних еритроцитів

Макроскопічний контроль діагностичних реактивів та стандартних еритроцитів слід проводити щоденно. Скаламучення, осад або гемоліз, наявний у надосаді, є достатніми причинами для вилучення складових з комплекту.

Обов'язковим є щоденний контроль специфічності та активності діагностичних реактивів у тестах, які застосовуються для аналізів. Контроль стандартних еритроцитів є обов'язковим після кожного їх виготовлення.

1. Діагностичний комплект вважається придатним до застосування, якщо одержані результати відповідають схемі у таблиці 7.2. Слід виключити з комплекту ті компоненти, які виявляють неспецифічні реакції, так само, як і ті, активність яких не відповідає критеріям, рекомендованим виробником.
2. Номери серій, умовні позначення реактивів та еритроцитів, відібраних для діагностичного комплекту, записують у Журналі аналізів груп крові (Зразок №7.5, див. п. 7.4.3) або в окремому Журналі разом із протоколом та приміткою: «Комплект пройшов контроль ……..(дата), визнається придатним до аналізів», а також із підписом особи, яка проводила контрольні аналізи.

Таблиця 7.2

Схема результатів визначень груп крові за системою АВ0

Аналізовані зразки крові	Моноклональні реактиви		Зразкові еритроцити			Результати визначень груп крові
	анти-А	анти-В	0	A_1	В	
№1	–	–	–	+	+	0
№2	+	–	–	–	+	А
№3	–	+	–	+	–	В
№4	+	+	–	–	–	АВ

7.6.1.2. Порядок проведення аналізу груп крові АВ0

Аналіз здійснюється мануальним або автоматичним методом згідно з рекомендаціями виробника діагностичних реактивів. Якщо мікроколонковий або автоматичний методи дали сумнівні результати, визначення групи крові за системою АВ0 здійснюють мануальним методом у пробірках.

УВАГА!

А. Результати аналізів груп крові мають визначатися 2 особами паралельно: одна називає одержані результати реакцій, а друга протоколює їх у Журналі аналізів за допомогою позначок «+» (аглютинація) та «–» або «0» (відсутність аглютинації). Після запису результатів друга особа має відслідити реакції на пластині, а та, яка їх уже оглядала, — перевірити правильність записів у Журналі.

Б. Якщо результати реакції не відповідають схемі, наведеній у таблиці 7.2, або якщо реакція аглютинації дуже слабка — у записах, що стосуються всього аналізу, слід фіксувати інтенсивність аглютинації у кожній з окремих реагуючих сумішей.

В. Якщо застосовуються автоматичні методи (згідно з принципами, описаними у п. 6.5.15), результат аналізу може визначатися і перевірятися однією особою.

Після визначення та запису результатів треба провести контрольний аналіз, який полягає у повторному визначенні антигенів на еритроцитах за допомогою діагностичних реактивів із другого комплекту. Для цього аналізу беруть еритроцити з первинного зразка крові. Неможливе використання раніше приготованих зависей еритроцитів, які вже застосовувалися в основному аналізі. Отримання однозначних результатів, які збігаються з попередніми (що має бути запротокольовано), дозволяє записати кінцевий результат у графі «Результат».

7.6.1.3. Визначення антигену A_1 на еритроцитах, призначених для аналізу АВ0

Аналіз виконують за допомогою лектину анти-A_1, згідно з рекомендаціями виробника. Наявна аглютинація (від 3+ до 4+) вказує на різновид A_1.

УВАГА! *Трапляється, що реакція з лектином є слабковираженою (1+). Такі еритроцити характеризують як A_{int}; їх використання як стандартних для аналізів системи АВ0 неможливе.*

7.6.1.4. Причини відхилень від класичної схеми оцінки результатів аналізів груп крові АВ0

7.6.1.4.1. Технічні помилки

Можливе виникнення помилки технічного характеру:
- забруднені пластини або піпетки;
- неправильна пропорція еритроцити/реактив;
- надто пізня спроба визначення результату (висихання суміші);
- забруднення реактивів або аналізованих еритроцитів та сироватки;
- недодання діагностичного реактиву або аналізованої сироватки;
- нездійснення перевірки стандартних еритроцитів після їх приготування;
- помилка ідентифікації досліджуваних зависей еритроцитів або сироваток (заміна пробірок).

7.6.1.4.2. Нетипові властивості аналізованих еритроцитів або сироваток

Можуть спостерігатися такі нетипові властивості аналізованих еритроцитів/сироваток:
- дуже слабкі реакції регулярних аглютинінів в аналізованій сироватці;
- наявність гемолізинів;
- наявність аутоаглютинінів;
- наявність дрібних згустків, що імітують аглютинацію;
- наявність іррегулярних антитіл в аналізованій сироватці;
- поліаглютинація аналізованих еритроцитів, яка виявляє себе у присутності діагностичних сироваток людини;
- присутність слабкого різновиду антигену А або В;
- наявність 2 популяцій еритроцитів (природний химеризм, післятрансфузійний химеризм, післятрансплантаційний химеризм).

Якщо спостерігаються відхилення від класичної схеми результатів аналізу груп крові за системою АВ0 — потрібно:
- повторно зробити спробу визначення групи крові, використовуючи для аналізів сироватку та зависьеритроцитів, які виготовлені з первинного зразка крові;
- проаналізувати еритроцити із сироваткою групи АВ та з аутологічною сироваткою у середовищі NaCl при кімнатній температурі.

Це дозволить виключити помилки технічного характеру, а також встановити поліаглютинацію та аутоаглютинацію.

7.6.1.5. Слабкі різновиди антигенів за системою АВ0

Слабкі різновиди антигенів за системою АВ0 наведені в таблиці 7.3. Про наявність слабких різновидів антигенів А або В свідчить:
- значне послаблення або відсутність аглютинації аналізованих еритроцитів із діагностичним реактивом анти-А або анти-В, якщо при цьому часто спостерігається відсутність очікуваних аглютинінів;
- картина 2-х популяцій аналізованих еритроцитів із діагностичними реактивами (сироватками).

УВАГА! *Моноклональні реактиви часто не диференціюють слабких різновидів, особливо Ах та А3.*

Таблиця 7.3

Співставлення найтиповіших реакцій рідкісних різновидів антигенів системи АВ0 із діагностичними сироватками людини

Фенотип	Реакції еритроцитів із діагностичними реактивами				Реакції сироватки зі стандартними еритроцитами				Слина секретора містить
	анти-А	анти-В	анти-А, В*	анти-Н	A_1	A_2	В	0	
A_3	Змішана аглютинація	0	Змішана аглютинація	3+	±	0	3+	0	А та Н
A_m	0/±	0	0/±	4+	0	0	4+	0	А та Н
A_x	0/±	0	1+/2+	4+	1+	0	4+	0	Н
A_{el}	0	0	0	4+	2+	0	4+	0	Н
A_{end}	+сл.	0	+сл.	4+	0	0	3+	0	Н
B_3	0	Змішана аглютинація	Змішана аглютинація	4+	4+	4+	0	0	В та Н
B_m	0	0	0/±	4+	4+	3+	0	0	В та Н
B_x	0	0/±	0/2+	4+	4+	3+	0	0	Н
$B_{частк.}$	0	±	±	+сл.	3+	2+	±	0	В та Н
B_{end}	0	+сл.	+сл.	4+	3+	3+	0	0	Н
Bombay 0_hA, 0_hB, 0_hAB	0	0	0	0	+	+	+	+	нема

** Сироватка людини.*

Для підтвердження та ідентифікації різновиду системи АВ0 слід проводити такі дії:

1. Проаналізувати еритроцити з обраними сироватками анти-А або анти-В, а також із лектином анти-Н.
2. Застосувати більш чутливі методи (колонковий метод).
3. Проаналізувати сироватки з більшою кількістю еритроцитів А або В пробірковим методом.
4. Перевірити наявність слабкого антигену на еритроцитах методом адсорбції/елюції антитіл.
5. Проаналізувати слину на предмет наявності субстанції АВН.
6. Провести сімейні аналізи.

7.6.1.6. Наявність двох популяцій еритроцитів

Наявність двох популяцій еритроцитів характеризується тим, що під впливом діагностичних реактивів тільки частина аналізованих еритроцитів піддається аглютинації, тоді як решта утворює однорідну зависі (аглютинати на фоні вільних еритроцитів). Це явище може спостерігатися у таких випадках:

– наявність слабкого різновиду A_3 або B_3 (в аналізах із сироватками людини);
– депресія (пригнічення) антигену А або В у частині популяції еритроцитів у перебігу хвороб кровотворної системи, що супроводжуються новоутвореннями;
– після переливання еритроцитів іншої групи крові (наприклад, людині з групою АВ — еритроцитів А, В або 0) — тимчасове явище;
– після пересадки алогенних гемопоетичних стовбурових клітин від донора з іншою групою АВ0 — тимчасове явище;
– химеризм у двояйцевих близнят — тимчасове явище;
– порушення процесу запліднення — диспермія (постійне явище).

УВАГА!

А. Якщо спостерігаються 2 популяції еритроцитів — слід спробувати їх розділити (п. 7.5.8). Якщо це не вдасться, варто підозрювати наявність слабкого різновиду антигену.

Б. Якщо вкрай необхідно перелити кров ще до отримання остаточного результату аналізу на групу крові, слід обирати КЕ групи 0.

7.6.1.7. Поліаглютинація

Явище поліаглютинації викликане змінами у клітинній оболонці еритроцитів під впливом бактеріальних ензимів або інших невідомих факторів, які призводять до оголення детермінант T, Tn та інших, які у нормальних станах є недоступними. Сироватки більшості дорослих людей, у тому числі й діагностичні сироватки людського походження, характеризуються наявністю природних антитіл, спрямованих проти цих детермінант, унаслідок чого вони аглютинують такі еритроцити. Поліаглютинацією називають явище, яке виникає внаслідок наявності прихованих детермінантів *in vivo*, найчастіше під час зараження. Те саме явище, спричинене зараженням узятого зразка крові, має назву панаглютинації.

Під час аналізу групи крові за системою AB0, який проводиться з використанням сироваток людини, можна спостерігати реакції аглютинації, що не відповідають схемі. Таких реакцій моноклональні реактиви не виявляють. Якщо аналізовані еритроцити при поєднанні з кількома зразками сироватки групи AB дадуть аглютинацію — це підтвердить припущення про наявність прихованих детермінант. Для того щоб встановити, котрий з антигенних детермінантів вивільнився, слід провести аналізи з комплектом лектинів, витяжкою з білкової залози Helix pomatia та з полібреном (табл. 7.4).

УВАГА!

А. До вивільнення антигену T та споріднених антигенних детермінантів (Tk) призводять хвороботворні мікроорганізми, що виробляють нейрамінідазу (ензим, який спричиняє розклад сіалової кислоти). Це явище минає та зникає після ліквідації інфекції.

Б. Фактор, що вивільняє антиген Tn, досі не знаний. Він діє одночасно на еритроцити, тромбоцити і гранулоцити, що призводить до анемії, тромбоцитопенії та гранулоцитопенії. Поліаглютинація при цьому, як правило, має постійний характер.

В. Поліаглютинацію Tn не слід плутати з присутністю на еритроцитах антигену Cad, який є генетично зумовленим.

Г. Концентрати клітинних компонентів крові, призначені для реципієнтів, еритроцити яких виявляють поліаглютинацію (особливо якщо йдеться про новонароджених та немовлят), мають бути максимально звільнені від плазми. Таким реципієнтам не слід переливати плазму.

Таблиця 7.4

Диференціація причин поліаглютинації

Вивільнення антигенів	Діючий фактор	Реакція еритроцитів із лектином					Полібрен
		Arachis hypogea	Dolichos biflorus	Helix pomatia	Salvia sclarea	Salvia horminum	
T	Нейрамінідаза	+	–	–	–	–	Відсутність агрегації
Tk	Ендо-галактозидаза	+	–	–	–	–	Агрегація
Tn	Невідомий	–	+	+	+	+	Відсутність агрегації
VA	α-Фукозидаза	–	–	+	+	+	Агрегація
Cad	Генетично зумовлений	–	–	+	–	–	Агрегація
HEMPAS	Генетично зумовлений	–	–	+	–	–	Відсутність агрегації
NOR	Генетично зумовлений	–	–	–	–	–	Агрегація

7.6.1.8. Наявність алогемолізинів

Під час аналізу на групу крові AB0 свіжовзятого зразка крові замість очікуваної аглютинації зі стандартними еритроцитами може з'явитися гемоліз, який є еквівалентом аглютинації. Щоб уникнути помилкової інтерпретації, треба:

1. Розвести аналізовану сироватку розчином NaCl у співвідношенні 1:9.
2. Повторити аналіз зі стандартними еритроцитами (замість гемолізу має з'явитися аглютинація).
3. У разі відсутності наявної аглютинації застосувати пробірковий метод.

7.6.1.9. Значне зниження рівня алоаглютинінів АВ0 або їх відсутність

Після виключення наявності алогемолізинів відсутність очікуваної реакції аналізованої сироватки з відповідними стандартними еритроцитами може свідчити про низький рівень алоаглютинінів або їх відсутність. У межах фізіологічної норми це явище спостерігається у новонароджених та немовлят; що ж до випадків, пов'язаних із хворобою, — при гіпо- або агаммаглобулінемії.

7.6.1.9.1. Порядок дій у разі значного зниження рівня алоаглютинінів АВ0 або їх відсутності

Реакції досліджуваної сироватки зі стандартними еритроцитами слід перевірити пробірковим методом таким чином:

1. Приготувати 3 пробірки, позначені символами 0, A_1, В.
2. У кожну пробірку помістити по 2 краплі аналізованої сироватки.
3. Додати по 2 краплі 3–4% завісі еритроцитів, відповідно до позначок на пробірках.
4. Пробірки залишити при кімнатній температурі на кілька хвилин.
5. Вміст пробірок центрифугувати протягом 30–60 сек.
6. Встановити результати в макроскопічному режимі, обережно струшуючи пробірки.

Якщо пробірковий метод алоаглютинінів не виявив (відсутність аглютинації еритроцитів із відповідним реактивом) — наступним кроком мають бути аналізи на слабкі різновиди антигену А або В методом адсорбції/елюції.

7.6.1.10. Рулонізація еритроцитів («монетні» стовпчики)

Якщо при аналізі сироватки спостерігається агрегація стандартних еритроцитів усіх груп крові, слід брати до уваги явище рулонізації, яке:

– не спостерігається у здорових людей;
– може виявитися у хворих із розладами, зумовленими білками плазми (макроглобулінемія, хвороби з новоутвореннями, опіки);
– спостерігається після переливання високомолекулярного декстрану або після внутрішньовенного застосування контрастного препарату для рентгенологічних аналізів;
– якщо дивитися в макроскопічному режимі, не відрізняється від аглютинації.

7.6.1.10.1. Порядок дій у разі підозри на рулонізацію

1. Перенести краплю зліплених еритроцитів на предметне скельце і розглянути під мікроскопом.
2. Звернути увагу на характер формування «монетних» стовпчиків еритроцитами.
3. Якщо сироватка виявляє дуже інтенсивні рулонізуючі властивості і якщо труднощі у відрізненні рулонізації від аглютинації все ж є — розвести аналізовану сироватку розчином NaCl (пропорція 1:2, у разі необхідності може бути й більша) і повторити аналіз зі стандартними еритроцитами.

7.6.1.11. Наявність неочікуваних алоантитіл

7.6.1.11.1. Наявність антитіл анти-A_1

Присутність цих антитіл виявляє себе у несподіваному результаті реакції аналізованої сироватки зі стандартними еритроцитами A_1. У такому разі слід:

– за допомогою лектину анти-A_1 перевірити, чи належать аналізовані еритроцити до A_2 або іншого слабкого різновиду;
– проаналізувати сироватку із зависями стандартних еритроцитів A_1 (з іншого зразка) та A_2;
– з метою остаточної ідентифікації антитіл узяти більшу кількість еритроцитів A_1 і A_2.

7.6.1.11.2. Наявність інших алоантитіл

Після виключення наявності аутоаглютинінів на підставі аналізу сироватки з аутологічними еритроцитами — якщо спостерігається аглютинація зі стандартними еритроцитами, то це вказує на присутність алоаглютинінів. Окрім анти-A_1, це можуть бути інші «природні» антитіла, які вступають у реакцію при кімнатній температурі, наприклад, анти-P_1, анти-M, анти-N, анти-H, анти-Le^a, анти-Le^b, а також значно рідкісніші повні імунні антитіла (наприклад, із системи Rhesus). Для визначення

їх специфічності служить відповідним чином підготований комплект стандартних еритроцитів, наприклад:

0 NNSs P_1 Le(a-b+)	0 MMSS P_1 Le(a+b-)
0 MNss P_1 Le(a-b+)	0 MNss P_2 Le(a-b-) Lu(a+)
0 MMSs P_2 Le(a-b+)	еритроцити, однойменні за AB0.

Сироватку слід аналізувати із зависями еритроцитів у розчині NaCl та/або у розчині LISS таким чином:

1. У заздалегідь позначені пробірки помістити по 2 краплі аналізованої сироватки.
2. Додати по 1 або 2 краплі 3–4% зависі відповідних еритроцитів.
3. Залишити на 15 хв. при кімнатній температурі.
4. Центрифугувати протягом 1 хв. при 340 × g.
5. Встановити результати, фіксуючи у протоколі інтенсивність аглютинації.

УВАГА!

А. У людей з групою A_1 та A_1B реакція сироватки з еритроцитами групи 0 провокує підозру щодо присутності антиліл анти-Н. Для встановлення специфічності цих антиліл треба таким же способом проаналізувати сироватку з кількома зависями еритроцитів груп 0, A_2 та A_1. Аглютинація еритроцитів групи 0 і A_2 при відсутності реакції з еритроцитами A_1, а також уповільнення активності за допомогою слини секретора групи 0, — ось явища, які підтверджують специфічність антиліл анти-Н.

Б. Аглютинація приблизно однакової інтенсивності з усім комплектом стандартних еритроцитів (за винятком аутологічних еритроцитів) може вказувати на присутність дуже рідкісних алоантиліл анти-I.

В. Якщо реакції з окремими різновидами еритроцитів дозволяють установити специфічність аналізованих антиліл, слід підтвердити правильність ідентифікації шляхом визначення фенотипу аналізованих еритроцитів за тією груповою системою, до якої зараховуються виявлені антиліла.

Г. Після встановлення специфічності алоантиліл слід перевірити методом НАГТ, чи не мають ці антиліла імунного характеру, що спостерігається найчастіше у випадках анти-М, анти-S, анти-Le^a, анти-P_1.

7.6.1.12. Аутоаглютинація

Якщо сироватка аглютинує стандартні еритроцити всіх груп крові, то слід провести контрольний аналіз із зависсю аутологічних еритроцитів (аутоконтроль). Поява аглютинації свідчить про наявність аутоантитіл холодового типу. У рідкісних випадках у хворих із синдромом холодових аглютинінів аглютинація спостерігається вже під час приготування зависі еритроцитів. Вона ускладнює визначення групи крові за системою AB0.

7.6.1.12.1. Порядок дій

1. Із вени на ліктьовому згині, зігрітому термофором, повторно взяти кров «теплим» способом, за допомогою комплекту, підігрітого до температури 37 °С.
2. Частину взятої крові перевести в суху пробірку, частину — у пробірку з антикоагулянтом (EDTA-Na_2), розміщену в посудині з водою з температурою 37 °С.
3. Після кількаразового відмивання еритроцитів розчином NaCl, підігрітим до температури 37 °С, приготувати їх завись.
4. Відокремити від згустка сироватку і довести до температури 37 °С.
5. Аналізи на групу крові за системою AB0 робити при температурі 37 °С.
6. Встановити результати після 10–15-хвилинної інкубації, одразу ж після вилучення з термостата.
7. Аналіз групи крові має супроводжуватися контролем активності стандартних реактивів при цій температурі.

7.6.2. Визначення груп крові за системою АВ0 у новонароджених та немовлят

Нормальна експресія антигенів А і В на еритроцитах спостерігається переважно з другого року життя дитини. У зв'язку з цим при аналізах еритроцитів у більш ранній період можуть виявлятися слабші та запізніліші реакції з діагностичними реактивами анти-А і анти-В (порівняно з еритроцитами дорослих осіб). З іншого боку, продукування натуральних антитіл системи АВ0 розпочинається найчастіше на третьому місяці життя, тож не завжди їх можна виявити. Отже, в таких аналізах слід застосовувати пробіркові методи.

7.6.2.1. Порядок дій

1. У дві позначені пробірки помістити по 2 краплі реактиву — відповідно, анти-А і анти-В.
2. У додаткову пробірку помістити 2 краплі сироватки людини групи крові АВ (перевіреної на відсутність антитіл до антигенів еритроцитів).
3. В усі пробірки додати по 2 краплі 3–4% завісі аналізованих еритроцитів у розчині NaCl та перемішати.
4. Вміст пробірок центрифугувати протягом 1 хв. при 150–340 × g або згідно з рекомендаціями виробника.
5. У макроскопічному режимі встановити результати, легко струшуючи пробірки.
6. Виконати таким самим способом контрольний аналіз із застосуванням діагностичних реактивів з інших клонів або серій.

УВАГА!

А. Вищеописаний спосіб дій не включає аналізу на присутність антитіл анти-А та/або анти-В у сироватці новонародженого, оскільки вони ще не виробляються у достатніх для виявлення кількостях, а ті, які виявити все-таки можна, походять з організму матері.

Б. Якщо дитині ще не виповнилося два роки — слабку експресію антигену А або В на еритроцитах не варто розглядати як слабкий різновид антигену; рекомендується повторити аналізи пізніше. Також не слід брати ці результати для постійного обліку.

В. Проведення контрольного аналізу із сироваткою групи АВ має на меті можливе виявлення поліаглютинації через бактеріальну інфекцію. Таку сироватку можна отримати з проаналізованих зразків крові людей з групою АВ — після виключення присутності в ній інших іррегулярних антитіл. Зразки цих сироваток слід зберігати в замороженому стані.

Г. При аналізах груп крові новонароджених та немовлят дуже добрим і високочутливим є колонковий мікрометод.

Ґ. Визначати групу крові усім новонародженим недоцільно.

7.6.3. Аналіз антигену D

7.6.3.1. Визначення антигену D у донорів

Присутність або відсутність антигену D на еритроцитах є вирішальним чинником для визначення їх групи — RhD+ або RhD–-. Визначення антигену D здійснюють за допомогою двох реактивів анти-D. Для кожного первинного донора цей аналіз проводять двічі, тобто аналізують два зразки крові, взяті в різний час, і щоразу застосовують два різні реактиви анти-D:

– моноклональний реактив анти-D IgM;

– моноклональний реактив анти-D IgM, що походить з іншого клона, або реактив анти-D IgM + IgG (Blend).

Реактиви анти-D IgM + IgG можна використовувати також і в непрямому антиглобуліновому тесті (при аналізах донорських еритроцитів).

Методика визначення антигену D за допомогою моноклональних реактивів має узгоджуватися з рекомендаціями виробника. Одночасно з кожною серією аналізів слід проводити контроль реактиву анти-D з еритроцитами RhD+ та RhD–.

УВАГА! *Застосовувані реактиви анти-D мають виявляти більшість випадків слабкої експресії антигену D (колишнє позначення — D^u), а також більшість категорій антигену D, у тому числі D VI. Наприклад, якщо один з реактивів анти-D не розпізнає антигену D^{VI}, то другий із них повинен виявляти цю категорію.*

7.6.3.1.1. Інтерпретація результатів аналізів

Аглютинація реактиву анти-D з аналізованими еритроцитами свідчить про присутність антигену D (результат Rh+); відсутність аглютинації вказує, що аналізовані еритроцити слід визначити як Rh–.

7.6.3.1.2. Труднощі в інтерпретації результатів аналізів антигену D

7.6.3.1.2.1. Слабка аглютинація аналізованих еритроцитів із реактивами анти-D

Слабка активність аналізованих еритроцитів може свідчити про слабку експресію антигену D, т. зв. D слабкий (D^u), а може вказувати на антиген D частковий, який належить до однієї з категорій, наприклад, D^{VI}. У таких випадках для донора треба:

1) провести аналізи в НАГТ з різними реактивами анти-D, що містять антитіла класу IgG, моноклональні або поліклональні;

2) в окремих випадках дуже слабкої експресії антигену D — підтвердити його присутність аналізами елюату після інкубації еритроцитів з поліклональними антитілами IgG анти-D;

3) якщо у донора виявлено слабкий антиген D, цього донора необхідно зарахувати до RhD-позитивної групи.

Кінцевий результат повинен мати таке формулювання:

«RhD-позитивний (слабка експресія антигену D).
Як реципієнт — RhD-негативний».

УВАГА! *Причини слабкої експресії антигену D:*

- *мутація гена D, яка призводить до заміни у білку Rh у міжмембранній або цитоплазматичній ділянці, як правило, тільки однієї амінокислоти іншою та до виникнення фенотипу D слабкий; у рідкісних випадках організми людей із фенотипом D слабкий можуть продукувати антитіла анти-D;*
- *мутація гена D, яка веде до відсутності частини епітопів D у зовнішньомембранній ділянці та до виникнення D часткового; слабка експресія антигену D характерна для категорії D^{VI};*
- *вплив гена C у позиції транс.*

7.6.3.1.2.2. Категорії антигену D (D частковий)

Категорії антигену D характеризуються відсутністю на еритроцитах одного або кількох епітопів, які входять до його складу. Аналізи в цьому напрямку проводять у таких випадках:

1. Наявність алоантитіл анти-D у Rh-позитивних людей;
2. Розбіжності в результатах, отриманих із набором реактивів анти-D. У таких ситуаціях, маючи в розпорядженні спеціальний набір моноклональних антитіл анти-D, можна встановити категорію цього антигену. Ці аналізи здійснює відповідна лабораторія ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України», ЗСК.

УВАГА!

А. Різновиди антигену D, що зараховуються до окремих категорій, трапляються дуже рідко. Серед них найчастіше розпізнається категорія D^{VI}.

Б. На практиці розпізнавання категорій антигену D стосується найчастіше Rh_o(D)-позитивних людей, у яких виявлено алоантитіла анти-D; специфічність цих антитіл спрямована до епітопів антигену D, відсутніх на аутологічних еритроцитах.

В. Донори, у яких розпізнано будь-яку категорію антигену D, зараховуються до групи Rh_o(D)–позитивних донорів.

Г. Хоча імуногенності часткового антигену D категорії D^{VI} досі не доведено, результат донорського аналізу повинен мати таке формулювання:

«RhD-позитивний (категорія D^{VI}).
Як реципієнт — RhD-негативний».

7.6.3.2. Визначення антигену D у реципієнтів крові та в жінок до періоду менопаузи

Реактиви анти-D IgM застосовуються для аналізів шляхом тесту зі скельцем або пробіркового тесту в середовищі NaCl.

Не можна визначати антиген D шляхом непрямого антиглобулінового тесту, оскільки є ризик отримати псевдопозитивний результат.

Методика визначення антигену D за допомогою моноклональних реактивів має узгоджуватися з рекомендаціями виробника. Одночасно з кожною серією аналізів слід проводити контроль реактиву анти-D з еритроцитами RhD+ та RhD-.

УВАГА!

А. Реактиви не повинні містити додаткових складників, які могли б спричиняти псевдопозитивні реакції, якщо еритроцити хворого навантажені in vivo антитілами IgG. Якщо виробник рекомендує застосовувати й контрольний реактив — цей контроль повинен бути включений до аналізу як його частина. Позитивний результат із контрольним реактивом (навіть слабка реакція) робить неможливою видачу Rh_o(D)-позитивного результату аналізу.

Б. Контрольний реактив, рекомендований виробником, завжди має застосовуватися (реакція з ним має бути частиною аналізу) у випадках сильної аутоаглютинації еритроцитів, спричиненої холодовими аутоантитілами. У таких випадках, перш ніж робити аналіз із реактивами анти-D, доцільно промивати еритроцити розчином NaCl, підігрітим до температури 37 °С.

7.6.3.2.1. Інтерпретація результатів аналізів

Якщо всі вищенаведені зауваження враховано — аглютинація реактиву анти-D з аналізованими еритроцитами свідчить про наявність антигену D (результат Rh+); відсутність аглютинації вказує, що аналізовані еритроцити слід визначити як Rh-.

7.6.3.2.2. Труднощі в інтерпретації результатів аналізів антигену D

7.6.3.2.2.1. Позитивний результат реакції з одним із реактивів анти-D, негативний результат з іншим реактивом анти-D або слабка аглютинація аналізованих еритроцитів з обома реактивами

Причиною розбіжності у результатах може бути виявлення слабкої експресії антигену, т. зв. D слабкий (D^u), або антигену D часткового, наприклад, D категорії VI. У таких випадках і реципієнт крові, і жінка до періоду менопаузи мають розглядатися як Rh_o(D)-негативні, а результат аналізу повинен мати таке формулювання: «Rh_o(D)-негативний (слабка експресія антигену D)».

Для точного встановлення слабкої експресії антигену D свіжовзятий зразок крові слід передати у відповідну лабораторію ЗСК або Інституту гематології і трансфузіології, — така лабораторія повинна мати відповідні реактиви для диференціації категорії D та антигену D слабкого.

Особи, у яких виявлено категорію D^{VI} антигену D або антиген D слабкий, зараховуються до Rh_o(D)-негативної групи, їм для переливання має підбиратися Rh_o(D)-негативна кров, а жінки мають бути залучені до профілактики RhD-конфлікту.

7.6.3.3. Дві популяції еритроцитів унаслідок недавньої трансфузії

У хворих, котрим перелили кров, яка відрізняється антигеном D (наприклад, Rh-позитивній особі — Rh-негативну кров), можна спостерегти 2 популяції (великі аглютинати на фоні вільних еритроцитів) після контакту аналізованих еритроцитів із реактивом анти-D. Тоді слід:

1) перевірити, яку кров і коли отримував хворий, а також більш ранні результати його аналізів;

2) встановити Rh після відокремлення еритроцитів хворого від перелитих (метод наведено у п. 7.5.8) або повторити аналіз через 3 місяці з моменту останнього переливання.

7.6.4. Визначення антигенів еритроцитів різних групових систем та їх документування

Аналізи фенотипів за окремими груповими системами роблять для всіх багаторазових донорів групи 0, а в міру можливості, і для інших груп крові. Такі аналізи мають на меті:

1. Відокремлення донорів, гомозиготних за окремими груповими системами, та резервування взятих у них одиниць крові для хворих — багаторазових реципієнтів, у яких уже утворилися імунні алоантитіла;
2. Створення наборів стандартних еритроцитів для діагностичних аналізів — для цього слід брати людей, у яких антигенний склад еритроцитів дозволяє ідентифікувати антитіла. До них належать:
   - еритроцити гомозигот за 2-ма або кількома груповими системами: DCCee, DccEE, dccee, MM, SS, ss, Fy(a-b+), Fy(a+b-), Jk(a-b+), Jk(a+b-);
   - еритроцити, які не містять поширених антигенів, наприклад: KK, Kp(a+b-), Lan-, Ge-, Rhnull, Bombay, Vel-, Yt(a-), Yk(a-), LW(a-), Co(a-);
   - еритроцити, що містять антигени низької або дуже низької частоти виявлення, наприклад: C^w, Kp^a, Lu^a, Wr^a, Di^a, Jn^a, KREP.

Фенотипічні аналізи роблять також для хворих у випадках:

1. Наявності імунних алоантитіл. Тоді визначають фенотип за тією груповою системою, до якої належать виявлені алоантитіла, а також фенотип Rh і антиген K;
2. Аутоімунні гемолітичної анемії теплового типу. Визначають фенотип Rh і антиген K;
3. Аналізів, пов'язаних із пересадкою стовбурових клітин кровотворної системи (визначення фенотипу в донора та реципієнта).

Аналізи фенотипів еритроцитів у донорів слід робити двічі, користуючись двома зразками крові, взятими в різний час. Отримання ідентичних результатів із двох різних зразків дозволяє вносити цей результат у картотеку донора. Фенотипи еритроцитів у хворих можна визначати за одним зразком крові.

На сьогодні для фенотипічних аналізів застосовують моноклональні реактиви фірмового виробництва. Однак визначення деяких антигенів вимагає застосування реактивів людського походження. Методика аналізів має узгоджуватися з рекомендаціями виробника. Реактиви, перевірені лабораторією контролю якості, передаються у лабораторії, які проводять відповідні аналізи; супроводжувати реактиви має україномовна версія методики аналізу.

7.6.4.1. Визначення фенотипу Rh

Аналізи фенотипу системи Rh виконують переважно пробірковим методом у середовищі NaCl за допомогою моноклональних реактивів: анти-D, анти-C, анти-c, анти-E, анти-e, а в міру можливості — й анти-C^w. Кожна серія аналізів вимагає паралельного проведення — для кожного реактиву — позитивного контролю з еритроцитами, що мають одиничну дозу антигену, та негативного контролю з еритроцитами без даного антигену. Фенотип Rh можна визначати також колонковим методом і за допомогою автоматів.

УВАГА!

А. Хоча тепер відомо, що ген d не існує, — цей символ і досі не вилучений з ужитку і позначає відсутність гена та антигену D (наприклад, dccee). Нема потреби писати цей символ двічі.

Б. Встановлення фенотипу Rh не завжди дозволяє робити певні висновки стосовно генотипу, оскільки це вже вимагає сімейних або генетичних аналізів. Спираючись на знання про частоту появи окремих комбінацій антигенів, на підставі фенотипу можна лише припускати найімовірніший генотип (табл. 7.5).

Таблиця 7.5

Поширеність фенотипів Rh-позитивних людей та їхні найімовірніші генотипи

Фенотип Rh	Найімовірніший генотип	Фенотип Rh	Найімовірніший генотип
DCcee	DCe/ce	DccEE	DcE/Dce
DCCee	DCe/DCe	Dccee	Dce/ce
DCcEe	DCe/DcE	DCCEe	DCE/DCe
DccEe	DcE/ce	DCcEE	DCE/DcE

7.6.4.2. Визначення фенотипів в інших групових системах

Так само, як в аналізах антигенів Rh, для визначення більшості антигенів інших групових систем найчастіше застосовують моноклональні реактиви. Найбільш рекомендованим є пробірковий метод, який дозволяє дуже швидко одержати розбірливі та однозначні результати. З огляду на те, що застосовується середовище NaCl, такі аналізи можуть виконуватися також на еритроцитах, навантажених аутоантитілами теплового типу (хворі з АІГА).

Для визначення деяких антигенів, наприклад, антигенів системи Duffy, необхідним є застосування антиглобулінового тесту.

Усі результати фенотипічних аналізів, виконуваних класичними методами (вручну), слід документувати за нижченаведеним зразком.

Для позитивного контролю використовують еритроцити з одиничною дозою даного антигену.

Приклад документування аналізів фенотипів еритроцитів:

Дата	Прізвище, ім'я		Діагностичні реактиви анти-:							
			-D	-C	-C^w	-c	-E	-e	-K	-k
		Контроль +	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
		Контроль –	0	0	0	0	0	0	0	0
		Зразок (проба) №: …	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+

7.6.4.3. Популяція донорів із визначеними антигенами еритроцитів для потреб гемотерапії

Заклад служби крові повинен мати в розпорядженні еритроцитовмісні компоненти спеціально відібраних донорів, гомозиготних за різними груповими системами, оскільки така кров необхідна хворим, імунізованим антигенами еритроцитів. Ця кров походить головним чином від донорів групи 0, оскільки їх еритроцити можна переливати також реципієнтам інших груп крові.

У післятрансфузійній імунізації найбільше клінічне значення, окрім антигену D, має антиген K із системи Kell, а для D-позитивних реципієнтів — антигени E та C із системи Rh. Рідше за імунізацію відповідають такі антигени: Jk^a із системи Kidd; S, s із системи MNS; Fy^a із системи Duffy; e із системи Rh. Отже, необхідно мати в наявності кров донорів групи 0, а також інших груп системи AB0 із такими фенотипами:

1) за системою Rh: DCCee, DccEE, dccee;
2) за системою Kell: K-;
3) за системою Kidd: Jk(a-b+), Jk(a+b-);
4) за системою Duffy: Fy(a-b+), Fy(a+b-);
5) за системою MNS: SS, ss, NN.

Слід брати до уваги, що імунізація може мати поліспецифічний характер, наприклад, реципієнт утворює антитіла анти-c і анти-Jk^a, або ж анти-e, анти-K і анти-S; з огляду на це важливо мати в розпорядженні еритроцитовмісні компоненти донорів із відповідними фенотипами за кількома груповими системами одночасно, наприклад:

– DCCee K- Jk(a-b+) SS;
– DccEE K- Fy(a-b+) ss.

Реципієнти, у яких утворилися будь-які імунні алоантитіла до антигенів еритроцитів, потребують крові, яка не містить відповідного антигену і при цьому є фенотипічно сумісна за системами Rh та Kell. Такий вибір диктується відомим спостереженням: реципієнт, здатний до імунної відповіді на один антиген еритроцитів, неодноразово імунізується й іншими антигенами, найчастіше тими, які є найбільш імуногенними.

Еритроцитовмісні компоненти донорів, еритроцити яких не містять високочастотних і дуже високочастотних (понад 95%) антигенів, мають зберігатися в замороженому стані — вони виконують функцію наявного запасу для тих хворих, у яких наявні антитіла до поширеного антигену. Приклади таких фенотипів: Bombay (O_h), dccEE, Rh_{null}, KK, Kp(b-), p, Lu(b-), Lan-, Co(a-), Ge-2, -3.

Серед антитіл, що виявляють себе переважно як природні, іноді спостерігається активність також і при температурі 37 °C. До таких належать анти-Le^a, анти-M, а винятково рідко — анти-P_1 і анти-A_1. Для таких реципієнтів має бути доступна кров із фенотипами Le(a-b-), P_2 та NN. Перш ніж підбирати кров для реципієнта з антитілами анти-A_1, активними при температурі 37 °C, треба визначити кров A_2 за допомогою лектину анти-A_1.

Дані про донорів із рідкісними фенотипами еритроцитів мають бути внесені до національного реєстру.

7.6.5. Виявлення імунних антитіл

7.6.5.1. Виявлення антитіл у реципієнтів крові, вагітних жінок, а також у донорів та реципієнтів кровотворних стовбурових клітин

Для аналізів застосовують набір еритроцитів, який дозволяє виявляти антитіла системи Rh, антитіла анти-K, а також інші антитіла, спрямовані до антигенів сільної імуногенності. У цьому наборі мають бути еритроцити, які містять антигени в подвійній дозі, що робить можливим виявлення слабкореагуючих антитіл (табл. 7.6). Аналіз виконують за допомогою двох тестів: це НАГТ, який виявляє імунні антитіла з усіх групових систем, та LEN, який має найбільшу чутливість у виявленні антитіл системи Rh. Найпростіший набір має складатися з двох різновидів Rh_o(D)-позитивних еритроцитів, містити антиген C^w (наприклад, DC^wCee), антиген E у подвійній дозі (DccEE); також до цього набору мають входити еритроцити, які є RhD-негативними і при цьому K-позитивними. Стандартні еритроцити слід добирати так, щоб у них були такі фенотипи: Fy(a+b-), Fy(a-b+), Jk(a+b-), Jk(a-b+), MMss, NNSS, Le(a+b-), Le(a-b+), P_1. Якщо в одному або в обох тестах виявлено антитіла — треба визначити їхню специфічність.

УВАГА! *При автоматичному аналізі ензимний тест можна не проводити.*

Таблиця 7.6

Приклад набору стандартних еритроцитів для виявлення іррегулярних алоантитіл

Rh	Rh						Kell		MNSs				P	Lewis		Duffy		Kidd	
	D	C	c	E	e	Cw	K	k	M	N	S	s	P1	Lea	Leb	Fya	Fyb	Jka	Jkb
DCCwee	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0
DccEE	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+
ddccee	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+

7.6.5.2. Виявлення антитіл у донорів крові

Невиявлення слабкоактивних антитіл у донорів не має суттєвого значення, оскільки не загрожує безпеці реципієнта. Тому можна застосовувати один різновид еритроцитів, який міститиме всі важливі з клінічного боку антигени в одиничній дозі. Для визначення імунних алоантитіл у донорів застосовують виключно непрямий антиглобуліновий тест.

7.6.6. Визначення специфічності антитіл

У таблиці 7.7 наведено приклад набору еритроцитів для ідентифікації найпоширеніших імунних антитіл.

Фенотипи з окремих групових систем необов'язково мусять між собою співвідноситися. Неодмінно треба мати в розпорядженні еритроцити, які є Rh-негативними (dccee) і при цьому K-позитивними, а також ті, що є Rh-негативними і при цьому K-негативними.

Визначаючи специфічність алоантитіл, слід до набору стандартних еритроцитів групи 0 включити аутологічні еритроцити, а також однойменні за системою AB0. Аутологічні еритроцити використовують для контролю аутоантитіл, а однойменні еритроцити полегшують діагностику тих еритроцитів, що спрямовані одночасно до комплексу двох антигенів, серед яких і антиген H. Таким прикладом є алоантитіла анти-Le^bH, що реагують лише з тими еритроцитами, які містять антигени Le^b та H.

Встановлення специфічності алоантитіл має базуватися на позитивних результатах зі щонайменше двома різновидами стандартних еритроцитів, які містять даний(і) антиген(и), та зі щонайменше двома різновидами стандартних еритроцитів, які не містять даного(их) антигену(ів). Від цього принципу можна відступити лише в тому разі, якщо будуть виявлені антитіла до антигену або дуже поширеного, або дуже рідкісного в популяції.

Якщо аналізи свідчать про наявність у сироватці антитіл із кількома специфічностями, то заради їх ідентифікації часто треба застосувати адсорбцію (підібраними еритроцитами), а також дослідити отримані з них елюати. Кожну встановлену специфічність алоантитіл слід підтвердити, довівши, що даний антиген відсутній на еритроцитах людини, в якої взято аналіз.

Таблиця 7.7

Приклад набору стандартних еритроцитів для ідентифікації алоантитіл

Rh	Rh						Kell		MNS				P	Lewis		Duffy		Kidd	
	D	C	c	E	e	C^w	K	k	M	N	S	s	P_1	Le^a	Le^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b
DCCee	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+
DCCwee	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0
DccEE	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+
DccEE	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+
Dccee	+	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0
DCcEe	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0
dCcee	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+
dccEe	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+
dccee	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+
dccee	0	0	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0
dccee	0	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+

7.6.7. Порядок дій з кров'ю донорів, у яких виявлено імунні антитіла

Присутність імунних антитіл є достатньою підставою для дискваліфікації консервованої крові та всіх її компонентів для переливань новонародженим, незалежно від рівня показника антитіл.

Людям з інших вікових груп можна переливати консервовану кров і всі її компоненти лише в тому разі, якщо показник імунних антитіл є меншим від 10. Виняток — еритроцитовмісні компоненти у додатковому розчині (наприклад, SAGM, ADSOL). Цей компонент можна переливати, якщо показник імунних антитіл є меншим від 50.

УВАГА! *Рішення про кваліфікацію крові та її компонентів до переливання слід ухвалювати після здійснення аналізу на показник імунних антитіл у кожній донації.*

7.6.7.1. Кваліфікування плазми з антитілами на виробництво препаратів крові

Для виробництва препаратів крові можна кваліфікувати плазму з імунними антитілами, показник яких не перевищує 4. Від цього принципу можна відійти, якщо фракціонатор має інші вимоги.

Плазму з імунними антитілами можна використовувати для виготовлення зразків для контролю якості в імуногематологічних лабораторіях медичних закладів, а також для навчальних цілей у ЗСК.

Чоловіки-донори, у яких виявлено антитіла анти-D, мають бути залучені до проведення подальшої запланованої імунізації — з метою отримання показника антитіл, потрібного для продукування імуноглобуліну анти-Rh_o(D).

7.7. Проба серологічної сумісності між реципієнтом та донором перед переливанням крові

Для безпечної та ефективної трансфузії працівники лабораторії мають дотримуватися таких умов:

– постійно звертати увагу на те, щоб застосовувалися лише перевірені реактиви й діагностичні сироватки, і на те, щоб обов'язкові аналізи робилися правильно;

– уникати помилок, викликаних людським фактором;

– бути ознайомленими із імуногематологічним минулим хворого (переливання крові, вагітності, відомості про антитіла, що були виявлені в минулому). Дані про це містяться в таких документах, як: записи в особовій документації, медичні картки з закладів охорони здоров'я, документація у журналі медичних послуг, результати аналізів, що є на руках у пацієнта.

7.7.1. Основні імуногематологічні принципи гемотерапії

1. Переливають компоненти крові, сумісні за антигенами системи АВ0 та антигеном D із системи Rh.
2. Компоненти крові, що переливається, не повинні містити антигени, які вступають в реакцію з антитілами реципієнта, а також антигену, який спричинив виявлену алоімунізації в минулому.
3. Для уникнення подальшої імунізації для хворих, у яких колись вироблялися імунні алоантитіла, а також для хворих, у яких спостерігаються аутоантитіла, активні при температурі 37 °С, слід підбирати компоненти крові, фенотипічно сумісні за системою Rh і сумісні за антигеном K із системи Kell.
4. Для жінок до періоду менопаузи слід, у міру можливості, визначати антиген K, і якщо він відсутній — підбирати для них K-негативну кров.
5. Пробу сумісності слід робити також у тих випадках, коли рекомендовано переливати тромбоцити і концентрат гранулоцитів із залишками еритроцитів (> 5 мл), про що свідчить червоне забарвлення цих компонентів.

7.7.2. Відхилення від принципів

7.7.2.1. Вибір еритроцитовмісних компонентів групи 0 для переливання пацієнтам з іншою групою

Брати еритроцитовмісні компоненти групи 0 для переливання пацієнтам з іншою групою допустимо за таких обставин:

– загроза для життя хворого і при цьому — відсутність компонентів однойменної групи крові;
– присутність імунних алоантитіл і при цьому — відсутність сумісної однойменної крові;
– дуже слабка експресія антигенів А чи В або труднощі у визначенні групи АВ0;
– відсутність Rh-негативної крові, однойменної за системою АВ0.

7.7.2.2. Вибір еритроцитовмісних компонентів групи А або В для переливання пацієнтам із групою АВ

Брати еритроцитовмісні компоненти групи А або В для переливання пацієнтам із групою АВ допустимо, коли відсутня однойменна кров.

7.7.2.3. Вибір крові для масивних переливань

Переливання вважається масивним, якщо об'єм крові, перелитої впродовж 24 год., дорівнює об'ємові циркулюючої крові у хворого. Підбираючи кров, слід перевірити сумісність між реципієнтом та донорами у системі АВ0; проби сумісності не роблять.

7.7.3. Проба сумісності

Власне пробу сумісності (це реакція сироватки реципієнта з еритроцитами донора) слід доповнювати такими аналізами:

1. Скринінг антитіл у сироватці реципієнта у тестах LEN та НАГТ — на предмет імунних алоантитіл.
2. Контроль антигенів А і В у донора та реципієнта за допомогою моноклональних реактивів анти-А і анти-В.
3. Контроль антигену D у реципієнта за допомогою моноклонального реактиву анти-D, який не виявляє антигену D категорії VI; а якщо реципієнт RhD-негативний — також контроль антигену D у донора за допомогою антигену D, який виявляє антиген D категорії VI.

УВАГА! *Перелічені вище аналізи можна виконувати одночасно з пробою сумісності.*

7.7.3.1. Кров реципієнта

Пробу сумісності та всі супровідні аналізи виконують на зразку крові хворого, взятого окремо спеціально для цієї мети. Не слід робити пробу з того самого зразка, що використовували для визначення групи крові хворого. Від цього принципу можна відійти лише у виняткових обставинах. Узятий у лікарні зразок крові реципієнта має бути переданий у лабораторію разом із направленням на пробу сумісності (Зразок №7.6). Звіривши дані на етикетці пробірки з даними на направленні, зразок крові слід позначити реєстраційним номером та внести у Журнал проб сумісності (Зразок №7.7). Друга графа призначена для порядкових номерів реципієнтів. Якщо ми аналізуємо кілька контейнерів із кров'ю — у другу графу лише один раз треба внести номер реципієнта, який слід зазначити на пробірці з його кров'ю. Не слід позначати окремих донацій додатковими номерами.

Зразок №7.6

Лікарня Дата _____

Відділення

(печатка)

До лабораторії трансфузійної серології

у _____

НАПРАВЛЕННЯ
на пробу сумісності крові

Пацієнт:

Прізвище та ім'я _____

Дата народження або ідентифікаційний код _____

Діагноз_____

Група крові _____

Імунні антитіла _____

Реципієнт: першоразовий, багаторазовий; вагітності (потрібне підкреслити)

Дата останнього переливання _____

Підпис та печатка лікаря-куратора _____

Дата і година взяття зразка крові _____

Розбірливий підпис особи, яка взяла кров _____

Компоненти крові, що видаються банком крові

Група крові / Номери контейнерів _____

Підпис працівника банку крові _____

Зразок №7.7

ЖУРНАЛ
проб сумісності

Сторона 1

Дата	Порядковий номер реципієнта	Керівне відділення	Прізвище та ім'я реципієнта, ідентифікаційний код або дата народження	Група крові АВ0 та Rh (за направленням)		Номер донації	Контроль антигенів АВ0 та D					
							реципієнти			донори		
				реципієнт	донор		-A	-B	-D	-A	-B	-D

Сторона 2

Контроль антигенів у донора	Оглядовий аналіз антитіл									Сироватка реципієнта + еритроцити донора		Аутоконтроль (якщо є потреба)	Результат	Примітки	Підпис
	Ензимний тест			НАГТ			Контр. НАГТ мінус			НАГТ	Контр. НАГТ мінус				
	Зразкові еритроцити														
	I	II	III	I	II	III	I	II	III						

7.7.3.2. Кров донора

Для проби сумісності використовують зразок крові із сегмента з'єднувальної трубки, відокремленого від контейнера з консервованою кров'ю цільною або з еритроцитовмісним компонентом.

Перш ніж відокремити сегмент з'єднувальної трубки, слід перевірити, чи номер донації та група крові на етикетці сегмента відповідають даним, зазначеним на етикетці контейнера; також слід внести у журнал проб сумісності дані стосовно донора (група крові, номер донації).

У випадках, коли для хворих готують відмиті еритроцитовмісні компоненти, а також інші клітинні компоненти, з домішкою еритроцитів (> 5 мл; про залишок еритроцитів свідчить червоне забарвлення компонента) — пробу сумісності слід виконати перед приготуванням цих компонентів.

Зразки крові донорів слід відцентрифугувати і відмовитись від тих, в яких наявний сильний гемоліз або бактеріальний процес (червоне забарвлення плазми, фіолетове забарвлення еритроцитів). Якщо гемоліз вдається усунути після одного відмивання — зразок може бути придатним для проби сумісності.

Якщо під час скринінгу антитіл в реципієнта не виявлено імунних антитіл, якщо відсутні відомості про імунізацію в минулому, а також якщо в реципієнта не спостерігається аутоантитіл теплового типу — для переливання беруть кров так званого випадкового донора, сумісного з реципієнтом за системою АВ0 та за антигеном D.

Кров спеціально відібраного донора призначена:

1. Для реципієнтів, у яких виявлено (тепер чи в минулому) імунні алоантитіла. У цих випадках підбирати слід кров без антигену, що відповідає цим антитілам; при цьому кров має бути фенотипічно сумісна за системою Rh та антигеном K. Робити контроль антигенів у крові, яка підбирається, не обов'язково, якщо в комп'ютерній системі ЗСК є протоколи визначень цих антигенів і при цьому такі визначення вже щонайменше двічі робилися для цього донора. Якщо в цей конкретний момент кров потрібного фенотипу недоступна — слід у зразках крові випадкових донорів визначити відповідні антигени й обрати для проби сумісності лише таку кров, яка їх не містить. Усі ці дії виконує ЗСК.
2. Реципієнтів, у яких виявлено аутоантитіла теплого типу (НАГТ-позитивний). Таким реципієнтам підбирають кров фенотипічно сумісну за системою Rh та антигеном K.
3. K-негативних реципієнтів-жінок до періоду менопаузи підбирають K-негативну кров.

7.7.3.3. Порядок дій, якщо результат аналізу групи крові реципієнта не відповідає даним, зазначеним у направленні

1. Повідомити відповідне відділення ЗОЗ і розпорядитися, щоб у цього хворого взяли зразок крові повторно.
2. Зробити на матеріалі цього зразка повний аналіз групи крові за системою АВ0 та аналіз антигену D.
3. З'ясувати, чому сталася помилка.

Якщо внаслідок помилки вже видано хибний результат, слід діяти так:

– скасувати запис хибного результату в усіх документах і внести замість нього правильний результат;

– розпорядитися, щоб відділення ЗОЗ ініціювало термінові контрольні аналізи груп крові для всіх пацієнтів, у яких того дня брали кров для визначення групи;

– порівняти отримані результати з попередніми результатами і скасувати в усіх документах хибні результати, замінивши їх на правильні.

7.7.3.4. Порядок дій, якщо результат аналізу групи крові зі зразка, взятого із сегмента дренажної трубки, не відповідає даним на етикетці контейнера

Як діяти в лікарні:

1. Не видавати таку кров та виготовлені з неї компоненти для переливання.
2. Повідомити про розбіжність банк крові, який, у свою чергу, зобов'язаний передати одиницю крові та результати аналізів в ЗСК, з якого надійшла ця кров.

Як діяти в ЗСК:

1. Провести повний аналіз групи крові зі зразка, взятого з контейнера, та зі зразка, взятого повторно в донора.
2. Проконтролювати правильність визначення груп крові в усіх дренажних сегментах, узятих у той день, а в разі виявлення розбіжностей — видалити таку кров і виготовлені з неї компоненти та провести контрольні аналізи крові донорів.

7.7.3.5. Виконання проби сумісності у пробірковому тесті

1. Приготувати заплановану кількість відповідно до позначених пробірок (№ реципієнта, № донації).
2. Відцентрифугувати зразок крові реципієнта й перенести сироватку/плазму в окрему пробірку.
3. Еритроцити донора з дренажного сегмента помістити у пробірку і промити розчином NaCl, а потім — розчином LISS, та виготовити 3–4% завись у цьому розчині.
4. Сироватку реципієнта аналізувати з еритроцитами донорів у тесті НАГТ LISS (згідно з методикою, описаною у п. 7.5.4.1.4.2).

УВАГА!

А. Замість проби сумісності можна проводити мікроколонкові тести або інші тести, затверджені ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України».

Б. Якщо аналіз на присутність імунних антитіл у сироватці реципієнта проводиться одночасно з виконанням власне проби сумісності, то аналізи, згадані у підпункті 4 (вище), треба доповнити аналізами сироватки реципієнта з набором стандартних еритроцитів.

В. Щоб максимально убезпечити реципієнта від ризику гемолітичного ускладнення, аналізи на імунні антитіла слід виконувати в день підбору крові. В екстрених випадках можна задовольнитися результатом аналізу, виконаного не раніше ніж 48 год. тому, якщо тільки за цей час не переливалася кров.

Г. Якщо у хворого виявлено аутоантитіла холодового типу, що вступають у реакцію при кімнатній температурі, то під час виконання проби сумісності слід точно додержувати температури 37 °С (еритроцити промивають розчином NaCl та LISS з температурою 37 °С).

7.7.3.6. Інтерпретація результатів проби сумісності

Результати встановлюють у макроскопічному режимі. Пробу слід визнати сумісною, якщо отримано негативний результат з еритроцитами донора, а зі стандартними еритроцитами не виявлено алоантитіл або виключено наявність додаткових алоантитіл, окрім тих, що вже були ідентифіковані.

Аглютинація і з донорськими, й зі стандартними еритроцитами, або тільки з одними із них, свідчить про наявність алоантитіл. Треба встановити їх специфічність і підібрати для хворого кров, яка не містить антигену, що відповідає цим антитілам. Якщо дефіцит часу не дозволяє швидко ідентифікувати антитіла, слід провести пробу сумісності з більшою кількістю зразків крові донорів. Перш ніж переливати підібрану (серологічно сумісну) кров, слід розпорядитися, щоб у хворого взяли 5–10 мл крові в суху пробірку — для визначення специфічності алоантитіл.

Виявлення в сироватці реципієнта алоантитіл, що реагують тільки зі стандартними еритроцитами, а з донорськими не реагують, ще не є достатньою підставою, щоб дати згоду на переливання; рішення про переливання можна ухвалити лише після ідентифікації антитіл і з'ясування, що еритроцити донора не містять того антигену, проти якого імунізований реципієнт.

Якщо сироватка реципієнта реагує з усім набором еритроцитів, узятих для виявлення алоантитіл, а також зі зразками еритроцитів, які підбираються, — слід доповнити аналізи аутоконтролем. Позитивний результат аутоконтролю свідчить про наявність аутоантитіл, і тоді слід провести для реципієнта ПАГТ. Якщо ПАГТ позитивний — слід віддати розпорядження про виконання діагностичних аналізів на предмет аутоімунної гемолітичної анемії і, підбираючи кров, дотримуватися принципів, обов'язкових для цієї групи хворих. Негативний результат аутоконтролю може вказувати на присутність поліспецифічних антитіл або антитіл до поширеного антигену. У деяких хворих причиною слабкопозитивних реакцій сироватки реципієнта з усіма еритроцитами може бути комплемент, адсорбований *in vitro*. Тоді пробу сумісності слід повторити за допомогою класичного НАГТ або застосувати антиглобуліновий реактив анти-IgG.

Якщо в реципієнта не виявлено імунних антитіл, а у пробі сумісності НАГТ дав позитивний результат із одним зі зразків донорської крові, — слід розглянути 2 можливості:

– наявність у реципієнта алоантитіл до рідкісного антигену, наявного у донора та відсутнього у наборі стандартних еритроцитів;
– позитивний ПАГТ у донора.

З'ясувати причину допоможе результат ПАГТ у донора. Частота виявлення позитивного ПАГТ — приблизно 1/10 000–1/14 000 здорових донорів. Кров донора з позитивним ПАГТ не може служити для переливання, оскільки перехресні проби завжди будуть несумісними. ПАГТ у такого донора слід контролювати раз на рік, оскільки цей показник може стати негативним. Донор може здавати плазму методом аферезу.

УВАГА!

А. Для реципієнтів, яким систематично проводять трансфузії компонентів крові (гемотерапію), а також для тих, яким переливали кров протягом останніх 3-х місяців, слід беззастережно дотримуватися рекомендованого терміну дії проби сумісності, який становить 48 год. з моменту взяття зразка крові у хворого. Ті самі принципи стосуються терміну дії скринінгу сироватки на присутність імунних антитіл. Якщо в цей період кров іще не перелили — необхідно повторити пробу сумісності, використовуючи для цього свіжовзятий зразок крові.

Б. Для реципієнтів, яким планується здійснити операційну процедуру в умовах гіпотермії, методика підбору крові не відрізняється; зокрема не слід шукати у них антитіл, активних при температурі, нижчій від 37 °С. Адже немає жодних доказів того, що вони руйнують перелиті кров'яні тільця.

В. Поява позитивної реакції, що свідчить про наявність алоантитіл, у пробі сумісності вагітної жінки або породіллі є достатнім приводом для проведення в матері — і, можливо, в дитини — аналізів на предмет серологічного конфлікту.

Після завершення проб сумісності зразки крові донорів та реципієнтів (цільну кров та відокремлену сироватку) слід помістити в безпечні умови та зберігати в холодильнику при температурі 2–6 °С, протягом 5 днів для того, щоб можна було виконати імуногематологічні аналізи у разі післятрансфузійних ускладнень.

7.7.3.7. Формулювання результатів проб сумісності

Результат проби сумісності пишуть на спеціальному бланку (Зразок №7.8). Коли бланк буде заповнено, здійснюється контроль відповідності інформації у бланку та результатів у журналі аналізів, з етикеткою на пробірці з кров'ю реципієнта, а також з етикетками на сегментах з'єднувальних трубок. Контроль здійснюють 2 особи. Результат проби сумісності має бути підписаний двома особами: особою, яка виконує аналіз, та особою, яка контролює та інтерпретує результати аналізу.

Визначення результату має бути сформульоване однозначно:

кров донора №…… сумісна;
кров донора №…… несумісна;
кров донора №…… серологічно несумісна (аутоантитіла), фенотипічно сумісна.

Кров можна переливати хворому.

У бланку до цього результату треба додати результат контрольного аналізу груп АВ0 та Rh хворого і донора, а також відомості про виявлення або невиявлення імунних антитіл.

УВАГА! *У позапланові години до аналізів допускається одна особа — лабораторний діагност, який має дійсне посвідчення, що надає право виконувати аналізи.*

Зразок №7.8

Лабораторія трансфузійної серології у _____ Дата _____

Відділення _____

РЕЗУЛЬТАТ
проби сумісності № _____

Прізвище та ім'я реципієнта _____

Дата народження або ідентифікаційний код _____

Контрольний аналіз групи крові _____

Імунні антитіла _____

Кров донора:

Група крові ……	№ донації ……	Результат …….
Група крові ……	№ донації ……	Результат …….
Група крові ……	№ донації ……	Результат …….
Група крові ……	№ донації ……	Результат …….

Проба сумісності дійсна до _____ (день) _____ (година)

Зауваження _____

_____

_____

Пробу виконав (розбірливий підпис) _____

Перевірив (підпис та печатка) _____

Підписи осіб,
що підтверджують ідентичність реципієнта перед під'єднанням контейнера з компонентом крові

_____

7.7.3.8. Вибір крові для термінової трансфузії в ургентних випадках

У випадках обґрунтованих показань до негайного переливання крові на письмове розпорядження лікаря-куратора або лікаря, відповідального за запаси крові у лікарні (Зразок №7.9), можна видати замовлену кров іще до виконання проби сумісності. Тоді слід діяти так:

1) зареєструвати зразки крові реципієнта і донорів у журналі проб сумісності;
2) за допомогою моноклональних реактивів визначити антигени АВ0 і D у реципієнта і донорів;
3) задокументувати результати аналізів у журналі проб сумісності;
4) видати результати аналізів разом із контейнерами з кров'ю;
5) не зволікаючи розпочати проведення проби сумісності.

УВАГА!

А. Не слід виконувати телефонних розпоряджень.

Б. Якщо результат проби сумісності вказує на несумісність — негайно повідомити лікаря.

У виняткових екстрених випадках лікар може ухвалити рішення про переливання еритроцитів групи 0 без аналізу групи крові реципієнта й без контрольного аналізу донорської крові. Таке рішення має бути зазначене на формулярі запиту крові для екстреної трансфузії. Якщо екстрену трансфузію планується робити жінці до періоду менопаузи, видавати слід еритроцити групи 0 RhD(–) (мінус). Після видачі контейнерів із кров'ю слід терміново розпочати проведення вищеназваних аналізів.

Зразок №7.9

Заклад охорони здоров'я
Відділення
(печатка)

Дата _____

До лабораторії
трансфузійної серології
у _____

ЗАПИТ КРОВІ
для екстреної трансфузії

Прошу видати кров для екстреної трансфузії до виконання проби сумісності
для пацієнта _____
дата народження або ідентифікаційний код _____
група крові пацієнта _____
імунні антитіла _____

_____ _____
Розбірливий підпис особи, яка бере кров — Печатка і розбірливий підпис лікаря

7.7.4. Аналізи, що робляться перед переливанням крові новонародженим та немовлятам до 4-х місяців

Перш ніж переливати кров дитині у перші 4 місяці життя, слід:

1. Визначити групу крові за системою АВ0 і антиген D системи Rh у матері та дитини.
2. Виконати аналізи на наявність імунних алоантитіл у сироватці матері.
3. Для дитини провести ПАГТ.

Якщо у сироватці матері не виявлено імунних алоантитіл, а в дитини ПАГТ дає негативний результат, то для переливання слід видати кров, сумісну з еритроцитами дитини за системою АВ0 і антигеном D, без проби сумісності — за умови, що у крові, призначеній на переливання, перевірено групу АВ0 і антиген D. Результати цих аналізів слід задокументувати у Журналі проб сумісності.

Цих принципів слід додержуватися навіть при багаторазових трансфузіях (Зразок №7.10).

Якщо у матері виявлено імунні антитіла, то для дитини слід підібрати кров без антигену, що відповідає цим антитілам; крім того, перед кожним переливанням треба робити пробу сумісності із сироваткою матері. У таких випадках слід узяти в матері близько 10 мл крові, а виділену сироватку поділити на малі порції та зберігати їх у замороженому стані. Їх використовують у наступних дослідженнях проб сумісності.

Якщо кров матері не є наявною, слід перевірити сироватку дитини на наявність імунних антитіл і виконати пробу сумісності перед першою трансфузією. Якщо обидва аналізи дали негативні результати, перед наступними трансфузіями проб сумісності можна не робити. Однак, якщо у сироватці дитини виявлено імунні антитіла, необхідно визначити їх специфічність і проводити пробу сумісності перед кожною трансфузією.

Зразок №7.10

ЯК ДІЯТИ ПЕРЕД ПЕРЕЛИВАННЯМ КРОВІ НОВОНАРОДЖЕНИМ ТА НЕМОВЛЯТАМ ДО 4-Х МІСЯЦІВ

Кров матері наявна

Аналізи	Мати	Дитина
	Група АВ0, Rh	Група АВ0, Rh
	Імунні антитіла	ПАГТ

Негативні результати аналізу на імунні антитіла
МОЖНА ПЕРЕЛИВАТИ БЕЗ ПРОБИ СУМІСНОСТІ

Позитивні результати аналізу на імунні антитіла
ПЕРЕД КОЖНОЮ ТРАНСФУЗІЄЮ РОБИТИ АНАЛІЗ ІЗ СИРОВАТКОЮ МАТЕРІ

- - - -

7.7.5. Аналізи, що робляться перед аутотрансфузією

Перш ніж брати кров для аутотрансфузії, для хворих слід виконати:

– обстеження на маркери вірусів HBsAg (гепатит В), анти-HCV (гепатит С) і анти-ВІЛ 1,2, а також аналіз на сифіліс;

– визначення групи крові за системою АВ0 і антигену D системи Rh; ці дослідження мають проводитися тими ж методами, що застосовувалися й для донорів крові;

– аналіз на наявність імунних антитіл, спрямованих до еритроцитів.

Перед аутотрансфузією слід провести:

– контрольний аналіз групи АВ0 зі зразка крові, взятого з сегмента з'єднувальної трубки, і порівняти результат із результатом аналізу групи крові хворого;

– пробу сумісності.

УВАГА!

А. Позитивний результат будь-якого з тестів на інфекцію, яка переноситься через кров, автоматично являє собою протипоказання до взяття цієї крові для аутотрансфузії.

Б. Виявлення імунних алоантитіл не являє собою протипоказання до взяття крові для аутотрансфузії.

В. Невикористану кров та її компоненти слід утилізувати. Не можна переливати її іншому хворому. Виняток — концентрати еритроцитів, що не містять якогось із поширених антигенів; такі еритроцити слід зберігати в замороженому стані.

7.8. Імунологічний аналіз гемолітичних післятрансфузійних реакцій

Метою аналізів є встановлення причини післятрансфузійної реакції, а також визначення, яку кров можна переливати хворому.

7.8.1. Рання реакція

Ранньою реакцією вважаються симптоми, що виявляються у хворого під час трансфузії або у 24 год. після неї.

Для аналізу післятрансфузійної реакції дуже важливе значення має зразок крові хворого, узятий перед переливанням.

Вказівки щодо того, як діяти у разі виявлення післятрансфузійної реакції, містяться наказі МОЗ України від 12.03.2011 р. №1112 «Про затвердження положення для установи переливання крові щодо організації управління системою якості і безпеки донорської крові та її компонентів».

Раннє виявлення серологічної причини післятрансфузійної реакції надає можливість швидкого медичного втручання і дозволяє уникнути найтяжчих ускладнень, спричинених передусім несумісністю за системою АВ0 та за антигеном D із системи Rh. Часто клінічні симптоми є неоднозначними; причину ускладнення треба відрізняти від бактеріального зараження. Тоді, перш ніж розпочинати серологічні аналізи донорської крові з контейнерів, слід перевірити, чи були з цих контейнерів узяті зразки для бактеріологічних аналізів.

Аналізи крові реципієнта і донора роблять за загальноприйнятою схемою:

1) перевірити групу за системою АВ0 та Rh у зразках крові реципієнта, взятих до і після переливання, а також крові донорів, у контейнерах та сегментах з'єднувальних трубок, які залишилися в лабораторії після виконання проби сумісності;

2) повторити пробу сумісності;

3) провести ПАГТ з еритроцитами реципієнта, які походять із крові, взятої після переливання. Отримання позитивного результату зобов'язує до виготовлення елюату та дослідження специфічності виявлених у ньому антитіл;

4) здійснити пошук імунних антитіл в усіх доступних зразках сироватки реципієнта, застосовуючи при цьому додаткові чутливі методики (наприклад, колонковий мікротест або інший тест, випробуваний та затверджений ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України»). Під час

аналізів слід використовувати, окрім перелитих еритроцитів, також стандартні еритроцити, що містять антигени в подвійній дозі.

Результат аналізу слід надавати у 2-х примірниках: один для лікарні, другий для хворого. Рекомендується також виконати контрольний аналіз антитіл приблизно через 3 місяці.

УВАГА!

А. Якщо в сироватці реципієнта не виявлено імунних антитіл, слід повторити їх пошук, почекавши кілька днів після переливання.

Б. Якщо отримано негативні результати, які свідчать проти серологічної несумісності у сфері еритроцитів, доцільно провести контрольний аналіз сироватки реципієнта на наявність антитіл анти-HLA і антитіл, спрямованих проти антигенів, які виявляються тільки на тромбоцитах або на гранулоцитах.

7.8.2. Відстрочена реакція

У людей, сенсибілізованих попередніми переливаннями крові або вагітностями, може виявитися відстрочена гемолітична реакція. Зазвичай вона виявляється між 3-м та 21-м днем після трансфузії серологічно сумісної крові. Саме тому так важливо забезпечувати хворим тривалий клінічний нагляд після кожного переливання. Якщо виявляють себе симптоми гемолізу (безпідставне підвищення температури тіла, анемія, білірубінемія, пожовтіння шкірних покривів) слід якнайшвидше провести такі аналізи:

– прямий антиглобуліновий тест (отримання позитивного результату зобов'язує до визначення специфічності антитіл в елюаті);
– пошук і встановлення специфічності алоантитіл у сироватці.

УВАГА! *Якщо з моменту останнього переливання минуло понад 3 дні, рекомендується відокремити еритроцити хворого від перелитих і провести аналізи популяцій еритроцитів донора (п. 7.5.8).*

Вчасне виявлення відстроченої гемолітичної реакції та встановлення специфічності антитіл, які спричиняють цю реакцію, має велике значення для запобігання майбутнім тяжким післятрансфузійним ускладненням.

7.9. Імуногематологічні аналізи у діагностиці гемолітичної хвороби плода і новонародженого (ГХПН)

Імуногематологічні аналізи треба розпочинати у пренатальний період, щоб розпізнати вагітність із ризиком ГХПН і призначити внутрішньоматкову діагностику, яка дозволить почати лікування і позитивно завершити вагітність в оптимальний для дитини час. Необхідні аналізи зазначено у схемі, наведеній на рис. 7.2.

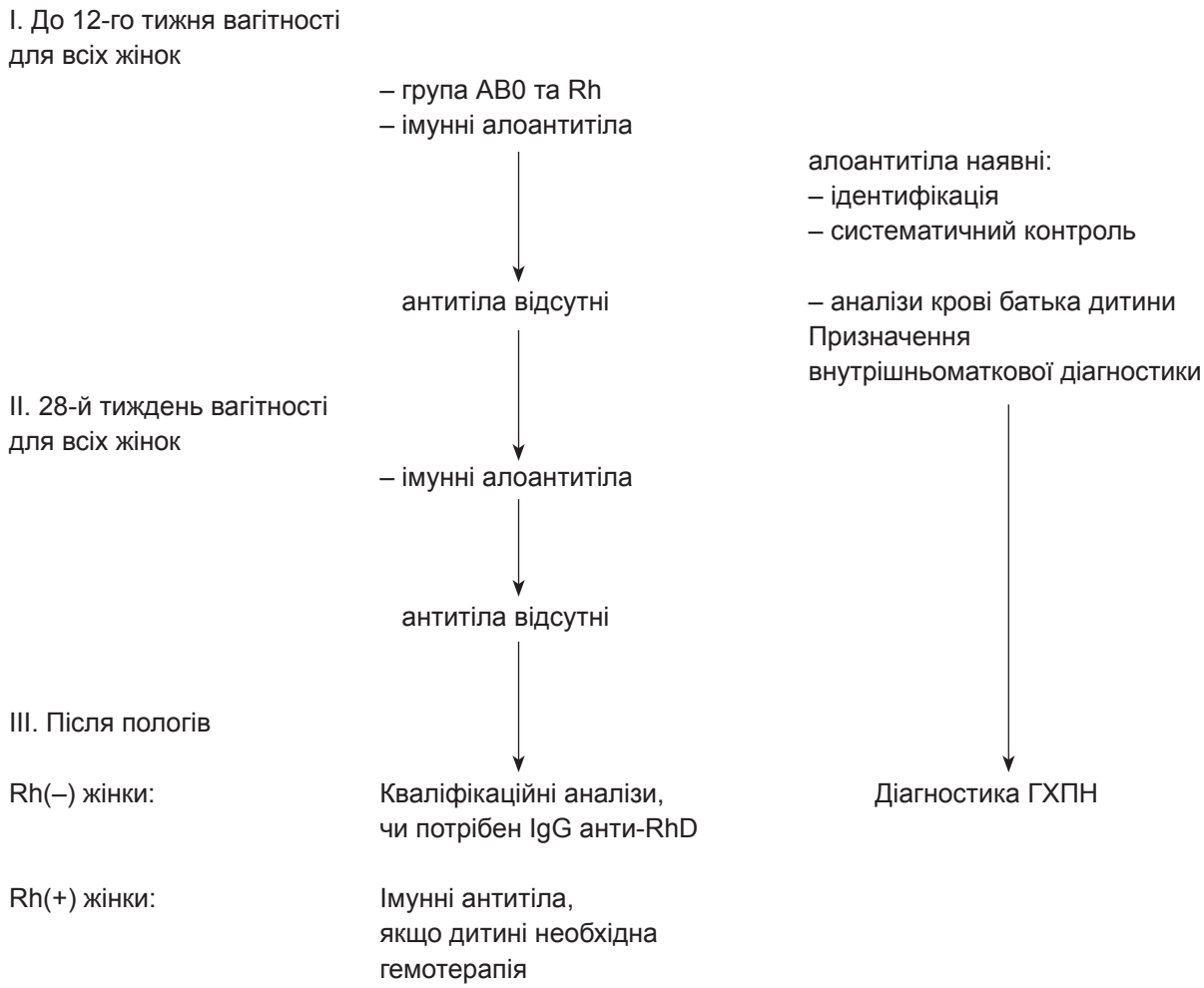


Рис. 7.2. Імуногематологічні аналізи у діагностиці гемолітичної хвороби плода і новонародженого (ГХПН)

7.9.1. Аналізи під час вагітності

Виконувати основні діагностичні аналізи зобов'язані певні (конкретно визначені) імунотрансфузіологічні лабораторії, до яких лікар-гінеколог має направляти жінок у період вагітності, як RhD-позитивних, так і RhD-негативних, двічі:

– до 12-го тижня вагітності;
– на 28-му тижні вагітності.

Метою цих аналізів є раннє виявлення імунних алоантитіл до антигенів еритроцитів. Жінки, у яких виявлено алоантитіла, мають бути терміново направлені (разом із чоловіком) до відповідної лабораторії ЗСК або ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України». Таке направлення має містити:

– результат аналізу групи крові АВ0 та Rh;
– відомості про виявлені антитіла — у такому вигляді: «у сироватці виявлено алоантитіла, що реагують з еритроцитами……. у тестах……. Потрібен контроль у лабораторії, яка здійснює діагностику серологічного конфлікту; адреса…….».

Обсяг обов'язкових аналізів включає:
- встановлення специфічності антитіл;
- показник антитіл;
- аналізи крові батька дитини.

Отримані результати дозволяють оцінити ризик виявлення ГХПН.

Під час вагітності не роблять аналізів імунних антитіл із системи АВ0, оскільки діагностичне значення результатів цих аналізів є дуже низьким. Материнські антитіла анти-А/анти-В не становлять загрози для дитини у період її життя як плода. Такі діти народжуються з добрим клінічним станом, без анемії або з легкою анемією (зрідка — з помірною). Діагностичні аналізи слід зробити, коли у новонародженого почнуть виявлятися клінічні симптоми гемолітичної хвороби.

7.9.1.1. Виявлення антитіл системи Rh та інших групових систем

1. Для виявлення антитіл рекомендуються 2 тести: НАГТ-LISS та LEN.
2. Для аналізів застосовують такий самий набір стандартних еритроцитів, як і при виявленні антитіл у реципієнтів крові (п. 7.6.5.1.).
3. Якщо результати аналізів груп крові АВ0 дозволяють — слід залучити до аналізів і еритроцити батька.

УВАГА!

А. Аналіз із еритроцитами батька необхідний у кожному з тих випадків, коли при попередній вагітності мали місце симптоми ГХПН або загибель плода з невизначених причин, а при цьому імунні антитіла у матері за допомогою стандартних еритроцитів не виявляються. Якщо антитіла анти-А або анти-В виявити неможливо, то їх належить абсорбувати відповідними еритроцитами випадкового донора (дві адсорбції при пропорції 1:1; одна — упродовж 60 хв. при кімнатній температурі, друга — тривалістю 30 хв. при температурі 37 °С).

Б. Виявлення в сироватці матері алоантитіл, які реагують виключно з еритроцитами батька дитини, підтверджує серологічний конфлікт у родині (зустрічається він досить рідко). У такій ситуації для встановлення специфічності алоантитіл потрібні ширші аналізи із застосуванням набору еритроцитів, що містять низькочастотні антигени.

7.9.1.2. Ідентифікація алоантитіл

Визначення специфічності антитіл, виявлених у сироватці матері, є необхідним для:
1. Оцінки клінічного значення антитіл у патогенезі ГХПН.
2. Проведення відповідних аналізів крові батька дитини, які нерідко дозволяють передбачити наявність або відсутність на еритроцитах плода того антигену, до якого організм матері виробляє антитіла.
3. Більш ранньої підготовки потрібної крові для переливання, як для матері, так і для дитини, — якщо таке лікування буде необхідним під час вагітності або після пологів.

Принципи ідентифікації антитіл наведено у п. 7.6.6.

Специфічність алоантитіл слід контролювати у ході вагітності, оскільки може виявитися додаткова імунізація матері іншими антигенами еритроцитів плода, а в разі внутрішньоматкових переливань — також антигенами донорів.

Для пошуку додаткових антитіл слід підготувати набір еритроцитів, які не містять антигену, що вже спричинив імунізацію матері. Рекомендується, щоб еритроцити походили від донорів, гомозиготних в окремих групових системах (особливо в системах Kidd та Duffy).

У вагітних жінок частіше виявляють «натуральні» антитіла (класу IgM), як-от анти-Lea, анти-H (-IH), анти-P_1, наявність яких не пов'язана з імунізацією антигенами еритроцитів і які не мають значення в імунопатології вагітності. Якщо вони утруднюють пошук імунних антитіл (IgG), то їхню активність слід усунути за допомогою 2ME.

7.9.1.3. Визначення титру антитіл

У разі виявлення алоантитіл IgG, які можуть бути причиною ГХПН, слід визначити їх титр у НАГТ-NaCl:
- у першому зразку, в якому їх виявлено;

– у зразках, що бралися з місячними інтервалами;

– починаючи з 24-го місяця вагітності, — у зразках, узятих навіть із двотижневими інтервалами, залежно від динаміки зростання рівня антитіл.

Решту сироватки з аналізованого зразка слід зберігати в замороженому стані до наступного аналізу. Подальші аналізи мають виконуватися паралельно: на сироватці зі свіжовзятого зразка та зі зразка з попереднього аналізу за допомогою гетерозиготних еритроцитів — того самого донора, що й у попередньому аналізі, або іншого з таким самим фенотипом. Такий спосіб дій дозволяє правильно оцінити зростання рівня антитіл у матері.

7.9.1.3.1. Інтерпретація результатів аналізів

Титр антитіл анти-D із системи Rh, що становить понад 16 в НАГТ, свідчить про їх високий рівень і являє собою разом із акушерським обстеженням та результатами ультрасонографії одне з показань для внутрішньоматкової діагностики.

Для антитіл іншої специфічності граничного значення титру не встановлено.

7.9.1.4. Аналізи крові батька дитини

1. Визначити групу крові за системою AB0 та Rh.
2. Якщо в матері виявлено тільки антитіла анти- Rh_o(D), а батько є Rh_o(D)-негативним, подальших аналізів робити не треба, оскільки дитина мусить бути теж Rh_o(D)-негативною.
3. Якщо батько є Rh_o(D)-позитивним, слід визначити його фенотип Rh за допомогою додаткових реактивів: анти-C, анти-c, анти-E та анти-e. Після встановлення ймовірного генотипу (табл. 7.5) — сформулювати результат у такому, наприклад, вигляді: «Rh+(DCCee). Імовірний генотип DCe/DCe». Сьогодні існує можливість визначення генотипу батька і гена D плода методами молекулярної біології. Ці аналізи здійснюються в закладах та установах, що мають відповідні акредитовані лабораторії.
4. Якщо в матері виявлено антитіла системи Rh, наприклад, анти-c, анти-C^w, анти-E, або антитіла з інших групових систем, наприклад, анти-K системи Kell, то слід за допомогою діагностичних реактивів з'ясувати, чи наявний на еритроцитах батька антиген, що відповідає їм, в одинарній або подвійній дозі. Це в багатьох випадках дозволить точно передбачити, присутній чи відсутній антиген, що відповідає за конфлікт, на еритроцитах плода.

УВАГА! *Аналізи, згадані вище у підпунктах 3 і 4, можна замінити/доповнити визначенням генотипу (п. 7.4.2).*

7.9.1.5. Серологічні аналізи еритроцитів плода

Якщо при вагітності є високий ризик ГХПН, то застосовують прокол судин пуповини (кордоцентез) для безпосередньої оцінки тяжкості гемолітичної хвороби плода. Нижче окреслено обсяг імуногематологічних аналізів.

1. Визначення групи крові за системою AB0 та антигену D із системи Rh. Якщо у плода група крові AB0 та Rh_o(D) виявиться ідентичною з матір'ю, необхідно повністю виключити можливість помилки у взятті аналізованого зразка (кров матері). Найпростіший метод — паралельний аналіз цих еритроцитів та еритроцитів матері за допомогою сироватки анти-I, яка не реагує з еритроцитами плода.
2. Залежно від специфічності антитіл, виявлених у сироватці матері, — визначення інших антигенів, відповідальних за її імунізацію.
3. Виконання ПАГТ.

УВАГА! *У плода ген D, а також гени C, c та E можна визначити неінвазивним методом (у плазмі матері), тоді як гени, відповідальні за успадкування плодом інших антигенів, аналізують у навколоплідній рідині або у ворсинках хоріона плаценти. Для виконання цих аналізів матеріал слід надіслати до закладу або установи, де є відповідне відділення або лабораторія. Молекулярні аналізи дозволяють значно зменшити потребу в кордоцентезі.*

7.9.2. Аналізи після пологів

7.9.2.1. Кров матері

Жінки, прийняті до акушерського відділення, повинні мати результати аналізів групи крові АВ0 та Rh, а також імунних антитіл. Якщо протягом вагітності такі аналізи не робилися — слід негайно їх виконати. Виявлення імунних алоантитіл у матері свідчить про можливість гемолітичної хвороби в дитини. У такому разі зразок крові матері слід передати в консультаційну лабораторію закладу служби крові:

- для підтвердження та ідентифікації антитіл;
- визначення їхньої ваги в імунопатології вагітності;
- підбору крові для можливого переливання матері або дитині.

УВАГА! *Якщо мати має в крові імунні антитіла — для новонародженої дитини слід негайно виконати аналізи на діагностику ГХПН.*

7.9.2.2. Кров новонародженого

1. Рекомендується брати зразок пуповинної крові в кожного новонародженого.
2. Зразок слід позначити прізвищем матері та приміткою «пуповинна кров» і зберігати в холодильнику упродовж 3–5 днів при температурі 2–6 °С до можливого використання, якщо виникне необхідність проведення імуногематологічних аналізів.

УВАГА!

А. Аналіз груп крові і ПАГТ слід робити для всіх новонароджених, матері яких є Rh_o(D)-негативними (визначення показань до застосування імуноглобуліну анти-D). Якщо матері під час вагітності вводили імуноглобулін анти-D, ПАГТ для новонародженого не роблять.

Б. Для решти новонароджених, матері яких RhD-позитивні й не імунізовані антигенами еритроцитів, серологічних аналізів крові не роблять.

7.9.2.3. Діагностика ГХПН

Діагностичні аналізи є обов'язковими для кожного випадку виявлення імунних антитіл у матері під час вагітності або в перинатальний період. На матеріалі зразка пуповинної крові слід зробити:

- визначення групи крові за системою АВ0 та Rh;
- визначення антигенів з інших групових систем, залежно від специфічності алоантитіл матері;
- ПАГТ;
- у деяких випадках, коли ПАГТ дитини дає позитивний результат, а у матері при скринінгу не виявлено антитіл або виявлено поліспецифічні антитіла, — рекомендовано виконати елюцію антитіл з еритроцитів новонародженого.

Для новонародженого визначення групи крові за системою АВ0 (див. п. 7.6.2) і антигену D із системи Rh проводиться виключно за допомогою моноклональних реактивів, пробірковим методом або іншим, що його перевірено та затверджено ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України». Якщо еритроцити новонародженого щільно вкриті антитілами IgG, застосування людських діагностичних сироваток для визначення антигенів в НАГТ може призвести до помилкової інтерпретації результатів. У таких випадках, якщо бракує відповідних моноклональних реактивів IgM (наприклад, анти-Fy^a, анти-s), треба перед виконанням аналізу усунути з еритроцитів антитіла, наприклад, за допомогою кислого гліцину та EDTA (п. 7.5.10.2).

Прямий антиглобуліновий тест слід виконати пробірковим методом або чутливішими колонковими методами. Позитивний результат ПАГТ підтверджує ГХПН і свідчить про те, що антитіла матері проходили крізь плаценту і руйнували еритроцити дитини.

У дітей із резус-конфліктом, які отримували внутрішньоматкову гемотерапію, визначення групи крові АВ0 та Rh, а також ПАГТ можуть давати псевдонегативний результат; причина — наявність у кровообігу новонародженого перелитих Rh_o(D)-негативних еритроцитів. Їх популяція переважає — часто їх кількість перевищує 99%. Щоб уникнути помилкових результатів, у направленні на серологічний аналіз крові та в інформаційній лікарняній картці слід робити примітку: «На стадії плода проходив лікування кров'ю RhD Rh_o(D) (нег.)».

УВАГА!

А. Діагностику на предмет ГХПН слід здійснювати також у кожному з випадків несподіваної появи в новонародженого клінічних симптомів гемолітичної хвороби (патологічна жовтуха, анемія). Несподівана ГХПН буває головним чином тоді, коли жінки у період вагітності не роблять аналізів на імунні антитіла. У такому разі слід провести аналізи крові як новонародженого, так і матері.

Б. Якщо аналізи з набором стандартних еритроцитів не виявляють антитіл у сироватці матері — причиною ГХПН можуть бути антитіла із системи АВ0 або антитіла до рідкісного антигену.

7.9.2.4. Діагностика ГХПН при АВ0-конфлікті

7.9.2.4.1. Пошук антитіл IgG анти-А/анти-В у сироватці матері

Після термічної інактивації натуральних антитіл IgM у сироватці матері слід провести пошук антитіл анти-А/анти-В. Роблять це так:

– розвести сироватку такою самою кількістю розчину NaCl;
– ретельно перемішавши, помістити на 20 хв. на «водяну баню» при температурі 70 °С;
– охолодивши до кімнатної температури, виконати НАГТ з еритроцитами дитини, а також з еритроцитами донора, який має спільну з дитиною групу крові АВ0.

Поява аглютинації з еритроцитами донора свідчить про наявність імунних антитіл у матері. Аглютинація еритроцитів дитини свідчить про те, що антиген АВ0 дозрів до імунних реакцій. Невиявлення антитіл IgG у матері безпосередньо після пологів іще не виключає можливості ГХПН, оскільки в перинатальний період їхня концентрація може падати аж до такого низького рівня, що звичайні, повсякденно застосовувані серологічні тести можуть їх і не виявляти. Початкова діагностика ГХПН має спиратися на клінічні симптоми і на точно встановлений незбіг груп крові АВ0 у матері та дитини. Зазвичай, якщо через 3–5 днів після пологів повторити аналізи, антитіла виявляться.

7.9.2.4.2. Аналізи в новонародженого

Для новонародженого обов'язково:

– визначити групу крові АВ0 та Rh_o(D);
– виконати ПАГТ;
– якщо збереглася пуповинна кров — виконати аналіз антитіл у сироватці (без інактивації) та в елюаті з еритроцитів.

УВАГА!

А. Результати аналізів пуповинної крові підтверджують клінічний діагноз ГХПН краще, ніж аналізи крові матері.

Б. Рекомендується метод елюції антитіл за Ландштейнером або описаний нижче метод Луї.

7.9.2.4.3. Елюція антитіл методом Луї

1. Шестиразово промити еритроцити розчином NaCl і залишити супернатант з останнього промивання (контроль елюату).
2. Щонайменше у 2 пробірки помістити по 0,5 мл промитих густих еритроцитів.
3. Додати по 3 краплі розчину NaCl і ретельно перемішати.
4. Пробірки закоркувати і обертати таким чином, щоб еритроцити вкрили їх внутрішню поверхню.
5. На 10 хв. помістити пробірки у горизонтальне положення при температурі від –20 до –70 °С.
6. Вийнявши пробірки, швидко розморозити еритроцити під струменем гарячої води і центрифугувати протягом 2 хв. із прискоренням 1000 × g.
7. Перенести супернатант (елюат) до чистої пробірки й аналізувати шляхом НАГТ, пробірковим методом (не колонковим), паралельно з контрольним супернатантом, з еритроцитами А або В.

7.9.2.5. Діагностика ГХПН у рідкісному серологічному конфлікті

Цей конфлікт стосується антитіл, спрямованих до низькочастотних чи дуже низькочастотних антигенів або ж до антигенів, які є поширеними.

7.9.2.5.1. Антитіла до антигенів з низькою частотою поширення

Приклади таких антитіл — це анти-C^w із системи Rh (частота анти-C^w — 2%), анти-Kp^a із системи Kell (1%) чи анти-Di^a із системи Diego (0,46%). Присутність цього типу антитіл можна виявити шляхом аналізів сироватки матері з еритроцитами дитини або її батька. У разі неспівпадіння за групою АВ0 треба в першу чергу усунути активність групових антитіл шляхом їх адсорбції за допомогою еритроцитів випадкового донора з відповідною групою крові. Можна також використати елюат з еритроцитів новонародженого — проаналізувати елюат з еритроцитами батька у таких тестах, як НАГТ -LISS та ензимний тест.

Якщо йдеться про антитіла до рідкісного антигену еритроцитів — проблем із пошуком сумісної крові для матері й дитини немає. Отже, ідентифікацію антитіл, відповідальних за ГХПН, можна проводити протягом кількох наступних днів і не затримувати з цього приводу процедур гемотерапії. Діагностика таких антитіл вимагає багато часу та застосування спеціального набору стандартних еритроцитів.

7.9.2.5.2. Антитіла до поширених антигенів

Приклади таких антитіл: анти-k та анти-Kp^b із системи Kell, анти-Di^b із системи Diego, анти-Co^a із системи Colton або анти-Lan. Частота вияву антигенів, до яких вони спрямовані, перевищує в популяції 99%. В імуногематологічних аналізах вони характеризуються активністю стосовно всіх еритроцитів — стандартних і випадкових, за винятком аутологічних. Якщо антитіла виявлено у класі IgG, то необхідно їх якнайшвидше ідентифікувати. Якщо у встановленні специфічності антитіл виникають труднощі — зразки крові вагітної, її кровних родичів та чоловіка слід передати до ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України». Такі антитіла треба виявляти у ранній період вагітності — з огляду на те, що ідентифікувати їх дуже складно і знайти сумісного донора крові може бути вкрай важко. Оскільки мати й дитина мають бути забезпечені сумісною кров'ю, у таких випадках можна міркувати про взяття крові у вагітної та зберігання цієї крові в замороженому стані. Якщо діагностику розпочато вже після пологів, необхідна як матері, так і дитині гемотерапія може виявитися неможливою.

7.9.3. Принципи вибору крові для трансфузії у плід та обмінної трансфузії

7.9.3.1. Вибір крові для трансфузії у плід

1. Підбирати слід кров групи 0, що не містить антигенів, до яких спрямовані антитіла, виявлені у матері.
2. З огляду на деякі випадки імунізації вагітної антигенами, присутніми у крові, використаній для трансфузії у плід, — слід у вагітної визначити антигени із систем Kell (K та k), Kidd (Jk^a та Jk^b), Duffy (Fy^a та Fy^b), MNS (S та s) і вибрати для переливання кров, сумісну за цими антигенами із кров'ю матері.
3. Якщо група крові АВ0 плода серологічно сумісна з групою крові матері (наприклад, мати і плід групи А, або мати групи АВ, а плід групи А), то можна підбирати еритроцити, однойменні за системою АВ0.
4. У ситуації конфлікту Rh_o(D) добирати слід Rh_o(D)-негативну кров, а в іншому дотримуватися принципів, наведених у підпунктах 1, 2 і 3 (вище).

7.9.3.2. Вибір крові для обмінної трансфузії

1. У ситуації конфлікту Rh_o(D) добирати слід Rh_o(D)-негативну кров.

Якщо між матір'ю та дитиною є серологічна сумісність за системою АВ0 (наприклад, мати і новонароджений групи А, або мати групи АВ, а новонароджений групи А), слід підбирати кров, сумісну з групою крові дитини.

У випадку новонароджених групи А або В, матері яких мають групу 0, для обмінної трансфузії готують кров цільну відновлену (КЦВ АВ0).

Якщо материнські антитіла системи АВ0 роблять неможливим виконання проби сумісності із сироваткою матері (наприклад, мати групи А, а дитина групи В, або мати групи В, а дитина групи АВ), то для обмінної трансфузії готують кров цільну відновлену (КЦВ АВ0).

2. У ситуації конфлікту в системі АВ0 підбирати слід кров цільну відновлену (КЦВ АВ0). Це концентрат еритроцитів донора групи 0 (його Rh має бути сумісним із кров'ю дитини), завішений у плазмі донора групи АВ або у плазмі, сумісній із групою АВ0 дитини.

3. Якщо серологічний конфлікт стосується інших антигенів (наприклад, анти-K, анти-E, анти-Fy^a), то кров для переливання не повинна містити антигену, який спричинив імунізацію матері.

4. У плазмі, призначеній для КЦВ АВ0, титр аглютинінів анти-А або анти-В не повинен перевищувати 16. Замість визначення титру аглютинінів можна зробити НАГТ у розведенні плазми 1:50; результат цього тесту має бути негативним.

УВАГА! *У період перших 4-х місяців життя дитини для наступних переливань використовують кров тієї самої групи АВ0 та Rh_o(D), що й для першої трансфузії.*

Деталі стосовно виготовлення препаратів крові для трансфузії у плід та для обмінної трансфузії наведено у пп. 6.3.1, 6.3.3 і 6.3.4.

7.9.3.3. Проба серологічної сумісності

Пробу серологічної сумісності виконують згідно з методикою, наведеною у п. 7.7; нижче подано додаткові принципи, яких треба дотримуватися.

1. У сироватку реципієнта слід застосовувати сироватку матері.
2. Якщо антитіла АВ0 матері не дозволяють підібрати кров, сумісну за групою з кров'ю дитини, слід підбирати еритроцити групи 0.
3. Виконуючи пробу сумісності з концентратом еритроцитів, завішених у плазмі іншої групи АВ0, слід пам'ятати, що в контрольних аналізах донора необхідно перевірити також титр антитіл анти-А або анти-В у плазмі.
4. Якщо сироватка матері недосяжна, слід брати сироватку новонародженого, а в разі позитивного результату ПАГТ — також елюат із його еритроцитів.

УВАГА! *Якщо дитину імунізованої матері переводять до іншої лікарні, то в супроводі слід передати:*

– *результати аналізів, що стосуються груп крові матері й дитини, а також імунних антитіл, виявлених у матері;*
– *зразок крові матері (20 мл крові, сироватку з якої, поділену на кілька порцій, можна зберігати в замороженому стані протягом періоду лікування дитини і використовувати в наступних пробах сумісності).*

7.9.4. Лабораторні аналізи, пов'язані з профілактикою конфлікту за антигеном D системи Rh

Перш ніж давати імуноглобулін анти-Rh_o(D) породіллі, слід провести такі обов'язкові аналізи:

а) у крові матері:
– визначення антигену D системи Rh;
– аналіз антитіл анти-D за допомогою НАГТ;

б) у пуповинній крові:
– визначення антигену D системи Rh;
– прямий антиглобуліновий тест.

Імуноглобулін анти-Rh_o(D) призначають Rh_o(D)-негативній жінці, в якої не виявлено антитіл анти-D, і дитина якої є Rh_o(D)-позитивною з негативним ПАГТ.

Перш ніж давати імуноглобулін анти-Rh_o(D) під час вагітності чи після викидня, слід провести для жінки такі кваліфікаційні аналізи:
– визначення антигену D системи Rh;
– аналіз антитіл анти-D за допомогою НАГТ.

Імуноглобулін анти-Rh_o(D) призначають Rh_o(D)-негативній жінці, в якої не виявлено антитіл анти-D.

УВАГА!

А. Якщо аналіз зроблено також для партнера і визначено, що він є Rh-негативним, жінці під час вагітності не призначають імуноглобулін анти-Rh_o(D).

Б. Жінка, яка отримала імуноглобулін анти-Rh_o(D) під час вагітності, повинна отримати відповідну дозу препарату й після народження Rh_o(D)-позитивної дитини. Кваліфікаційні аналізи в такому разі обмежуються до визначення в матері та дитини антигену D із системи Rh. У матері не роблять аналіз антитіл анти-D, оскільки вони можуть бути присутні як пасивно набуті; з тих самих причин для новонародженого не виконують ПАГТ.

В. Відомості про початок профілактики під час вагітності мають бути розміщені в документації пацієнтки та надіслані до лабораторії трансфузійної серології.

Г. Повсюдне впровадження аналізу гена D плода у плазмі матері значною мірою обмежить використання та витрати імуноглобулінуанти-Rh_o(D) у профілактиці конфлікту під час вагітності, оскільки цей імуноглобулін не буде призначатися жінкам, у яких не виявлено гена D плода.

7.9.4.1. Виявлення еритроцитів плода у кровообігу матері: тест кислотної елюації модифікованим методом Клейхауера–Бетке

У випадку підозри на велику втрату крові плодом, наприклад, у разі значної анемії новонародженого безпосередньо після появи на світ, слід визначити об'єм крові плода у кровообігу матері. Після цього слід обчислити дозу імуноглобуліну анти-RhD, яку треба дати матері. Виходимо з того, що на кожен мілілітр крові плода потрібно 10 мікрограмів антитіл анти-D.

7.9.4.1.1. Реактиви

1. Буфер Мак-Ілвейна, pH 3,3–3,4: для кожного аналізу слід готувати свіжий буфер, змішуючи 74 мл маточного розчину А і 26 мл маточного розчину Б; перемішавши, перевірити pH.

Маточний розчин А (0,1 моль/л лимонна кислота):

21,0 г $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ розвести дистильованою водою до 1 л; зберігати у холодильнику при температурі 2–6 °С;

Маточний розчин Б (0,2 моль/л фосфат натрію):

71,63 г $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ розвести дистильованою водою до 1 л; зберігати у холодильнику при температурі 2–6 °С.

2. Барвники:
   - 0,5% водний розчин еритрозину В;
   - кислий гематоксилін (Гарріса).
3. 80% етиловий спирт.
4. Позитивний контроль: суміш крові дорослої людини (10 часток) та пуповинної крові (1 частка).
5. Негативний контроль: кров дорослої людини.

7.9.4.1.2. Виконання аналізу

1. Приготувати тонкі мазки крові.
2. Сушити на повітрі протягом 10 хв.
3. Фіксувати мазки протягом 5 хв. 80% етиловим спиртом.
4. Промити дистильованою водою.
5. Довести буфер Мак-Ілвейна до температури 37 °С і занурити в нього скельця з мазками на 5 хв.
6. Промити дистильованою водою.
7. Занурити скельця з мазками у гематоксилін на 5 хв.
8. Протягом хвилини ретельно промивати проточною водою.
9. Занурити скельця з мазками в еритрозин на 5 хв.
10. Промити проточною водою.
11. Полічити під мікроскопом 2000 еритроцитів і зафіксувати кількість еритроцитів плода.
12. Обчислити відсоток еритроцитів плода у загальній кількості полічених еритроцитів.

7.9.4.1.3. Інтерпретація результату

Еритроцити плода, які містять гемоглобін F, видимі як рожеві клітини, що заломлюють світло. Еритроцити дорослих людей, що містять гемоглобін A, — знебарвлені, видимі як бліді тіні клітин. Ядра лейкоцитів мають інтенсивне блакитне забарвлення, а цитоплазма сіро-блакитна.

Частка плодово-материнського кровообігу в мл цільної крові = відсоток еритроцитів плода × 50.

7.9.4.2. Інші методи виявлення еритроцитів плода у кровообігу матері

Серед інших методів найчастіше застосовується проточна цитометрія.

7.10. Аналізи при аутоімунній гемолітичній анемії (АІГА)

7.10.1. АІГА з аутоантитілами теплового типу

Для аналізів слід узяти в суху пробірку близько 5 мл крові, а також узяти 4 мл крові на EDTA, після чого виконати перелічені нижче аналізи.

1. ПАГТ із полівалентним реактивом.
2. ПАГТ із моноспецифічними реактивами (якщо з полівалентним реактивом отримано позитивний результат).
3. Елюат з еритроцитів хворого (п. 7.5.9.2) та аналіз активності елюату з набором стандартних еритроцитів.
4. Аналіз сироватки з набором стандартних еритроцитів та з аутологічними еритроцитами. У разі отримання позитивних результатів провести адсорбцію аутоантитіл із сироватки (п. 7.5.9.1).
5. Виявлення алоантитіл у сироватці після адсорбції аутоантитіл (за допомогою НАГТ).
6. Визначення фенотипу Rh та — в міру потреби — інших антигенів еритроцитів (із використанням моноклональних реактивів). Якщо застосовуються людські діагностичні сироватки, передусім слід усунути з еритроцитів аутоантитіла (п. 7.5.10).
7. Підбір для переливання крові, фенотипічно сумісної за системою Rh та антигеном K. У випадку одночасної наявності алоантитіл слід також узяти до уваги фенотипічну сумісність за відповідною груповою системою.

7.10.2. АІГА з аутоантитілами холодового типу

Кров для аналізів має бути взята у пробірку, поміщену в хімічну склянку з водою температури 37 °C, і одразу ж перенесена у термостат із тією самою температурою. Після згущення крові слід відділити сироватку, а еритроцити тричі промити розчином NaCl температури 37 °C. Слід виконати такі аналізи:

- визначення групи крові AB0 та антигену D за допомогою моноклональних реактивів;
- ПАГТ;
- визначення температурної амплітуди холодних аутоантитіл (аглютинінів).

7.10.2.1. Диференціація аутоантитіл холодового типу системи I: природні та клінічно важливі

Аутоантитіла холодового типу, що виявляють під час визначення груп крові AB0, найчастіше мають специфічність за системою I. Попри те, що оптимальну активність вони демонструють при низьких температурах — у деяких людей вони, однак, дають про себе знати і при кімнатній температурі. Їхня присутність може бути пов’язана з перенесеною інфекцією. Ними також можуть супроводжуватися хвороби кровотворної системи, пов’язані з новоутвореннями; крім того, ці аутоантитіла можуть виявлятися при ідіопатичній АІГА холодового типу, що зветься хворобою холодових аглютинінів. Аутоантитіла холодового типу, які мають патологічне значення, зв’язують систему комплементу, мають високий титр і широку теплову амплітуду. Для підтвердження їх присутності слід провести паралельні аналізи у трьох температурах: 20 °C, 30 °C та 37 °C.

7.10.2.1.1. Спосіб дій

1. Приготувати 3% завісі аутологічних еритроцитів та стандартних еритроцитів групи 0 у розчині NaCl.
2. Підготувати 3 ряди пробірок (у кожному по 4 пробірки) для аналізів при трьох температурах.
3. У першу та другу пробірки кожного ряду помістити по 2 краплі аналізованої сироватки.
4. У третю і четверту пробірки кожного ряду помістити по одній краплі аналізованої сироватки та по одній краплі 30% розчину альбуміну в NaCl.
5. Два ряди пробірок перенести до термостатів із відповідними температурами (30 °С, 37 °С). Третій ряд залишити при кімнатній температурі. Біля пробірок із сироваткою у вищенаведених температурах помістити завісі підготовлених еритроцитів.
6. Через 10 хв. у першу і третю пробірки сироватки в кожному ряду додати по краплі 3% завісі аутологічних еритроцитів, а у другу і четверту — по краплі 3% завісі стандартних еритроцитів групи 0.
7. Перемішавши, вміст пробірок протягом 2 год. інкубувати у відповідних температурах.
8. Результати враховувати у макроскопічному режимі (візуально), легко струшуючи кожну пробірку. Запротоколювати інтенсивність аглютинації.
9. На підставі результатів аналізів при окремих температурах установити теплову амплітуду реакцій антитіл.

Важливими з клінічного боку визнаються аутоантитіла, що вступають у реакції в діапазоні температур 30–37 °С. У цих випадках для переливання підбирають кров, фенотипічно сумісну за системою Rh і антигеном K із системи Kell (після виключення наявності інших імунних антитіл).

Аутоантитіла, активні лише в низьких температурах (нижчих від 30 °С), не мають клінічного значення.

Якщо з'ясовується, що виявлені аутоантитіла мають патологічний характер, рекомендується виконати такий аналіз:

– приготувати два ряди розведень аналізованої сироватки в розчині NaCl;
– до першого ряду додати такий самий об'єм 3–4% однойменних еритроцитів, завішених у розчині NaCl, а до другого — еритроцитів групи 0;
– залишити на годину при кімнатній температурі. Через годину врахувати результати.

Якщо титр з однойменними еритроцитами є значно вищим (більш ніж 2 розведення), ніж з еритроцитами групи 0, — це є підставою для рекомендації переливати КЕ групи 0.

7.10.3. Пароксизмальна холодова гемоглобінурія (ПХГ)

ПХГ характеризується наявністю у сироватці двофазових гемолізинів. Первинна ПХГ трапляється дуже рідко. Натомість гемолізини минущого характеру досить часто виявляються у дітей під час вірусних та бактеріальних захворювань (наприклад, кір, вітряна віспа, свинка, грип, інфекційний мононуклеоз). Двофазові гемолізини найчастіше мають специфічність, спрямовану до поширеного антигену P.

Нижчеописаний тест слід проводити, якщо у хворого спостерігаються симптоми гемолізу (гемоглобінурія, гемоглобінемія), але в сироватці аутоантитіл холодового типу не виявлено, а на еритроцитах присутній лише C3 (елюат з еритроцитів — негативний).

7.10.3.1. Підготовка матеріалу до аналізів

1. Кров хворого взяти в суху пробірку і перенести до інкубатора в температуру 37 °С. Після закінчення процесу згортання відцентрифугувати у такій самій температурі й сироватку перевести в окрему пробірку.
2. Зі свіжовзятого зразка донорської крові відокремити сироватку, яка є джерелом комплементу.
3. Приготувати 50% завись еритроцитів групи 0 у розчині NaCl.

7.10.3.2. Виконання аналізу

1. У 3-х рядах штатива для пробірок помістити по 3 пробірки і позначити їх, наприклад, А1, А2, А3 (перший ряд), Б1, Б2, Б3 (другий ряд), В1, В2, В3 (третій ряд).
2. Додати у першу і другу пробірку кожного ряду по 10 крапель сироватки хворого.

3. Додати у другу і третю пробірку кожного ряду по 10 крапель сироватки донора.
4. В усі пробірки додати по краплі зависі еритроцитів і перемішати.
5. Перенести 3 пробірки з першого і 3 пробірки з другого ряду в контейнер із льодом, що тане (0 °С).
6. Три пробірки з третього ряду помістити в інкубатор, у температуру 37 °С.
7. Через 30 хв. 3 пробірки, позначені літерою А, із контейнера з льодом перенести в інкубатор, у температуру 37 °С.
8. Ще через годину відцентрифугувати всі пробірки й врахувати результати, спостерігаючи забарвлення супернатанту.

7.10.3.3. Інтерпретація результатів

Гемоліз у пробірках із сироваткою хворого, інкубованою спершу в температурі 0 °С, а потім у температурі 37 °С, вказує на присутність двофазових гемолізинів.

Гемоліз у пробірках із сироваткою хворого, інкубованою тільки в температурі 0 °С або тільки в температурі 37 °С, вказує на присутність однофазових гемолізинів, відповідно — холодового або теплового типу.

У пробірках, що містять тільки сироватку донора та еритроцити, гемоліз спостерігатися не повинен.

УВАГА! *Оскільки в сироватці хворого на ПХГ часто виявляється зниження активності комплементу, гемоліз у пробірці з додатком свіжої сироватки донора може бути значно сильнішим, ніж у пробірці, яка містить тільки сироватку хворого.*

7.11. Імуногематологічні аналізи, пов'язані з пересадкою кровотворних стовбурових клітин

Для всіх реципієнтів і донорів перед цією операцією треба:

1. Визначити групу крові за системою АВ0 та антигеном D із системи Rh; фенотип еритроцитів за антигенами систем Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS; а також антиген P_1.
2. Провести скринінг антитіл проти еритроцитів; у разі їх виявлення — визначити їхню специфічність.
3. Узяти в лікаря-куратора докладні дані щодо гемотерапії в минулому, а у випадку жінок — також відомості про перенесені вагітності.
4. Перед пересадкою підбирати кров, сумісну за фенотипом Rh та антигеном K.
5. Якщо реципієнт і донор пересадного матеріалу різняться за антигеном D (тобто реципієнт Rh-позитивний, а донор Rh-негативний, або реципієнт Rh-негативний, а донор Rh-позитивний) — у ранній період після пересадки підбирати Rh-негативну кров.

7.11.1. Як чинити у випадках несумісності за системою АВ0 між донором та реципієнтом

Розрізняють високу і низьку несумісність за системою АВ0 (табл. 7.8).

Таблиця 7.8

Несумісність за системою АВ0 між реципієнтом та донором стовбурових гемопоетичних клітин

Група крові		Різновид несумісності	Переливання у ранній період	
Реципієнт	**Донор**		**КЕ**	**Плазма та КТ**
0	A, B, AB	Велика	Однойменний з реципієнтом	Однойменні з донором
A	AB			
B	AB			
AB	0, A, B	Мала	Однойменний з донором	Однойменні з реципієнтом
A	0			
B	0			
A	B	Велика і мала	Група 0	Група AB
B	A			

7.11.1.1. Висока несумісність за системою АВ0

Висока несумісність за системою АВ0 полягає у наявності в реципієнта антитіл анти-А та/або анти-В, спрямованих проти антигенів на еритроцитах донора. Крім вищезгаданих аналізів, перед пересадкою слід здійснити визначення титру антитіл системи АВ0, відповідальних за високу несумісність:

– у розчині NaCl при кімнатній температурі;
– застосовуючи НАГТ (спершу знищивши антитіла IgM за допомогою 2ME або DTT).

УВАГА! *Отримані результати необхідні трансплантологу для того, щоб удатися до необхідних процедур для обмеження руйнівної дії антитіл на еритроцити донора, які містяться в пересадному матеріалі.*

У випадку високої несумісності після пересадки підбирають для переливання КЕ, одноіменний за системою АВ0 із реципієнтом; до того часу, коли антиген реципієнта на еритроцитах не буде виявлятися, ПАГТ буде негативним, а в елюаті з еритроцитів та в сироватці не спостерігатиметься антитіл, спрямованих до антигенів на еритроцитах донора. Частоту цих аналізів визначає лікар-куратор.

Плазма і КТ, узяті для переливання, за АВ0 мають бути сумісні з донором.

7.11.1.2. Низька несумісність за системою АВ0

Низька несумісність — це наявність у сироватці донора антитіл анти-А та/або анти-В, спрямованих проти антигенів на еритроцитах реципієнта. Перед пересадкою згідно з розпорядженням лікаря-куратора визначають рівень антитіл системи АВ0 у донора пересадного матеріалу. З цією метою застосовують ті самі методики, про які йшлося у п. 7.11.1.1 (висока несумісність).

Для переливання підбирають КЕ, одноіменний за системою АВ0 із донором; при цьому до того часу, коли антигени реципієнта на еритроцитах уже не будуть виявлятися, еритроцити для переливання повинні бути максимально позбавлені плазми.

Плазма і КТ, призначені для переливання, мають походити з крові, однойменної з реципієнтом. Переливання цих компонентів, сумісних за системою АВ0 із донором, можна розпочати лише тоді, коли на еритроцитах хворого вже не спостерігатимуться його первинні антигени.

Пошук антигенів реципієнта на еритроцитах здійснюють методом безпосередньої аглютинації, за допомогою моноклональних антитіл, пробірковою або мікроколонковою методиками.

7.11.1.3. Водночас висока і низька несумісність за системою АВ0

Вона виявляється тоді, коли в реципієнта є антитіла, спрямовані до антигену на еритроцитах донора, а в донора — антитіла до антигенів на еритроцитах реципієнта. У таких випадках перед здійсненням пересадки рекомендується виконати всі аналізи, згадані в описах високої та низької несумісностей.

Для переливань слід брати КЕ групи 0.

Плазма і КТ, призначені для переливання, мають походити від донорів групи АВ.

Рекомендується також діяти саме так з моменту початку підготовки реципієнта до пересадки стовбурових клітин (рис. 7.3).

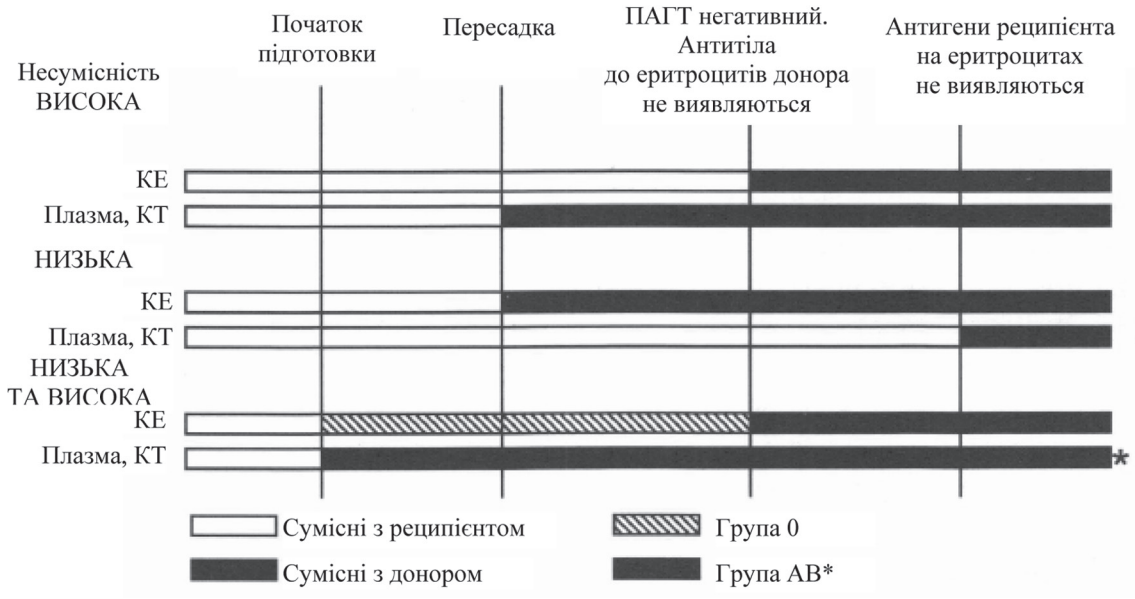


Рис 7.3. Трансфузії компонентів крові для реципієнта пересадки кровотворних стовбурових клітин, несумісних за системою АВ0

7.11.2. Гемолітичні реакції у хворих із пересадженими стовбуровими клітинами

Гемоліз під час інфузії препарату стовбурових клітин є явищем винятковим; це може статися тоді, коли не було вжито заходів для обмеження дії антитіл системи АВ0 на еритроцити донора. Вважається, що ризику гемолізу нема, якщо титр антитіл не перевищує 16. Низька несумісність не призводить до гемолізу під час операції пересадки.

7.11.2.1. Гемолітична реакція у випадку високої несумісності

Клінічні симптоми гемолітичної реакції (яка є явищем рідкісним) виникають найчастіше між 37 та 105 днем після пересадки. Ця реакція спостерігається впродовж 10–94 днів. Вона є наслідком збереження в організмі лімфоцитів, які виробляють антитіла системи АВ0.

У цьому випадку слід виконати такі аналізи:

– ПАГТ;
– пошук антитіл анти-А та/або анти-В у сироватці та в елюаті з еритроцитів.

Отримані позитивні результати підтверджують клінічно виражену гемолітичну реакцію. Доки вона не пройде, слід підбирати КЕ групи 0.

7.11.2.2. Гемолітична реакція у випадку низької несумісності

Ця реакція відносно часто виявляється у хворих, яких лікують циклоспорином, не даючи їм метотрексату. Кожен хворий із цієї групи обтяжений ризиком гемолітичної реакції, яка найчастіше з'являється через кілька чи кільканадцять днів після пересадки. Відтак, необхідно здійснювати періодичні контрольні аналізи на предмет наявності антитіл системи АВ0, що їх виробляють пересаджені лімфоцити (англ. passenger lymphocytes) донора, які й спричиняють гемоліз у реципієнта. Ці аналізи охоплюють:

– пошук антитіл системи АВ0 у сироватці;
– виконання ПАГТ, а також пошук антитіл системи АВ0 в елюаті з еритроцитів.

Перший контрольний аналіз має бути зроблено на 5 день після пересадки. Аналізи слід повторювати кожні кілька днів упродовж кількох тижнів. Позитивні результати можуть випереджати клінічні симптоми гемолізу. Слід у таких випадках підбирати КЕ групи 0 — до того часу, коли еритроцити хворого заміняться еритроцитами донора.

Слід підкреслити, що в рідкісних випадках у кровообігу хворого можуть з'явитися імунні антитіла з інших (не АВ0) групових систем. Їх виробляють або лімфоцити В реципієнта, що збереглися, або перенесені разом із пересадним матеріалом лімфоцити донора. Результати фенотипічних аналізів

реципієнта і донора до пересадки можуть полегшити ідентифікацію цих антитіл. У таких випадках слід підбирати КЕ, який не містить антигену, що відповідає виявленим антитілам.

У реципієнтів цільних органів часто виникають гемолітичні реакції внаслідок низької несумісності та перенесення імунокомпетентних лімфоцитів донора, які виробляють алоантитіла, спрямовані до антигенів, що виявляються на еритроцитах реципієнта. Такі реакції виникають найчастіше після пересадки легень, печінки, рідше — нирки. АІГА, що деколи спостерігається, також є наслідком перенесення лімфоцитів донора. Реакція внаслідок високої несумісності належить до винятків, оскільки, як правило, для пересадки беруть органи, сумісні за системою АВ0.

7.11.2.3. Аутоімунна гемолітична анемія

Цей синдром виявляє себе через кілька, навіть через кільканадцять місяців після пересадки. Він виступає як АІГА з аутоантитілами холодового типу класу IgM або теплового — класу IgG. Принципи аналізу — такі самі, як описано вище.

7.11.2.4. Виявлення двох популяцій еритроцитів

Виявлення, що еритроцити хворого мають фенотип, ідентичний з фенотипом донора, служить за доказ того, що пересадний матеріал прижився. Це так званий абсолютний химеризм. Наявність двох популяцій еритроцитів, які різняться в антигенах і виявляють себе в реакції з відповідним діагностичним реактивом як аглютинати на фоні однорідної зависі, свідчить про частковий химеризм.

7.12. Принципи постійної документації результатів аналізів груп крові (внесення запису до документів, що посвідчують особу, та до книг реєстру медичних послуг)

Метою постійного обліку результатів аналізів груп крові є полегшення гемотерапії, особливо в екстрених випадках, що стосуються як окремих людей, так і великих груп населення під час масових катастроф, стихійних лих тощо. У зв'язку з тим постійні записи мають бути достовірними й базуватися на результатах аналізів, які є обов'язковими для реципієнтів крові. Ці аналізи охоплюють:

– визначення групи крові за системою АВ0;
– визначення антигена D системи Rh;
– скринінг сироватки на наявність імунних антитіл;
– встановлення специфічності виявлених імунних антитіл, а також «природних» антитіл імунного характеру.

Запис визначених груп крові до документів може робитися тільки на підставі ідентичних результатів, отриманих з аналізу двох незалежно один від одного взятих зразків крові. Два зразки крові можуть бути взяті в один і той самий день — за умови, що кожне взяття відбувалося в окремому приміщенні й обслуговувалося різними колективами людей, які брали кров і документували взяті зразки. У цих випадках скринінг імунних антитіл роблять на матеріалі одного зразка крові. Якщо в ньому буде виявлено антитіла — треба буде підтвердити їх наявність і в другому зразку, після чого встановити їх специфічність.

Нагляд над цими аналізами, так само як і над їх документуванням, можуть здійснювати тільки лабораторні діагности, які пройшли навчання у ЗСК й мають посвідчення, що дають право робити записи результатів аналізів в особових документах (Зразок №7.11); такі посвідчення видає головний лікар закладу служби крові. Регіональний ЗСК зобов'язаний вести реєстр уповноважених осіб.

Записи про групу крові можна робити:

– на підставі двох незалежних результатів із лабораторії, в якій робиться запис (обов'язково зазначити два номери і дві дати аналізів);
– на підставі двох оригінальних результатів із різних лабораторій (обов'язково зазначити два номери і дві дати аналізів, а також вказати у книзі постійного обліку, з якої лабораторії надійшли результати аналізів).

У разі виявлення імунних антитіл слід неодмінно зазначити їхню специфічність у рубриці «Примітки». Якщо результати аналізів стосуються зразків крові, взятих у різний час, може виявитися,

що антитіла виявлено лише в одному з них. У цьому випадку запис про специфічні імунні антитіла роблять на підставі результату аналізу того зразка крові, в якому вони виявлені.

УВАГА!

А. Заклади служби крові можуть видавати картки груп крові на підставі документації, яка узгоджується з принципами постійного обліку.

Б. Усі задокументовані відомості про наявність імунних антитіл у минулому (незважаючи на невиявлення їх в останніх аналізах, на підставі яких робиться запис) мають також бути внесені в особовий документ або у Книгу реєстру медичних послуг.

В. Такі самі принципи запису є обов'язковими також у разі виявлення «природних» антитіл імунного характеру.

Зразок №7.11

ПОСВІДЧЕННЯ, ЩО ДАЄ ПРАВО
РОБИТИ ЗАПИСИ ПРО ГРУПУ КРОВІ В ОСОБОВИХ ДОКУМЕНТАХ

печатка
ЗСК

ПОСВІДЧЕННЯ

Посвідчую, що (ПІБ) _____

_____

який(а) працює у _____

_____

на посаді _____

_____

уповноважений(а) здійснювати визначення груп крові та робити записи про це в особових та інших документах для цілей постійного обліку.

печатка та підпис головного лікаря закладу служби крові _____

7.12.1. Спосіб ведення постійної документації груп крові

1. Записати у книгу постійного обліку (Зразок №7.11) усі дані за окремими рубриками.
2. На прокресленій сторінці документа вмістити штамп стандартної величини, згідно зі зразком №7.12.
3. У графі «Група крові» вмістити штамп відповідних розмірів, наприклад:

0 RhD + (плюс)
або
0 RhD + (позитивний)

AB RhD – (мінус)
або
AB RhD – (негативний)

4. У графі «Примітки» зазначити специфічність імунних антитіл (якщо вони виявлені).
5. У наступній графі зазначити два номери аналізів, а через скісну риску — дати їх виконання, наприклад:

148 / 02.07.2001
395 / 19.03.2003

7. З лівого боку останньої графи зазначити номер запису з книги постійного обліку, а з правого боку тієї самої графи вмістити тонку й розбірливу печатку і підпис особи, відповідальної за внесення запису.

УВАГА!

А. У випадках виявлення рідкісного різновиду антигену системи АВ0 або Rh слід зробити запис, використовуючи загальноприйняті позначки. У графі «Зауваги» робиться примітка «Нетиповий як реципієнт крові».

Б. Людям, у яких виявлено рідкісний різновид групи крові або імунні антитіла, треба додатково видавати детальний результат аналізу. У ньому слід характеризувати різновид групового антигену, виявлені імунні антитіла, а також фенотип еритроцитів за тією груповою системою, до якої ці антитіла віднесено. Слід також навести відомості, яку саме кров треба брати для переливання. Людину потрібно повідомити про необхідність зберігання цього результату аналізу разом із документом постійного обліку груп крові.

В. Результат аналізу групи крові може бути переписаний з одного документа до іншого виключно особою, яка має повноваження (про це йшлося вище). Якщо буде виявлено неточності в записі (наприклад, відсутність одного з номерів аналізів), слід узяти зразок крові й провести контрольні аналізи.

Г. Для донорів книгу постійного обліку можна замінити комп'ютерною базою даних.

Зразок №7.12

КНИГА ПОСТІЙНОГО ОБЛІКУ

№	Дати аналізів	Номери аналізів	Ім'я та прізвище аналізованого	Номер особового документа	Дата народження	Група крові		Дата запису результату аналізу в особовому документі	Примітки	Підпис особи, вповноваженої запитувати результати аналізів в особових документах
						AB0	Rh			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Зразок №7.13

ЗРАЗОК ПЕЧАТКИ ПОСТІЙНОГО ОБЛІКУ
(7 см × 5 см)

Назва закладу
Група крові
Примітки

№ / дата аналізу
№ / дата аналізу
x xx

x — № запису / дата запису
xx — печатка і підпис особи, відповідальної за запис

7.12.2. Картки груп крові

У нових особових посвідченнях немає місця для запису групи крові. У зв'язку з цим опрацьовано зразки карток груп крові (Зразок №7.14).

Лицьовий бік картки повинен містити особові дані (імена, прізвище, дата і місце народження, ідентифікаційний код, імена батьків). На зворотному боці картки повинна бути прямокутна печатка з горизонтальними рубриками, стандартних розмірів (Зразок №7.13.). Картка за розмірами така сама, як нове особове посвідчення, має бути заламінована або ж одразу виготовлена з цупкого штучного матеріалу, з можливістю робити на ній незмивні записи.

Картки групи крові можуть видавати тільки лабораторії та особи, вповноважені головним лікарем закладу служби крові, за згодою керівника відділу трансфузійної імунології. Зразок такої картки має бути затверджений ДУ «Інститутм гематології і трансфузіології НАМН України» (Зразок №7.14).

Згідно з принципами постійної документації достовірна картка з відомостями про групу крові має бути складена на підставі аналізів двох зразків крові, взятих у різний час (два проколи), про що мають свідчити зазначені два номери аналізів та — через скісну риску — дати їх виконання. Необхідна крім того, розбірлива печатка лабораторії та особи, відповідальної за правильність внесеного запису, а також підпис цієї особи.

УВАГА!

А. Уповноважені особи можуть видавати картки груп крові на підставі правильно внесених записів в анульованих особових посвідченнях.

Б.Картки, зразок яких не затверджений ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України», не можуть братися до уваги медичними закладами.

Зразок №7.14

ІДЕНТИФІКАЦІЙНА КАРТКА ГРУПИ КРОВІ

Сторона 1

Ідентифікаційна картка

Назва медичного закладу

Ім'я і прізвище

Дата і місце народження

Імена батьків

Ідентифікаційний код

Сторона 2

Назва серологічної лабораторії

Група крові

Примітки

№ / дата аналізу

№ / дата аналізу

x xx

x — № запису з книги постійного обліку / рік або повна назва запису

xx — печатка і підпис особи, відповідальної за запис

7.13. Серологічний контроль якості реактивів, узятої крові та її компонентів

Ці аналізи виконують у лабораторії серологічного контролю, яка входить до складу відділу контролю якості. Усі аналізи мають відповідним чином документуватися і протоколюватися.

7.13.1. Контроль діагностичних реактивів для аналізів груп крові

Перш ніж ухвалювати рішення про закупівлю діагностичних реактивів для аналізів груп крові, рекомендується запросити у виробника зразки, проаналізувати специфічність та активність реактивів та перевірити, чи відомості щодо випробувань, надані виробником, узгоджуються з результатами власних аналізів і чи відповідають нормам, наведеним у пп. 7.13.1.2 та 7.13.1.3.

Лабораторія зобов'язана вести книгу аналізів діагностичних реактивів, яка має містити документацію і протоколи аналізів, а також остаточну оцінку реактиву. Кожна серія діагностичного реактиву має підлягати оцінюванню за такими параметрами:

– зовнішній вигляд: відсутність помутніння, осаду;
– активність та специфічність антитіл: чіткі реакції (позитивні та негативні) з відповідно підібраними еритроцитами.

УВАГА! *Вищеописаний контроль якості стосується ручних методів. Якщо реактиви призначені для аналізів мікроколонковим методом або за допомогою автомата, то вимоги щодо контролю якості встановлює виробник.*

7.13.1.2. Контроль реактивів для аналізу антигенів системи AB0

Активність та специфічність: відсутність неспецифічної аглютинації («монетні» стовпчики) та явища прозони; чіткі реакції з антигенами послабленої експресії (наприклад, A_2); відсутність хибних реакцій (контроль з еритроцитами групи 0).

Сила: моноклональні реактиви: приготувати завись еритроцитів згідно з рекомендаціями виробника; аглютинація має з'явитися через 10 сек., а через 3 хвилини сягнути інтенсивності від 3+ до 4+.

Мінімальний титр:

Моноклональні реактиви анти-A

Стандартні еритроцити	A_1	A_2
Тест на площині	32	16
Тест у пробірках	128	64

Моноклональні реактиви анти-B

Стандартні еритроцити	B	A_2B
Тест на площині	32	16
Тест у пробірках	128	64

УВАГА! *При аналізах титру анти-B замість «старих» (10-денних) еритроцитів B можна застосовувати еритроцити A_2B, оскільки експресія B у них слабша.*

7.13.1.3. Контроль реактивів для аналізу антигену D системи Rh

Аналіз активності та специфічності: так само, як і з реактивами для системи AB0.

Сила: при кожному із застосовуваних методів, коли мине стандартний для них час реакції, аглютинація з еритроцитами гетерозигот має сягнути інтенсивності від 3+ до 4+.

Титр моноклональних реактивів IgM

Тест на площині	32
Тест у пробірках	64

УВАГА! *Титр слід аналізувати щодо еритроцитів із гетерозиготною експресією антигенів.*

7.13.1.4. Контроль реактивів для аналізу інших антигенів системи Rh

Специфічність, реактивність та силу аналізують так само, як і у випадку реактивів анти-D.

Титр: у тесті на площині й пробірковому тесті — не нижче від (1:16).

7.13.1.5. Контроль діагностичних реактивів для аналізу антигенів інших групових систем

Реактиви мають проходити аналізи за тими методиками, що їх рекомендує виробник.

Обов'язковими є аналізи специфічності, активності та сили щодо еритроцитів гетерозигот. Якщо виробник зазначив титр реактиву, слід його перевірити.

7.13.1.6. Контроль полівалентного антиглобулінового реактиву (анти-IgG + анти-C3d)

Специфічність: відсутність аглютинації і гемолізу еритроцитів усіх груп системи АВ0 у класичному антиглобуліновому тесті та НАГТ-LISS після інкубації із сироваткою, яка не містить імунних антитіл.

Активність:

а) аглютинація, що оцінюється не вище ніж 2+, з еритроцитами, сенсибілізованими Стандартом анти-D;

б) інтенсивність аглютинації еритроцитів, сенсибілізованих антитілами, які зв'язують комплемент (наприклад, анти-Jka), у двоступеневому антиглобуліновому тесті — більша, ніж у класичному антиглобуліновому тесті та НАГТ-LISS.

7.13.1.7. Спосіб дій після оцінки фірмових діагностичних реактивів

1. До імпортних реактивів кожної перевіреної серії слід долучити інструкцію з використання, складену українською мовою.
2. Якщо в ході користування реактивом з'являються якісь сумніви, а строк його придатності ще не минув, слід здійснити повторний контроль реактиву та, можливо, подати скаргу виробникові.

7.13.2. Контроль розчинів, що застосовуються в аналізах

7.13.2.1. Розчин NaCl

Розчин містить 9 г NaCl на літр дистильованої або деіонізованої води; pH розчину має становити 6,6–7,6. Якщо pH виходить за ці межі, то слід довести його до відповідного значення за допомогою фосфатного буфера.

7.13.2.2. Розчин LISS

Оптимальний pH розчину становить 6,7 (допустимі межі — 6,5–7,0). Якщо pH виходить за ці межі, то слід довести його до відповідного значення за допомогою HCl або NaOH.

7.13.2.3. Папаїновий реактив

Реактивність:

– додавання реактиву до зависі еритроцитів у розчині NaCl не повинне спричиняти їх аглютинацію або гемоліз;

– додавання реактиву до зависі еритроцитів у розчині NaCl, до якої вже додано такий самий об'єм сироватки, що не містить антитіл, — не повинне спричиняти ні аглютинацію, ні гемоліз;

– додавання реактиву до зависі еритроцитів у розчині NaCl, до якої вже додано такий самий об'єм Стандарту анти-D, повинне спричиняти їх аглютинацію.

7.13.3. Серологічний контроль узятої крові

Серологічний контроль усіх компонентів крові, в тому числі й узятих методом аферезу плазми, КТ та концентрату гранулоцитів, рекомендується виконувати автоматичним методом, користуючись зразком крові, взятим із цією метою у пробірку з EDTA; пробірка має бути позначена кодом донації. Зразок крові слід брати в той самий час, коли береться й зразок для діагностики інфекційних агентів. Аналіз проводять із реактивами анти-A, анти-B і анти-D. Для контролю плазми реактив анти-D не застосовується. Якщо серологічний контроль здійснюють мануальним методом — аналізи можна робити із сегмента дренажної трубки або з пробірки.

Серологічний контроль повинна здійснювати група працівників, що складається з 2-х осіб, які мають певну кваліфікацію; працівників визначає керівник відділу трансфузійної імунології. Якщо

результати контрольного аналізу одразу ж уводяться в комп'ютер, оснащений системою блокування помилкового результату, то контрольні аналізи може виконувати й розпізнавати одна особа. Під час проведення контролю слід точно дотримуватися встановленого порядку дій — це мінімізує ризики технічних помилок та огріхів, особливо тих, що спричинені монотонністю роботи й відверненням уваги людини, яка виконує аналіз.

Для контролю слід застосовувати моноклональні реактиви анти-А, анти-В і анти-D. Рекомендується такий порядок дій:

1. У книгу серологічного контролю переписати номер донації з етикетки контейнера, який містить узяту кров. Рекомендується вклеювати самоклейні етикетки з номером донації.
2. У верхній частині пластинки зазначити символи реактивів (анти-А, анти-В, анти-D), а з лівого боку — номер донації.
3. Помістити на пластинку по краплі відповідних реактивів (згідно з їх зазначеними символами).
4. З дренажної трубки або з пробірки перенести на пластинку по краплі аналізованої крові.
5. Змішати реагенти, почекати 3 хвилини; врахувати результати й запротоколювати їх у книзі.
6. Перевіривши відповідність результатів і всієї документації, наклеїти заповнені етикетки серологічного контролю (Зразок №7.15) на контейнер із кров'ю та на всі порожні супутні контейнери. На етикетках розмістити підпис або кодовий номер особи-контролера.
7. Усі сегменти дренажної трубки позначити номером донації та результатом аналізу групи крові (АВ0 та Rh) згідно з основною етикеткою.

Якщо серологічний контроль плазми, взятої методом плазмаферезу, та КТ, отриманого шляхом аферезу, роблять із дренажної трубки, то аналіз проводять зі стандартними еритроцитами 0, А1, В.

Концентрат гранулоцитів має перевірятися з реактивами анти-А, анти-В і анти-D, оскільки містить значну домішку еритроцитів. Аналіз на пластинці виконується так само, як і аналіз антитіл анти-А і анти-В у сироватці під час визначання груп крові АВ0.

Плазма, отримана з цільної крові в закритій системі, такому контролеві не підлягає. Обов'язково слід ретельно перевірити ідентичність записів на основній етикетці і на етикетці контейнера з плазмою, перш ніж від'єднувати його від маточного контейнера.

УВАГА!

А. Якщо запротокольовані аналізи та отримані результати безпосередньо реєструються в комп'ютері — книги серологічного контролю можна не вести.

Б. У випадку певинного донора головна етикетка має бути приклеєна на контейнер тільки після аналізів двох зразків крові донора в серологічній лабораторії.

В. Якщо контроль здійснюється з КЕ, контейнер із плазмою можна відокремити лише після того, як він буде позначений етикеткою серологічного контролю.

Г. Якщо серологічний контроль здійснюється автоматичним методом, то слід діяти згідно з рекомендаціями виробника.

Ґ. Серологічний контроль може здійснюватися безпосередньо після взяття крові або ж пізніше (наприклад, у випадку крові, що береться виїзними бригадами або в територіальних відділеннях).

*Д. Якщо серологічний контроль здійснюється автоматичним методом згідно зі Стандартом етикетування ISBT 128, можна відмовитися від наклеювання етикеток серологічного контро*лю на контейнери з кров'ю й на порожні супутні контейнери.

Зразок №7.15

ЗРАЗОК ЕТИКЕТКИ СЕРОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ

штрих-код 55–00–55555	Група крові		Підпис серол. контр.
	АВ0	Rh	

7.13.4. Контроль якості у лабораторії трансфузійної імунології

Процедури контролю якості поділяються на контроль обладнання, реактивів та здійснюваних аналізів. Ця класифікація доволі чітка, хоч деякі контрольні дії й дублюють одна одну. Особливо це стосується контролю реактивів і техніки аналізу.

7.13.4.1. Контроль якості устаткування

Регулярний контроль стосується особливо центрифуг, апаратури для автоматичного промивання еритроцитів, «водяних бань», холодильників та морозильних камер. Автомати для аналізу груп крові підлягають систематичному контролю згідно з інструкцією виробника.

7.13.4.2. Контроль якості реактивів

Рекомендовані процедури стосуються реактивів, що застосовуються головним чином для аналізів, здійснюваних вручну. Реактиви, що застосовуються в інших методиках, зокрема в автоматичних, підлягають спеціальному, більш детальному контролю якості, сферу якого зазвичай окреслює виробник устаткування.

7.13.4.3. Контроль якості методики аналізів

Якщо якість обладнання та реактивів відповідає вимогам, то хибні результати є наслідком недосконалої методики (застосування невідповідного методу) або, що трапляється частіше, — наслідком «робочої помилки», яка полягає в не досить ретельному проведенні аналізу або у неправильній оцінці результату.

7.13.4.4. Контроль якості праці

Контроль якості праці охоплює:

– внутрішній контроль, що стосується працівників ЗСК;
– зовнішній контроль, що стосується лабораторій лікарень та інших лабораторій, які виконують аналізи у сфері трансфузійної серології.

7.13.4.4.1. Внутрішній контроль

Кожен працівник, який виконує аналізи і працює в лабораторіях відділу трансфузійної імунології, а також працівник, який виконує аналізи у лабораторії трансфузійної серології, підлягає періодичному контролю, що його — не рідше ніж двічі на рік — здійснює керівник лабораторії. Керівник лабораторії готує зразки крові для аналізів і оцінює отримані результати.

7.13.4.4.2. Зовнішній контроль

Зовнішньому контролю підлягають усі лабораторії, що виконують аналізи у сфері трансфузійної серології.

7.13.4.4.3. Підготовка контрольного матеріалу

1. Як контрольний матеріал приготувати відповідні кількості плазми або сироваток зі слабкореагуючими антитілами (із титром 1:4 або нижчим).
2. Одним із контрольних зразків має бути сироватка або плазма, що не містить антитіл.
3. Окремі контрольні реактиви розлити по ампулках (приблизно по 2 мл), позначених кодовими номерами, та зберігати при температурі –20 °С.
4. Контрольний матеріал перед відсиланням має бути стандартизовано.
5. До контрольних зразків, призначених до відсилання, долучити бланки з протоколами аналізів і супровідний лист із детальною інструкцією щодо способу дій та документування результатів, а також терміном передачі їх до закладу служби крові.

УВАГА!

A. Контрольним матеріалом може бути плазма донорів, у яких виявлено антитіла, або ж відповідною мірою розведена плазма імунізованих людей. Для розведення слід застосовувати відповідну сироватку або плазму.

Б. Контрольним зразком також може бути плазма, яка містить антитіла з більш високим титром (наприклад, 1:32). У такому випадку слід дати завдання на визначення титру антитіл із докладною документацією результатів.

7.13.4.4.4. Завдання для контрольованої лабораторії

Керівник лабораторії визначає особу (осіб), якій (яким) доручає виконати аналізи контрольного матеріалу. Аналізи охоплюють:

– виявлення антитіл за допомогою всіх тестів, які повсякденно застосовуються в цій лабораторії (ензимний тест LEN, НАГТ-LISS, класичний НАГТ, NaCl, колонкові тести), із застосовуванням набору стандартних еритроцитів;

– визначення титру антитіл за допомогою відповідних тестів;

– докладне протоколювання всіх виконаних аналізів з урахуванням інтенсивності аглютинації (від +сл. до 4+).

Протокол аналізу повинен містити такі дані:

– назву контрольованої лабораторії;

– дату аналізу;

– дату одержання контрольного зразка;

– кодовий номер зразка;

– номери еритроцитів, що використовувались в аналізах, та номери серій реактивів.

7.13.4.4.5. Завдання для закладу служби крові, який здійснює контроль

Після отримання всіх протоколів слід проаналізувати результати та скласти документ зіставлення всіх лабораторій, які взяли участь у проведеному контролі. На цій підставі ЗСК ухвалює рішення про необхідність додаткових навчань для працівників або вдається до кроків, спрямованих на призупинення діяльності даної лабораторії.

7.14. Принципи імунізації донорів крові

Спланована імунізація донорів крові здійснюється з метою отримання плазми для виготовлення імуноглобуліну анти-D, що застосовується для профілактики конфлікту за системою Rh, а також імуноглобуліну анти-HBs, що застосовується для профілактики зараження HBV (гепатитом В).

7.14.1. Вказівки щодо лікарських висновків про допустимість імунізації з метою одержання медичних імунобіологічних препаратів

Ці вказівки містяться у наказі МОЗ України від 02.06.2005 р. №247 «Про затвердження документів з питань контролю якості препаратів крові»

Заклад служби крові зобов'язаний зберігати документацію, пов'язану з імунізацією, протягом 30 років.

Платня донорам еритроцитів, які дають згоду на імунізацію та потім здають кров або плазму для виробництва препаратів, регулюється чинним законодавством.

7.14.2. Принципи взяття крові для імунізації

У процедурах імунізації слід керуватися такими принципами:

– процедури імунізації і взяття зразків крові мають здійснюватися в окремому приміщенні, в якому має бути й набір для реанімації;

– донори під час імунізації еритроцитами не можуть здавати кров для лікувальних цілей;

– з моменту появи у їхній сироватці імунних антитіл цей факт слід занотувати в посвідченні (Зразок №7.16).

Кров для імунізації беруть у постійних донорів групи 0 RhD+. Донор перед кожною здачею крові на імунізацію має пройти лікарське обстеження та лабораторні аналізи — в тому самому обсязі,

як і донор, який здає кров для лікувальних цілей. Необхідно зробити йому аналізи на РНК HCV, ДНК HBV, ДНК ВІЛ, а також на генетичний матеріал парвовірусу В19. Якщо виконати ці аналізи немає змоги, слід надіслати зразок крові до установ або закладів, де є відповідні акредитовані лабораторії молекулярної біології.

Кров, взята для імунізації, має пройти 6-місячний термін карантинізації (у замороженому стані). Під кінець періоду карантинізації слід провести в донора контроль вірусних маркерів, застосовуючи імуноензимні тести та методи молекулярної біології.

Як зберігати і розморожувати призначену для імунізації кров — описано у п. 6.2.9.11.

Зразок №7.16

ПОСВІДЧЕННЯ ДОНОРА,
ЯКИЙ ПРОЙШОВ ІМУНІЗАЦІЮ КРОВ'Ю

Перша сторінка обкладинки:

ПОСВІДЧЕННЯ

ДОНОР, ЯКИЙ ПРОХОДИТЬ
ІМУНІЗАЦІЮ КРОВ'Ю

Видане _____
_____
_____

№_____

УВАГА! Це посвідчення слід завжди носити із собою та пред'являти під час кожного відвідування лікаря

Друга сторінка обкладинки:

Група крові

фотокартка _____
Підпис власника _____

У сироватці наявні імунні антитіла:
анти- _____
_____

дата і підпис керівника
серологічної лабораторії

УВАГА! У разі необхідності трансфузії кров слід підбирати у регіональному закладі служби крові

Внутрішні сторінки:

Дані щодо взяття плазми або крові

Порядковий номер	Дата взяття	Кількість узятої плазми/крові	Термін наступного взяття	Примітки	Підпис та печатка лікаря, який керував донацією

7.14.3. Спланована імунізація з метою отримання антитіл анти-D

Імунізація нових донорів-добровольців — справа необхідна, оскільки інших джерел отримання антитіл анти-D, які служать для виробництва імуноглобуліну анти-D, немає. Досі не вдалося отримати моноклональних антитіл анти-D, які можна було б застосовувати для профілактики конфлікту RhD.

Імунізацію проходять вибрані донори Rh_o(D)- (dccee), незалежно від їх групи крові за системою AB0.

Для виклику і стимуляції імунної відповіді, результатом якої є антитіла анти-D, найкраще використовувати еритроцити фенотипу DccEE з огляду на значну імуногенність антигену D таких еритроцитів. Можна застосовувати Rh-позитивні еритроцити й інших фенотипів.

Еритроцити, що служать для імунізації, мають бути сумісні з еритроцитами імунізованого донора за антигенами інших групових систем, відомих своєю імуногенністю, тобто K, Fy^a, Jk^a, S.

Подача еритроцитів має відбуватися повільно, шляхом внутрішньовенної ін'єкції. Після кожної маніпуляції донор повинен залишатися в ЗСК під наглядом медичного персоналу приблизно 1 годину.

Існує кілька дозволених схем імунізації: вони різняться між собою кількістю еритроцитів, що вводяться, кількістю ін'єкцій і тривалістю перерв між ними.

7.14.3.1. Схеми внутрішньовенної імунізації

Схеми імунізації базуються на вказівках Всесвітньої організації охорони здоров'я, дослідах ДУ «Інститут гематології і трансфузіології НАМН України», а також деяких закладів служби крові.

7.14.3.1.1. Виклик первинної імунної відповіді

Схема 1

Перша доза: 5 мл еритроцитів.

Через 1 місяць — контроль антитіл.

Через 3 місяці після ін'єкції — контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, друга доза 2 мл еритроцитів.

Через 1 місяць: контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, 3 дози по 2 мл еритроцитів із двотижневим інтервалом, із необхідним контролем антитіл перед кожною ін'єкцією.

Через 1 місяць після останньої ін'єкції — контроль антитіл.

Через 3 місяці після останньої ін'єкції — контроль антитіл.

Якщо за цей період донор не виробить антитіл, від подальшої імунізації слід відмовитись. Із цього моменту донор може здавати кров для лікувальних цілей, за умови контролю наявності антитіл перед кожною здачею крові або плазми протягом року.

Схема 2

Перша доза: 5 мл еритроцитів.

Через 1 місяць — контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, друга доза — 2 мл еритроцитів.

Через 1 місяць — контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, третя доза — 2 мл еритроцитів.

Через 1 місяць — контроль антитіл.

Через 1 місяць — контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, від подальшої імунізації слід відмовитись (див. схему 1).

Схема 3

Перша доза: 5 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: друга доза — 2 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, третя доза — 2 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, четверта доза — 2 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: контроль антитіл.

Через 2 тижні: контроль антитіл.

Через 3 місяці після останньої ін'єкції — контроль антитіл.

Якщо за цей період донор не виробить антитіл, від подальшої імунізації слід відмовитись (див. схему 1).

Схема 4

Перша доза: 10 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, друга доза — 5 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: контроль антитіл; якщо антитіла відсутні, третя доза — 2 мл еритроцитів.

Через 2 тижні: контроль антитіл.

Через 2 тижні: контроль антитіл.

Через 3 місяці після останньої ін'єкції — контроль антитіл.

Якщо за цей період донор не виробить антитіл, від подальшої імунізації слід відмовитись (див. схему 1).

Усі контрольні аналізи на предмет наявності антитіл анти-D протягом першого циклу імунізації слід робити за допомогою найчутливіших методів (тест із папаїнізованими еритроцитами, ензимний тест LEN, колонковий ензимний тест).

УВАГА!

А. Досліди багатьох ЗСК свідчать: якщо для імунізації застосовуються еритроцити, що зберігалися в замороженому стані, імунізація за схемою, встановленою для свіжих еритроцитів, не відповідає очікуванням стосовно виклику первинної імунної відповіді.

Б. Відомо, що в ході розморожування еритроцити піддаються частковим механічним пошкодженням, а це скорочує тривалість їхнього життя у кровообігу реципієнта, отже, й тривалість антигенної стимуляції та її інтенсивність.

В. З огляду на вищенаведені факти, є доцільним модифікувати схему першого циклу імунізації; зміни мають полягати у скороченні інтервалів між окремими дозами або у збільшенні початкових доз.

Г. Розпочинати імунізацію доцільно з якомога більшою групою донорів-добровольців, оскільки потрібного результату вдасться досягти лише з 50–60% із них (найімовірніше).

7.14.3.1.2. Стимуляція вторинної імунної відповіді

Якщо впродовж першого циклу імунізації той чи інший контрольний аналіз виявить присутність антитіл анти-D, від схеми виклику першої імунної відповіді слід відійти, а натомість через 2 тижні після останньої ін'єкції дати ще 2 мл еритроцитів (стимуляція вторинної імунної відповіді). У більшості імунізованих людей уже через 2 тижні після цієї ін'єкції можна, здійснивши контроль, брати першу плазму методом плазмаферезу.

Дії щодо плазми, заготовленої від імунних донорів:

1. Плазму, що береться, слід систематично піддавати контролю (півкількісний аналіз антитіл у титрі).

2. Придатність плазми для виготовлення імуноглобуліну анти-D слід оцінювати на підставі титру антитіл анти-D в антиглобуліновому тесті, виконаному пробірковим методом. Цей титр не повинен бути нижчим ніж 1:256, якщо тільки вимоги виробника не є іншими.

3. Якщо титр антитіл знижується, слід застосовувати подальшу стимуляцію дозами по 1 мл еритроцитів. Інтервали між ін'єкціями мають становити не менш ніж 3 місяці.

УВАГА!

А. На етикетці взятої плазми, окрім відомостей, згаданих у п. 6.2.20.4.1, має бути також зазначено: «Антитіла анти-D, титр …».

Б. Донори, які систематично піддаються антигенній стимуляції еритроцитами, раз на рік мають проходити контроль на предмет наявності додаткових антитіл; контроль здійснюється з використанням відповідно до підібраного набору $Rh0_oD$)-негативних еритроцитів, які походять від гомозиготних за різними груповими системами донорів.

7.14.3.2. Документація щодо імунізації донорів

Документація стосовно кожного імунізованого донора має вестися окремо, наприклад, у вигляді теки / скорозшивача. Така тека має містити:

– персональні дані;
– заяву, підписану донором;
– лікарське направлення донора на імунізацію;
– протоколи початкових серологічних аналізів, за результатами яких донора кваліфіковано до імунізації відповідними еритроцитами (донорові дозволено проходити імунізацію відповідними еритроцитами);
– результати контрольних аналізів на вірусні інфекції;
– протоколи всіх маніпуляцій із зазначеними датами, різновидом процедур, кількістю введеної крові (ім'я та прізвище людини, якій належить введена кров);
– коментар щодо самопочуття донора після маніпуляцій;
– протоколи контрольних серологічних аналізів і терміни наступних ін'єкцій крові.

Відповідні примітки щодо імунізації мають бути вміщені й у головній картотеці донора.

Там мають бути такі відомості, як дата початку імунізації, дата кваліфікації на плазмаферез, дата відмови від подальшої імунізації, обов'язковий період контрольних аналізів.

Розділ 8
ДІАГНОСТИКА ІНФЕКЦІЙНИХ АГЕНТІВ, ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ ЧЕРЕЗ КРОВ

ЗМІСТ

8.1. Загальні принципи 265
8.1.1. Первинні аналізи 265
8.1.2. Підтверджувальні, або верифікаційні дослідження 266
8.1.3. Взяття зразків крові для аналізів 266
8.2. Серологічні аналізи 266
8.2.1. Алгоритми дій: загальні принципи для первинних серологічних аналізів на віруси і на сифіліс 266
8.2.2. Принципи виконання серологічних аналізів на віруси 267
8.2.3. Первинні аналізи на предмет зараження сифілісом 267
8.3. Підтвердження аналізів зразків, що дали позитивні результати у серологічних тестах 267
8.3.1. Передача зразків на підтверджувальні аналізи 267
8.3.2. Антиген гепатиту В 268
8.3.3. Антитіла анти-HCV 268
8.3.4. Антитіла анти-ВІЛ 269
8.3.5. Сифілітичні антитіла 270
8.4. Аналізи з використанням методик молекулярної біології 270
8.4.1. Первинні аналізи NAT в окремих донаціях 271
8.4.2. Первинні аналізи NAT на матеріалі об'єднаних у пул зразків багатьох донорів 271
8.4.3. Загальні принципи організації роботи лабораторії молекулярної біології 272
8.4.4. Вимоги до приміщення та обладнання лабораторії аналізів плазми методами молекулярної біології (якщо аналізи виконуються мануальними або напівавтоматичними методами) 272
8.4.5. Матеріал для аналізів NAT 272
8.4.6. Проведення молекулярних аналізів: підготовчі дії 273
8.4.7. Постійний зовнішній контроль якості 273
8.4.8. Підтверджувальні аналізи для донорів без серологічних маркерів із позитивними результатами тестів NAT 273

8.1. Загальні принципи

До обов'язків ЗСК у сфері діагностики інфекційних агентів входить проведення у донорів і кандидатів у донори аналізів на маркери вірусного гепатиту типу В і С (HBV та HCV), вірусів імунодефіциту людини (ВІЛ-1 та ВІЛ-2), а також маркери сифілісу. На підставі результатів цих аналізів від здачі крові мають бути відсторонені ті особи, кров яких може бути джерелом зараження реципієнтів крові та її компонентів. Тому вищезазначені аналізи проводяться для кожного донора під час кожного взяття крові та її компонентів.

Для визначення маркерів вищезгаданих збудників захворювань слід застосовувати тести, що зареєстровані в Україні, а також пройшли у відповідному органі експертизу на предмет їх придатності для досліджень (відповідна чутливість, специфічність тощо).

Якщо лабораторія, в якій проводяться аналізи донорів, виконує також і діагностичні аналізи, то з огляду на велику кількість високореактивних позитивних зразків крові, діагностичні аналізи повинні бути відокремлені у часі від скринінгових аналізів донорів.

Аналітична чутливість тест-системи DIA-HBV згідно з рекомендаціями 2-го Міжнародного стандарту HBsAg (NIBSC Велика Британія, кд 00/588) має складати 0,12 МО/мл; аналітична чутливість тест-системи DIA-HIV-Ag/Ab за 1-м Міжнародним стандартом антигену HIV 1 p 24 (NIBSC, кд 90/636) має складати 0,7 МО/мл, за антигеном HIV 1 p 24 (ABI, США) — 2,5 пкг/мл. Діагностична чутливість тест-систем для тестування донорської крові на гепатити В, С, ВІЛ-1, ВІЛ-2, сифіліс має становити 100%. Специфічність тест-систем при тестуванні на стандартних панелях негативних сироваток повинна становити 100%. Аналізи мають проводитися згідно з інструкцією, що додається до набору реактивів.

Виробник тестів повинен надати сертифікат якості та документи, які містять результати контрольних аналізів даного тесту.

Перед застосуванням усі тести мають пройти випробування згідно з їх призначенням. Крім того, випробування має пройти усе обладнання й апаратура, яку періодично слід калібрувати та обов'язково залучати до її огляду представників сервісної служби. Усі нові методики та їх модифікації також мають пройти випробування перед їх упровадженням у повсякденну роботу.

Особливу увагу слід приділяти питанням підготовки персоналу, оцінці компетентності осіб, які ці навчання проводять. Особливо важливим є моніторинг умов зберігання тестів та інших матеріалів, необхідних для виконання аналізів. Дотримання цих умов має бути підтверджене відповідними документами.

Суттєвим є дотримання критеріїв придатності тесту. Негативний і позитивний контроль (ці реагенти входять до складу набору реактивів) слід використовувати для кожної пластинки або серії визначень. Результати контролю слід звіряти з критеріями, зазначеними у супровідній документації.

До зразків крові, результати аналізів яких на початку виявились реактивними, слід застосувати повторне двократне тестування тим самими методом (якщо тільки виробник у супровідній документації не рекомендує діяти інакше). Якщо якийсь із результатів повторного аналізу оцінений як позитивний, таку донацію слід визнати повторно-позитивною і зразок крові з цієї донації необхідно передати для підтвердження в лабораторію, яка виконує підтверджувальні аналізи. Таку дозу крові або компонентів не можна використовувати для трансфузій.

8.1.1. Первинні аналізи

Первинні аналізи виконуються за допомогою серологічних методик та методик молекулярної біології (NAT — Nucleic Acid Test).

1. Носіїв вірусу гепатиту В ідентифікують шляхом виявлення HBsAg методами ІФА чи ІХЛА, та/або ДНК HBV.
2. Носіїв вірусу гепатиту С ідентифікують шляхом виявлення антитіл анти-HCV методами ІФА чи ІХЛА та/або РНК HCV.
3. Носіїв вірусу ВІЛ ідентифікують шляхом виявлення антитіл анти-ВІЛ-1, ВІЛ-2 методами ІФА чи ІХЛА та/або РНК ВІЛ.
4. Осіб, заражених сифілісом, ідентифікують шляхом виявлення антитіл до антигенів блідої спірохети методами ІФА або ІХЛА.

Первинні (скринінгові) аналізи з використанням серологічних методик в імуноферментному чи хемолюмінісцентному аналізах виконуються в усіх ЗСК.

Первинні аналізи з використанням методик NAT можуть виконуватися ЗСК за наявності необхідного обладнання та тест-систем.

8.1.2. Підтверджувальні, або верифікаційні дослідження

Позитивні результати первинних аналізів вимагають виконання досліджень, які б підтверджували специфічність цих результатів, або додаткових аналізів, та дозволили б точніше визначити статус донора. Такі аналізи слід проводити як для донорів резерву, так і для кадрових донорів.

Сфера підтверджувальних аналізів для різних окремих маркерів різна. Вона може змінюватися залежно від рівня медичних знань стосовно вірулентності цих збудників. Рішення щодо сфери підтверджувальних аналізів, які мають бути проведені для донора, ухвалює відповідна лабораторія і здійснює ці аналізи належним чином, щоб на їх підставі можна було вирішити подальшу долю донора.

Підтвердження результатів первинних аналізів здійснюють для всіх донорів із повторнореактивними результатами серологічних (первинних) тестів, що виявляють:

– HBsAg — шляхом виконання тесту нейтралізації та ДНК HBV (аналізи виконує ЗСК або інша профільна лабораторія);

– анти-HCV— шляхом виявлення РНК HCV (аналізи виконує ЗСК або інша профільна лабораторія);

– анти-ВІЛ — шляхом виявлення РНК ВІЛ та підтвердження специфічності антитіл тестом типу Western Blot (аналізи виконує лабораторія в ОЦПБС);

– сифілітичні антитіла — шляхом підтвердження специфічності антитіл (РІТ, РІФ, аналізи виконує референс-лабораторія ШВД).

8.1.3. Взяття зразків крові для аналізів

Зразки крові для аналізів інфекційних агентів мають братися з венепункції, з якої проводиться донація, під час або після її закінчення в одноразові пробірки. Об’єм плазми має бути достатнім для виконання всіх вірусологічних аналізів і для виготовлення архівних зразків. Слід зберігати по 1 зразку з кожної донації, щоб кінцевий об’єм становив щонайменше 1 мл; необхідно, щоб ці зразки могли бути легко ідентифіковані і швидко знайдені в морозильниках. Слід також прагнути зберігати зразки таким чином, щоб у випадку взяття одного з них, інші не розморозилися. Заморожені зразки мають зберігатися щонайменше 2 роки за температури від –30 до –40 °С у морозильних камерах, які систематично проходять контроль та випробування. Архівувати слід усі донації, що показали позитивні результати серологічних тестів. Зразки плазми для аналізів NAT та для підтвердження аналізів у ЗСК слід заготовляти у вакуумні пробірки з EDTA та розподільчим гелем і в них же доставляти на дослідження (такі пробірки спеціально призначені для вірусологічних аналізів за методиками молекулярної біології). Пробірки повинні забезпечувати стабільність генетичного матеріалу вірусу на період від моменту взяття до моменту закінчення аналізів. Лабораторія, що виконує вірусологічні аналізи, зобов’язана визначити і дотримуватись певних умов (час і температура), в яких мають зберігати і транспортувати зразки. Ці умови мають узгоджуватися з рекомендаціями виробників тестів, які застосовуються для виявлення генетичного матеріалу вірусів. Дотримання цих умов має підтверджуватися відповідними протоколами. Слід зазначити, що рекомендації стосовно зберігання і транспортування зразків, розроблені лабораторією молекулярної біології, можуть різнитися для окремих постачальників. Ці рекомендації залежать від відстані та способу транспортування і частоти доставки зразків. Слід уникати заморожування й розморожування зразків. Категорично заборонене багаторазове заморожування і розморожування зразків.

У разі заготівлі зразка у невідповідну пробірку або недостатнього об’єму, допускається взяти плазму або сироватку для аналізів інфекційних агентів із зразків, призначених для інших аналізів, або безпосередньо з контейнерів.

8.2. Серологічні аналізи

8.2.1. Алгоритми дій: загальні принципи для первинних серологічних аналізів на віруси і на сифіліс

Після отримання позитивного результату серологічного первинного тесту, який виявляє маркери вірусів, слід наступного дня (якщо зразки є свіжими) або в той самий день (якщо зразки були взяті

напередодні) знову провести той самий тест на матеріалі того самого зразка крові донора, у двох повтореннях. Якщо в обох повтореннях отримано негативний результат, донора слід зарахувати у групу без серологічних маркерів. Зразок такої плазми слід проаналізувати за методикою NAT.

Якщо результат хоча б одного з повторень первинного тесту дорівнює/перевищує значення *cutoff*, то його визначають як повторнореактивний. Результати досліджень таких донорів повинні бути направлені на підтвердження згідно з принципами, описаними нижче (пп. 8.3, 8.3.1–8.3.4, табл. 8.1–8.3).

Якщо визначення на матеріалі того самого зразка виконувалися багаторазово, то документація має містити результати всіх визначень, а також інформацію про те, котрий саме результат визнано остаточним, і опис подальших дій.

Кров та її клітинні компоненти, заготовлені від донорів із повторнореактивними результатами первинного тесту, мають бути знищені. У випадку донації з повторнореактивним результатом первинного тесту на сифіліс — плазму також необхідно знищити.

У разі підтвердження зараження вірусом ВІЛ за відсутності ідентифікаційного коду, слід вказувати також ім'я, по батькові та адресу донора.

8.2.2. Принципи виконання серологічних аналізів на віруси

Первинні аналізи з використанням серологічних методів, призначених для виявлення окремих вірусних маркерів, слід виконувати чітко за інструкцією виробника застосовуваних реактивів. Результати інтерпретувати також слід згідно з інструкцією виробника.

В усіх ЗСК, де проводяться вірусологічні аналізи з використанням цього тесту, всі серії первинних аналізів мають доповнюватися позитивним контролем. Лабораторія аналізів інфекційних агентів має мінімум двічі на рік брати участь у міжлабораторних програмах якості аналізів.

У серологічних аналізах маркерів вірусів методом ІХЛА не діє «сіра зона». Усі зразки, у яких показник S/CO перевищує або дорівнює 1, слід визнати реактивними, тоді як зразки з показником S/CO < 1 слід визнати негативними.

8.2.3. Первинні аналізи на предмет зараження сифілісом

Первинні аналізи на предмет зараження сифілісом мають на меті виявлення в сироватці донорів антитіл, які свідчать про зараження блідою спірохетою. Такі аналізи роблять на матеріалі зразка, взятого під час донації.

Після отримання повторнореактивного результату первинного тесту кров, клітинні компоненти та плазму, що походять від донора з підозрою на зараження, слід знищити. Персональні дані донора слід надіслати до ШВД.

8.3. Підтвердження аналізів зразків, що дали позитивні результати у серологічних тестах

Підтвердження аналізів здійснюються для зразків плазми донорів із повторнореактивними результатами первинних тестів. Мета таких аналізів — підтвердження або виключення зараження. Для вірусу ВІЛ такі аналізи здійснює ОЦПБС. Для вірусів гепатиту С і гепатиту В допускається виконання підтверджувальних аналізів на РНК HCV та ДНК HBV у ЗСК та інших профільних лабораторіях. Підтверджувальні аналізи на предмет зараження сифілісом виконує серологічна лабораторія ШВД.

Вказівка «повторний контроль за 12 місяців» означає, що цей донор через 12 місяців має пройти контроль в ОЦПБС.

8.3.1. Передача зразків на підтверджувальні аналізи

ЗСК має направляти зразки на підтверджувальні аналізи з дотриманням відповідних умов. До місця призначення зразки мають доставлятися в замороженому стані. Особа, яка отримує надісланий матеріал на підтвердження результатів, у супровідній документації повинна описати стан, у якому одержані зразки.

8.3.2. Антиген гепатиту В

Після отримання позитивного результату в первинному тесті слід діяти згідно з рекомендаціями, викладеними в таблиці 8.1. Для підтвердження повторнореактивного результату слід виконати аналізи за допомогою спеціального набору реактивів, який називається тестом підтвердження. Результат інтерпретувати згідно з рекомендаціями фірми-виробника. Якщо в тесті підтвердження антиген не вступає в реакцію нейтралізації, то, найімовірніше, в первинному тесті було отримано неспецифічні реакції. У такому разі слід провести аналіз ДНК HBV в окремій донації (якщо цього не було виконано); у разі позитивного результату — донор підлягає постійній дискваліфікації; якщо ж результат негативний — донора слід відсторонити від здачі крові на 12 місяців, доки не зникнуть неспецифічні реакції. Цей результат може бути обумовлений недавнім щепленням донора вакциною, яка містить антиген HBs; така реакція може негативуватись через тиждень, хоча тривалість перебування у кровообігу антигену HBs із вакцини на сьогодні остаточно не встановлена: вона може залежати від індивідуальних чинників щепленої людини, від різновиду вакцини тощо. Тому позитивні результати тесту HBsAg, що підтверджуються тестом нейтралізації, при негативних результатах аналізу ДНК HBV у донора, який нещодавно пройшов щеплення, слід завжди аналізувати індивідуально.

Якщо неспецифічні реакції тримаються довше — можна раз на рік здійснювати контроль досліджень цього донора.

Таблиця 8.1

Обов'язкові дії після виявлення в первинному тесті позитивного результату HBsAg

Аналізи у ЗСК		**Підтверджувальні аналізи у ЗСК**		**Дії з донором**
Результат повторного тесту	**Дії з кров'ю та її компонентами**	**Вірусологічні аналізи**	**Результат**	
Негативний/ Негативний	Допустити до використання		–	Донор не є носієм HBV, може здавати кров
Реактивний/ Реактивний або Реактивний/ Негативний	• Знищити клітинні компоненти • Помістити всі доступні зразки і контейнери з плазмою у безпечне місце до закінчення підтверджувальних дій або до дискваліфікації донора, після чого контейнери знищити • Якщо результати підтверджувальних аналізів указують на зараження HBV — виконати аналіз ДНК HBV на матеріалі нинішньої та попередніх донацій	Виконати тест підтвердження на матеріалі того самого зразка	Позитивний	Імовірно, донор є носієм HBV, якщо тільки не сталася помилка щодо донора або реактивний результат HBsAg не спричинений щепленням. З'ясувавши обидві ці можливості, якщо донор є носієм вірусу — ухвалити рішення про постійну дискваліфікацію
			Такий, що не піддається нейтралізації	Донор не є носієм HBV, оскільки в нього не виявлено ДНК HBV. Донор повинен бути відсторонений від здачі крові на 12 місяців. Після закінчення цього періоду слід виконати повторні аналізи HBsAg і ДНК HBV з окремої донації. До здачі крові донора можна допустити після отримання негативних результатів. Якщо позитивна реакція тримається мінімум 1 рік — ЗСК може виключити донора з Реєстру донорів, не вносячи його однак до списку осіб із підтвердженим зараженням

8.3.3. Антитіла анти-HCV

Для донорів, у яких в первинному тесті виявлено антитіла анти-HCV, слід провести підтверджувальні аналізи. Позитивні результати аналізів РНК HCV свідчать, що донор заражений вірусом і повинен бути дискваліфікований на постійний термін у всіх ЗСК.

У випадку, коли додатковий тест дає сумнівний результат, донор потребує подальшого нагляду, який має проводитися кожні 12 місяців, та тимчасового відсторонення від здачі крові. У випадку

невиявлення РНК HCV і отримання упродовж 1 року повторнореактивних результатів серологічних тестів та/або сумнівних результатів додаткового тесту, ЗСК може дискваліфікувати донора.

Таблиця 8.2

Обов'язкові дії після виявлення в первинному тесті позитивного результату анти-HCV

Аналізи ЗСК		**Підтверджувальні аналізи в ЗСК**		**Дії з донором**
Результат повторного тесту	**Дії з кров'ю та її компонентами**	**Результат тесту РНК HCV**	**Результат додаткового тесту**	
Негативний/ Негативний	Допустити до використання	–		Донор не є носієм HCV, може здавати кров
Реактивний/ Реактивний або Реактивний/ Негативний	• Знищити клітинні компоненти • Помістити всі доступні зразки і контейнери з плазмою у безпечне місце — до закінчення підтверджувальних результатів або до дискваліфікації донора, після чого контейнери знищити • Якщо результати підтверджувальних аналізів негативні — знищити збережені контейнери з плазмою	Позитивний	Не виконується	Донор є носієм HCV. Має бути дискваліфікований постійно і направлений до лікаря-терапевта
		Негативний	Позитивний	Має бути дискваліфікований постійно і направлений до лікаря-терапевта
			Сумнівний	Можливо, донор є носієм HCV. Слід дискваліфікувати його на 12 місяців, після чого повторити первинний тест. Якщо реактивний результат цього тесту та/або сумнівний результат додаткового тесту виявляється упродовж 1 року — ЗСК може вилучити донора з Реєстру донорів
			Негативний	Найімовірніше, донор не є носієм HCV. Якщо реактивний результат первинного тесту (при негативному результаті додаткового тесту) виявляється упродовж 1 року — ЗСК може вилучити донора з Реєстру донорів. До здачі крові донор може бути допущений після отримання негативних результатів тестів — первинного, РНК HCV та додаткового

Негативний результат додаткового тесту дозволяє зробити висновок, що донор є здоровим, але з огляду на наявність неспецифічних антитіл його кров не може використовуватися в лікувальних цілях. З огляду на це донор має бути дискваліфікований на 12 місяців. У такій ситуації слід для інформування донора використати бланк за Зразком №8.2. Якщо неспецифічні реакції виявляються й надалі — слід кожні 12 місяців проводити нагляд. До здачі крові донор може бути допущений виключно за умови відсутності в нього РНК HCV, а також невиявлення антитіл анти-HCV у первинному і додатковому тестах.

8.3.4. Антитіла анти-ВІЛ

Якщо виявлено мінімум 2 реактивні результати первинного тесту, то до ОЦПБС треба надіслати зразок крові для виконання аналізів, які мають підтвердити зараження в тесті Western Blot (WB) та/або РНК ВІЛ.

Виявлення РНК ВІЛ та/або позитивний результат тесту WB у зразку, надісланому для підтвердження, вказують на зараження вірусом ВІЛ.

Якщо РНК ВІЛ не виявлено, а результати WB є сумнівними та/або результати первинного тесту є повторнореактивними — донор має проходити контрольні аналізи кожні 12 місяців (починаючи від першого взяття або останніх підтверджених аналізів); приймати рішення стосовно слід відповідно рекомендацій ОЦПБС.

Якщо два наступні аналізи WB, проведені в межах року, дають сумнівні результати, ЗСК може дискваліфікувати донора на постійний термін.

Таблиця 8.3

Обов'язкові дії після виявлення в первинному тесті позитивного результату анти-ВІЛ-1, ВІЛ-2

Аналізи у ЗСК		Аналізи в ОЦПБС	Дії з донором
Результат повторного тесту	**Дії з кров'ю та її компонентами**	**Результат Western Blot та/або РНК ВІЛ**	
Негативний/ Негативний	Допустити до використання	–	Донор не є носієм ВІЛ, може здавати кров
Реактивний/ Реактивний або Реактивний/ Негативний	• Знищити всі доступні зразки і контейнери з плазмою і клітинними компонентами • Якщо результат укаже на зараження ВІЛ — надіслати зразки з попередніх донацій до ОЦПБС • Якщо результат підтверджувальних тестів виявиться негативним — знищити всі збережені контейнери та зразки • Якщо результат підтверджувальних тестів буде сумнівним — зразки і контейнери слід знищити	РНК ВІЛ позитивний / Western Blot негативний, сумнівний або позитивний	Донор є носієм ВІЛ. Має бути дискваліфікований на постійний термін
		РНК ВІЛ негативний / Western Blot сумнівний або негативний	Найімовірніше, результат первинного тесту — неспецифічний. Діяти слід згідно з рекомендаціями. Якщо реактивний результат оглядового тесту або сумнівний результат тесту Western Blot втримується упродовж 1 року — ЗСК може вилучити донора з Реєстру донорів. Після отримання негативного результату первинного тесту (виконаного щонайменше через 12 місяців після останніх підтверджувальних аналізів) донор може здавати кров (при повторному підтвердженні аналізів в ОЦПБС), якщо тільки результати попередніх аналізів РНК ВІЛ та Western Blot були негативними

Якщо результати тестів WB та РНК ВІЛ є негативними, донор може здавати кров за умови, якщо результат первинного тесту, проведеного ОЦПБС щонайменше через 12 місяців після останньої донації, є негативним. Якщо після цього терміну результат первинного тесту й досі є повторнореактивним, цього донора слід вилучити з Реєстру донорів (п. 8.5). До здачі крові донор може бути допущений після отримання негативних результатів тестів — первинного, РНК ВІЛ та WB.

Працівники ЗСК зобов'язані суворо дотримуватися правила про збереження таємниці. Не можна надавати жодної інформації про виявлене зараження ВІЛ ані донорові, ані іншим особам (це робить виключно ОЦПБС).

8.3.5. Сифілітичні антитіла

Повторнореактивний результат первинного тесту рекомендовано підтверджувати одним із таких тестів: РІТ, РІФ, ТРНА, FTA або WB.

Після отримання негативних результатів підтверджувальних аналізів і після виключення хворобливого стану — неспецифічно реактивних результатів слід періодично повторювати аналізи. Донор може здавати кров після отримання негативних результатів первинних тестів, якщо раніше він не переніс зараження сифілісом.

8.4. Аналізи з використанням методик молекулярної біології

У ЗСК бажано методами молекулярної біології (NAT) здійснювати аналізи на наявність РНК ВІЛ, РНК HCV та ДНК HBV у плазмі.

Первинні аналізи:

– аналізи на РНК ВІЛ, РНК HCV та ДНК HBV здійснюють для всіх донорів, у яких не виявлено серологічних маркерів зараження HBV, HCV, ВІЛ та сифілісом (аналізи виконують у пулах

плазми або в окремих донаціях; якщо аналізи NAT виконуються в окремих зразках, то можна їх робити для всіх донорів, не зважаючи на результати серологічних аналізів і на результати AlAT). Аналізи можна виконувати за допомогою тестів типу Multiplex, які виявляють одночасно генетичний матеріал кількох вірусів. На наступному етапі аналізів установлюють, який саме вірус присутній у зразку.

Молекулярні аналізи також проводять для підтвердження результатів визначень серологічних маркерів анти-ВІЛ, анти-HCV та HBsAg. Такі аналізи завжди виконують в окремих зразках.

Допущені до використання тести повинні мати таку чутливість, щоб застосовувана система молекулярних аналізів виявляла у плазмі донора принаймні 5000 МО РНК HCV/мл і 10000 МО РНК ВІЛ/мл. Випробування чутливості тесту мають бути здійснені за стандартами Всесвітньої організації охорони здоров'я.

Дослідження методами молекулярної біології, призначеними для виявлення окремих маркерів, та інтерпретацію результатів слід проводити, суворо дотримуючись інструкції виробника реактивів. У всіх ЗСК, які виконують аналізи за допомогою даного тесту, кожну серію первинних аналізів треба доповнювати одним і тим самим позитивним контролем.

8.4.1. Первинні аналізи NAT в окремих донаціях

Якщо тест Multiplex на предмет РНК HCV, ДНК HBV та РНК ВІЛ у донорів, у яких не виявлено серологічних маркерів, дає реактивний результат — слід, по-перше, двічі повторити аналіз за допомогою цього самого тесту, а по-друге, — незалежно від результатів повторних аналізів виконати диференційні тести.

1. Якщо результат обох повторень первинного тесту і результати диференційних тестів є негативними — єдиний реактивний результат первинного тесту слід визнати хибним, а результат аналізу зразка — негативним (не виявлено ні РНК HCV, ні ДНК HBV, ні РНК ВІЛ-1). Компоненти крові цього донора можна кваліфікувати для використання в лікувальних цілях.
2. Донори з позитивними результатами тестів на ДНК HBV, РНК HCV та РНК ВІЛ мають бути дискваліфіковані на постійний термін. Кров та клітинні компоненти, взяті у донорів із позитивними результатами тестів NAT, мають бути знищені.
3. Якщо результати серологічних тестів є повторнореактивними — з донором слід чинити так, як описано у пп. 8.3, 8.3.1–8.3.4.

8.4.2. Первинні аналізи NAT на матеріалі об'єднаних у пул зразків багатьох донорів

Якщо отримано реактивний результат тесту Multiplex у пулі плазми — слід до з'ясування ситуації затримати всі донації, які увійшли до складу пулу, доки не вдасться ідентифікувати реактивну донацію й довести, що всі інші донації, які входили до складу пулу, не містять маркерів інфекції. Після отримання цих відомостей негативні донації слід передати у використання, а також установити, який саме вірус присутній у плазмі реактивної донації.

З метою ідентифікування реактивної донації слід здійснити аналізи окремих зразків за допомогою тесту Multiplex.

1. Якщо результати аналізів окремих зразків є негативними і результати серологічних тестів є негативними також — початковий результат слід визнати псевдореактивним.
2. Якщо результат тесту Multiplex в окремому зразку є реактивним, а результати серологічних тестів є негативними — наявні зразки цієї донації слід надіслати до ОЦПБС. Слід додати детальну документацію всіх аналізів цієї донації з усіма повтореннями. У зразках слід виконати аналізи за допомогою тестів NAT, які дозволяють ідентифікувати РНК HCV, ДНК HBV та РНК ВІЛ. Якщо аналізи виконувала лабораторія, яка проводить первинні аналізи NAT, — результати і документацію цих аналізів слід надіслати до ОЦПБС разом зі зразком для підтвердження.
3. Донори з підтвердженими позитивними результатами тестів на ДНК HBV, РНК HCV та РНК ВІЛ мають бути дискваліфіковані на постійний термін. Кров та клітинні компоненти, взяті у донорів із позитивними результатами тестів NAT, мають бути знищені.
4. Якщо результати серологічних тестів є повторнореактивними — з донором слід чинити так, як описано у пп. 8.3, 8.3.1–8.3.4.

8.4.3. Загальні принципи організації роботи лабораторії молекулярної біології

Висока чутливість методів молекулярної біології, схильність нуклеїнових кислот (особливо РНК) до деградації, можливість уповільнення реакції ампліфікації нуклеїнових кислот агентами, наявними в аналізованому зразку, — ось ті причини, які диктують необхідність суворого дотримання чітких правил поведінки в лабораторії молекулярної біології.

Аналізи має виконувати висококваліфікований персонал; недопустимо, щоб аналізи робили працівники з інших лабораторій. Під час проведення аналізу працівників, які його виконують, не можна відривати від цієї роботи для виконання інших дій. Вхід до лабораторії має бути обмежений.

Важливо також дбати про якість матеріалу, який надходить на аналізи, бо вже на етапі взяття зразків існує ризик забруднення зразка чужим матеріалом.

Якщо аналізи виконуються мануальними методиками — слід дотримуватися спеціальних рекомендацій про умови щодо приміщення та організації роботи (п. 8.4.4).

8.4.4. Вимоги до приміщення та обладнання лабораторії аналізів плазми методами молекулярної біології (якщо аналізи виконуються мануальними або напівавтоматичними методами)

З огляду на ризик забруднення аналітичного матеріалу фрагментами ДНК або РНК, що залишилися з попередніх реакцій ПЦР або ТМА, необхідно виділити достатню площу у лабораторії та відповідним чином організувати роботу. Рекомендовано, щоб ізолювання генетичного матеріалу та ампліфікація/детекція відбувалися як мінімум у двох окремих приміщеннях. Усі дії слід виконувати в одноразових рукавичках без тальку, оскільки тальк є абсолютним переносником генетичного матеріалу та ензимів, які спричиняють деградацію нуклеїнових кислот. Жодні матеріали, реактиви й обладнання не повинні переноситися з приміщення для ампліфікації та детекції генетичного матеріалу до інших приміщень. Рекомендовано також у кожному приміщенні вдягати інший фартух.

Для обробки обладнання й поверхонь столів слід щоденно (перед роботою та після її закінчення) застосовувати 0,5% гіпохлорит натрію або інші дезінфектанти відповідно до вимог виробників. Додатково для очищення поверхонь, обладнання й апаратури можна застосовувати відповідні рідини, наприклад, Aerodesin 2000, DNA-away. Для прибирання приміщень, в яких матеріал перебуває до і після ампліфікації, використовують окремий інвентар.

Приміщення можна провітрювати, відкриваючи вікна, якщо тільки канали кондиціювання або вентиляції доампліфікаційних і післяампліфікаційних приміщень не розміщені поряд або в безпосередній близькості.

8.4.5. Матеріал для аналізів NAT

Матеріалом для аналізів є плазма, отримана зі зразка крові, взятого у вакуумну пробірку, спеціально призначену для аналізів методами молекулярної біології (пробірка має містити EDTA та сепаруючий гель). Застосування закритої системи дозволяє уникнути маніпуляцій, пов'язаних із відокремленням аналітичного матеріалу, адже такі маніпуляції підвищують ризик отримання хибних результатів. Забруднюючим матеріалом можуть бути фрагменти епідермісу, крапельки слини тощо, які можуть походити як від іншого донора, так і від лаборанта. Пробірки з гепарином у ролі антикоагулянту застосовуватися не можуть, оскільки гепарин уповільнює процес ампліфікації нуклеїнових кислот.

Об'єм плазми у пробірці має відповідати вимогам тих тестів, які застосовуються в аналізах NAT. Слід також враховувати необхідність повторних аналізів та необхідність залишати плазму для архівування. До моменту виконання всіх оглядових аналізів NAT вихідні пробірки слід зберігати у холодильнику. Якщо зразки мають транспортуватися до місця, в якому буде здійснюватися визначення, — транспортування має відбуватися при температурі холодильника (2–6 °С) або ж у замороженому стані, якщо зразки були раніше заморожені. Транспортний контейнер слід обладнати термометром, для того щоб відповідальна особа, яка доставляє зразки, могла на супровідному формулярі зафіксувати початкову температуру, а відповідальна особа, яка зразки приймає, — кінцеву. Протоколи контролю температури під час транспортування зразків слід передати в архів.

Зразки для аналізів не повинні багаторазово заморожуватися і розморожуватися: кожне розморожування спричиняє падіння концентрації вірусу у плазмі. Цей факт слід враховувати, плануючи

роботу; треба також зважати, що у випадку отримання в пулі плазми реактивного результату неминучими будуть значні часозатратні аналізи для ідентифікації позитивної донації. Аналізи мають бути завершені не пізніше ніж через 5 днів після взяття зразка, а у випадку заморожування зразка після взяття — протягом 5 днів із моменту розмороження.

8.4.6. Проведення молекулярних аналізів: підготовчі дії

Зразки, що отримуються для аналізів, мають супроводжуватися відповідною документацією, яка містить дату їх виготовлення, інформацію про кількість зразків, доставлених для аналізів, номери надісланих зразків (вони мають відповідати номерам донацій) та підпис особи, відповідальної за документацію. Треба перевірити відповідність документації отриманим зразкам і, якщо все співпадає, підтвердити це підписом.

Прийом зразків на аналізи має бути підтверджений протоколом, який містить дату отримання зразків, їх кількість, можливі зауваження та підпис відповідальної особи, яка приймає зразки. Якщо аналізи або пулювання з подальшими аналізами NAT не планується проводити одразу, то, залежно від стану плазми і запланованого часу початку аналізів, зразки слід помістити в холодильник (температура 2–6 °С) або у морозильник (температура мінімум –20 °С). Якщо зразки перебувають у морозильнику, то перед виконанням аналізів їх слід розморозити у холодильнику або при кімнатній температурі. Перш ніж починати піпетування, треба довести плазму до кімнатної температури.

Пробірки з плазмою слід належним чином підготувати до аналізів: здійснити візуальний контроль їх стану, зовнішнього вигляду плазми, розташування гелевого бар'єра. Недостатньо відцентрифуговані пробірки і пробірки з вираженим гемолізом слід вилучити. Якщо у пробірці є великі видимі згустки — їх можна вилучити з пробірки за допомогою одноразової піпетки (для кожної пробірки — окрема піпетка). Усі помічені аномалії мають бути зафіксовані у відповідному протоколі.

8.4.7. Постійний зовнішній контроль якості

Лабораторії, що виконують для донорів аналізи за методикою NAT, повинні постійно моніторити результати і якість своєї роботи шляхом:

– використання в кожній серії аналізів позитивного контрольного зразка;
– заповнення списку підтверджених позитивних результатів, разом із результатами інших аналізів, проведених для цих донорів.

Результати цих аналізів слід заносити у відповідні протоколи.

8.4.8. Підтверджувальні аналізи для донорів без серологічних маркерів із позитивними результатами тестів NAT

Підтверджувальні аналізи для донорів без серологічних маркерів, із позитивними або сумнівними результатами тестів NAT на ВІЛ-1 виконує ОЦПБС.

Метою підтверджувальних аналізів у донорів із виявленою РНК ВІЛ, але без виявлених антитіл, є підтвердження у нинішньому зразку і в повторно взятому зразку наявності РНК вірусу, а також підтвердження появи в донора відповідних антитіл. Аналіз антитіл у черговому зразку має бути спершу виконаний у ЗСК, і результат його має супроводжуватися направленням на підтвердження цих аналізів.

Таблиця 8.4

Сфера підтверджувальних аналізів для донорів без серологічних маркерів, із позитивними або сумнівними результатами тестів NAT

Вірус	Аналізи, що виконуються в ОЦПБС*		Мета аналізів
	Аналізовані зразки	Сфера аналізів	
ВІЛ	Зразок, узятий з контейнера із плазмою з донації РНК ВІЛ(+)/анти-ВІЛ(–)	РНК ВІЛ	Підтвердження результату і виключення можливості помилки щодо донора
	Зразок, узятий після виклику донора	РНК ВІЛ та антитіла анти-ВІЛ: ЕІА, WB	

Розділ 9
ЗБЕРІГАННЯ ТА ВИДАЧА КОМПОНЕНТІВ І ПРЕПАРАТІВ ПЛАЗМИ КРОВІ

ЗМІСТ

9.1. Зберігання компонентів та препаратів крові 275
9.1.1. Контроль умов зберігання компонентів та препаратів крові 275
9.1.2. Зберігання консервованої донорської крові та еритроцитовмісних компонентів 276
9.1.3. Зберігання плазми та кріопреципітату 276
9.1.4. Зберігання концентрату тромбоцитів 277
9.1.5. Зберігання препаратів крові 277
9.2. Принципи видачі компонентів, препаратів крові та реактивів 277
9.2.1. Видача компонентів та препаратів крові в ЗОЗ 277
9.2.2. Видача реактивів лабораторіям трансфузійної серології 279
9.2.3. Видача реактивів філіям ЗСК та ВТ 279
9.3. Документація з надходжень і видачі компонентів і препаратів крові 279
9.3.1. Обіг крові та її компонентів на території ЗСК 280
9.3.2. Документація з передачі крові та її компонентів до ЗОЗ 280
9.4. Прийом компонентів крові із відділень трансфузіології та філіалів 280
9.5. Повернення компонентів крові. Скарги 281
9.5.1. Повернення компонентів крові 281
9.5.2. Скарги щодо якості компонентів та препаратів крові 282
9.6. Транспортування компонентів та препаратів крові 282
9.7. Приймання зразків із територіальних відділень 283
9.8. Поточний контроль складських запасів компонентів та препаратів крові 283
9.9. Принципи функціонування лікарняних банків крові у ЗОЗ 283

Відділ експедиції може входити до організаційних структур закладу служби крові або функціонувати як самостійний відділ.

До завдань відділу експедиції входять:

– зберігання крові, її компонентів та препаратів;
– приймання замовлень на кров, її компоненти та препарати;
– видача компонентів та препаратів крові закладам охорони здоров'я та контроль за їх цільовим використанням;
– видача реактивів для серологічних аналізів закладам охорони здоров'я;
– видача підпорядкованим територіальним ВТ матеріалів та рідин для взяття крові, а також реактивів;
– здійснення контролю за дотриманням умов зберігання;
– своєчасне забезпечення підрозділів ЗСК якісною сировиною для виготовлення препаратів крові;
– приймання замовлень на компоненти та препарати крові з закладів охорони здоров'я;
– приймання та належне зберігання всіх матеріалів, що надсилаються до ЗСК, та передача їх відповідним відділам;
– ведення документації обліку надходження і видачі компонентів і препаратів крові;
– приймання повернень та скарг на компоненти та препарати крові з відділень трансфузіології та лікарняних банків крові;
– нагляд над забезпеченням належних умов зберігання і транспортування компонентів та препаратів крові;
– поточний контроль складських запасів та надання інформації щодо наявних запасів компонентів та препаратів крові;
– у разі відсутності потрібної крові або її компонентів у власних складських запасах — пошук їх здійснюється в інших ЗСК;
– надання консультативно-методичної допомоги з питань служби крові ЗОЗ.

Відділ експедиції працює цілодобово. Детальний розклад роботи персоналу, що виконує чергування, встановлює завідувач відділу експедиції. Завідувач відділу зобов'язаний складати звіт про хід чергування.

9.1. Зберігання компонентів та препаратів крові

9.1.1. Контроль умов зберігання компонентів та препаратів крові

Для зберігання компонентів та препаратів крові слід застосовувати спеціальне, призначене для цього обладнання, яке забезпечує належні умови зберігання. Усе обладнання для зберігання компонентів та препаратів крові повинне проходити особливий контроль.

1. Рекомендовано холодильне устаткування та інкубатори для зберігання концентрату тромбоцитів обладнати звуковим та візуальним сигналами тривоги. Контроль температур у цьому устаткуванні має відбуватися в постійному режимі (графічні записи, автоматичні роздруківки з певною періодичністю), а якщо це неможливо, то слід здійснювати такий контроль на підставі показань розміщених усередині вимірювачів температури (2 рази протягом доби) та систематично документувати результати.
2. Кожен прилад для зберігання компонентів та препаратів крові має бути обладнаний як мінімум двома незалежними вимірювачами температури, які повинні проходити періодичне калібрування згідно з рекомендаціями виробника.
3. Якщо пристрій обладнаний сигналом тривоги, то інструкція повинна містити відомості:
   – про допустимий діапазон температур;
   – температури, при яких запускається сигнал тривоги (межові температури);
   – часовий проміжок, після якого вмикається сигнал тривоги.
4. Кожен прилад для зберігання компонентів та препаратів крові повинен мати власну документацію моніторингу температур. Ця документація має містити:
   – ідентифікаційний номер приладу;
   – діапазон допустимої температури, сформований після проведених випробувань приладу;

– ідентифікаційний номер вимірювального пристрою (зонда тощо);
– дату і час контролю;
– значення температури на підставі показань 2-х вимірювачів;
– підпис/печатку особи, яка здійснює контроль.

У разі виявлення відхилень від належної температури, слід скласти протокол, який би пояснював причину наявної ситуації, а також описати вжиті запобіжні заходи, що мають відповідати рекомендаціям аварійної процедури. Цей протокол має містити зокрема такі відомості:

– дата, час;
– аварія термостатичного пристрою;
– вміст обладнання о годині _____ до пристрою № _____ ;
– підпис.

Усі пристрої для зберігання компонентів та препаратів крові мають проходити випробування, а періодично й повторні випробування.

9.1.2. Зберігання консервованої донорської крові та еритроцитовмісних компонентів

Консервовану донорську кров (КДК) та еритроцитовмісні компоненти (ЕК) слід зберігати за температури від 2 °С до 6 °С, виключно у призначених для цього холодильниках. Кров та її компоненти мають бути класифіковані за групами системами АВ0 та Rh та зберігатись в окремих холодильниках відповідно класифікації за системами АВ0 та Rh. Кожна доза компонентів має бути розміщена у вертикальному положенні для забезпечення вільної циркуляції повітря між контейнерами та проведення макрооцінки.

Слід ретельно розділити й закріпити постійні місця, призначені для зберігання еритроцитовмісних компонентів крові:

1) призначених для видачі («компоненти для видачі») ці компоненти, крім того, мають зберігатися в місцях, де мають розміщатися постійно за групами АВ0 та Rh;

2) невикористаних та повернених («зона повернення»);

3) без результатів аналізів («зона необстеженої крові»);

4) непридатних для переливання за строками («компоненти для знищення»);

5) непридатних для переливання, наприклад, прострочених, дискваліфікованих (відбракованих) із причин інфекції або з інших причин («зона крові для знищення»);

6) призначених для аутотрансфузій.

Доступ до компонентів, названих у підпунктах 2–4, має бути обмежений; ці компоненти не повинні перебувати в тих самих приміщеннях відділу експедиції, в яких перебувають компоненти, призначені для видачі.

9.1.3. Зберігання плазми та кріопреципітату

Усі різновиди плазми, а також кріопреципітат слід зберігати в морозильному обладнанні за температури –30 °С або нижчій. Залежно від температури зберігання, ці компоненти мають різний термін придатності:

– при температурі –30 °С і нижче — 36 місяців;

Ці компоненти мають бути класифіковані (із чітким зазначенням групи АВ0 та різновиду компонента) і мають зберігатися окремо.

Також окремо, у чітко визначених місцях, слід зберігати компоненти без результатів аналізів на інфекційні захворювання, компоненти після карантину, компоненти без карантину, а також компоненти, призначені для видачі.

Компоненти, призначені для знищення, також повинні перебувати в окремих пристроях, але їх необов’язково зберігати у замороженому стані.

9.1.4. Зберігання концентрату тромбоцитів

Концентрат тромбоцитів (КТ) має зберігатися при температурі від 20 °С до 24 °С, при постійному помішуванні (в обертовому або горизонтальному шейкері). Концентрат тромбоцитів мають зберігати у відділі заготівлі крові та її компонентів до отримання результатів тестування крові, а потім передавати для подальшого зберігання та видачі у відділ експедиції.

Шейкери та інкубатори мають проходити періодичні та повторні випробування.

9.1.5. Зберігання препаратів крові

Високоочищені концентрати факторів згортання крові слід зберігати згідно з рекомендаціями виробника (як правило, при температурі від 2 °С до 8 °С).

Препарати крові (альбумін та імуноглобуліни внутрішньовенного введення) слід зберігати згідно з рекомендаціями виробника (як правило, за кімнатної температури).

Імуноглобуліни для внутрішньом'язового застосування слід зберігати згідно з рекомендаціями виробника (як правило, при температурі від 2 °С до 8 °С).

9.2. Принципи видачі компонентів, препаратів крові та реактивів

9.2.1. Видача компонентів та препаратів крові в ЗОЗ

Компоненти та препарати крові видаються закладам охорони здоров'я на платній та безоплатній основі. Згідно з розпорядженням міністра охорони здоров'я кожен заклад служби крові повинен мати прейскурант на компоненти крові. Необхідно також мати прейскурант на послуги, пов'язані з виготовленням препаратів крові та її компонентів, а також прейскурант на лабораторні аналізи, що виконуються в межах консультації.

Компоненти крові можуть видаватися у ВТ ЗОЗ, лікарняні банки крові на ургент або за індивідуальним замовленням. Замовлення вміщує назви та кількість замовлених компонентів крові із зазначенням груп за системою АВ0 та Rh, має бути затверджене керівником закладу та лікуючим лікарем. Замовлення має бути доставлене до відділу експедиції, після чого одержувачу видається кров та її компоненти.

Замовлення (Зразок №9.1) має містити зокрема такі дані:

– дату;
– назву та адресу пункту-замовника;
– назву та кількість замовленого компонента крові;
– ім'я, прізвище хворого, його ідентифікаційний код (або дату народження, якщо реципієнт не має ідентифікаційного номера);
– групу крові хворого/групу замовленого компонента крові;
– відомості про імунні антитіла у хворого;
– клінічний діагноз;
– показання щодо переливання замовленого компонента крові;
– підпис та печатку лікаря-замовника.

Зразок №9.1

Заявка
на компоненти та препарати крові

В ЗСК Дата та час замовлення: «____» _____20__ р.

Лікувальний заклад_____відділення_____

ПІБ хворого _____вік_____стать_____

Група крові _____ Резус _____

Фенотип_____

Імунні антитіла _____

Район проживання_____

№ історії хвороби_____

Діагноз _____

_____

Показання до переливання_____

Гемоглобін _____Гематокрит _____АЧТЧ _____ МНВ _____ Загальний білок _____

№ з/п	Найменування трансфузійного середовища	Кількість	Група крові	Резус-фактор

Головний лікар _____

Лікар _____

(зворотна сторона)

Заявку виконано: ЗСК

Дата та час виконання замовлення: «____» _____ 20 __ р.

№ з/п	Найменування трансфузійного середовища	Реєстраційний номер	Кількість	Група крові	Резус-фактор	Місце заготовлі

Видав:

Одержав:

У невідкладних випадках, які потребують термінового виготовлення компонентів, замовлення здійснюється за телефонною заявкою (п. 9.3), з подальшим документальним підтвердженням її при отриманні компонентів та препаратів крові.

Особа, уповноважена видавати кров та її компоненти, зобов'язана щоразу здійснювати макроскопічне візуальне оцінювання компонентів, що видаються. Здійснюючи макроскопічне візуальне оцінювання еритроцитовмісних компонентів, слід звертати увагу:

– на герметичність контейнера;
– на ознаки гемолізу;
– на наявність згустків;
– на забарвлення вмісту.

Здійснюючи макроскопічне візуальне оцінювання плазми, слід особливу увагу звертати:

– на помутніння;
– на наявність згустків.

Здійснюючи макроскопічне візуальне оцінювання концентрату тромбоцитів, слід особливу увагу звертати на наявність агрегатів.

Компоненти крові, зовнішній вигляд яких викликає сумніви, має оцінювати завідувач відділу експедиції. Не можна видавати контейнери за наявності порушення вимог маркування.

Слід дотримуватися термінів придатності компонентів крові.

9.2.2. Видача реактивів лабораторіям трансфузійної серології

Лабораторії трансфузійної серології ЗОЗ, а також приватні лабораторії можуть на платній чи безоплатній основі замовляти в ЗСК діагностичні реактиви для імуногематологічних аналізів. Така співпраця відбувається на підставі підписання відповідної угоди, після отримання ЗСК замовлення на відповідні реактиви.

9.2.3. Видача реактивів філіям ЗСК та ВТ

Необхідні реактиви для всіх лабораторних аналізів, контейнери для взяття крові, набори та рідини для аферезу, а також усі інші матеріали та обладнання, потрібні для належного функціонування територіальних ВТ, повинні безоплатно доправлятися до цих відділень згідно з плановими запитами; спосіб і принципи надання матеріалів установлює керівник ЗСК.

9.3. Документація з надходжень і видачі компонентів і препаратів крові

Документація з обліку надходжень і видачі компонентів та препаратів крові має вестися в комп'ютерній системі та у відповідній документації, затвердженій діючою нормативною базою (паперові носії). Вона має містити зокрема такі відомості:

– дата надходження;
– назва, номер або серія, група крові, кількість компонента крові або препарату;
– підпис особи, яка приймає компонент або препарат крові;
– дата та час видачі;
– назва одержувача;
– прізвище реципієнта;
– підпис особи, яка видає компонент або препарат крові.

Крім того, необхідно видавати складські квитанції (квитанції надходжень/видачі), оригінали яких слід віддавати одержувачу разом із компонентом/препаратом крові, а копії зберігати в архіві закладу служби крові.

Відділ експедиції має також вести журнал телефонних замовлень, у якому мають записуватися всі телефонні замовлення (індивідуальні та ургентні) на компоненти та препарати крові. У цьому журналі мають бути вміщені такі основні відомості:

1) дата і година надходження замовлення;

2) відомості про заклад, який замовив компонент:

- назва закладу охорони здоров'я;
- відділення;
- контактний телефон,
- ПІБ лікаря, який замовив компонент;

3) відомості про хворого:

- ПІБ хворого;
- вік;
- діагноз;
- показання до переливання;

4) назва компонента, його кількість та група крові (за системами АВ0 та Rh, а можливо, й за іншими груповими системами);

5) визначений час отримання.

Виконання таких замовлень має відбуватися згідно з принципами, описаними у п. 9.2.1.

Таке замовлення має бути згодом доповнене і формальним замовленням.

Журнали телефонних замовлень та решта документації мають зберігатися та архівуватися відповідно до діючої нормативної бази. Документація відділу експедиції підлягає внутрішньому контролю. Правильність записів у журналах та/або документація в комп'ютерній системі мають перевірятися відділом забезпечення якості. Контроль за квитанціями надходжень/видачі здійснює бухгалтерія центру донорства.

Відділ експедиції зобов'язаний складати місячні та квартальні звіти з обліку надходження і видачі компонентів й препаратів крові.

9.3.1. Обіг крові та її компонентів на території ЗСК

Підставою для всіх розрахунків між окремими відділами/відділеннями ЗСК є квитанції надходжень/видачі. Окремі відділи/відділення мають передавати компоненти/препарати до відділу експедиції на підставі квитанцій, складених і підписаних уповноваженими працівниками окремих відділів/відділень.

Відділ експедиції зобов'язаний на підставі квитанцій надходжень вести картотеку, окрему для кожного компонента крові, з урахуванням поділу на групи АВ0 та Rh. Відділ експедиції також зобов'язаний вести документацію видачі компонентів і препаратів із відділу виготовлення препаратів ЗСК та документацію надходжень виготовлених компонентів крові.

9.3.2. Документація з передачі крові та її компонентів до ЗОЗ

Відділ експедиції видає компоненти та препарати крові ЗОЗ на підставі запиту разом із накладною. Бухгалтерія ЗСК на підставі накладної, отриманої із відділу експедиції, виписує видаткову накладну в 2-х примірниках на компоненти та препарати крові, підписану керівником та головним бухгалтером. Перший примірник повертається до ЗОЗ, другий є підставою для обліку та оплати у ЗСК. Підсумкові видатні накладні звіряються в кінці місяця згідно зі звітом відділу експедиції. Щоквартально складаються акти звірки.

9.4. Прийом компонентів крові із відділень трансфузіології та філіалів

На підставі накладної надходжень компонентів крові та супровідної документації бухгалтерія виписує прибуткову накладну на оприбуткування компонентів крові, які підписуються керівниками обох сторін.

9.5. Повернення компонентів крові. Скарги

9.5.1. Повернення компонентів крові

Повернення компонентів, препаратів крові можливе лише у виняткових випадках, при отриманні рекламації, як-то смерть пацієнта, для якого замовляли компоненти крові, або дуже рідкісний фенотип еритроцитів. Повернення може відбутися також і в інших обґрунтованих випадках, якщо на це дає згоду завідувач відділу експедиції.

Слід уникати повернення прострочених компонентів крові, компонентів у пошкоджених контейнерах або в контейнерах із порушенням вимог маркування. За їх утилізацію відповідає ЗОЗ. Повторно допущена до обігу може бути лише така доза, що зберігалася і транспортувалася належним чином: у відповідній температурі, при правильному контролі та використанні випробуваного холодильного устаткування.Повернення можуть прийматися лише з тих ЗОЗ, у яких ЗСК здійснив контроль і підтвердив це протоколом про відсутність порушень правил зберігання компонентів крові.

Приймати повернену продукцію можна лише на підставі правильно заповненого протоколу невикористання компонентів крові і повного протоколу зберігання/транспортування; при цьому візуальний контроль компонентів крові, здійснений працівником відділу експедиції, має дати позитивний результат. У такому разі завідувач відділу експедиції може ухвалити рішення про повторне допущення цього компонента крові до обігу. Це допущення слід підтвердити відповідним протоколом, який має містити дату, персональні дані й підпис особи, яка повертає компонент крові в обіг.

При поверненні компонентів та препаратів крові ЗОЗ зобов'язаний надати такі протоколи:

1. Протокол невикористання компонентів крові, що має містити дані:
   - назва та адреса пункту, який здійснює повернення;
   - назва компонента, що повертається, його номер, кількість, група крові;
   - причина невикористання компонента крові;
   - дата і час взяття компонента крові з ЗСК;
   - дата і час повернення компонента крові до ЗСК;
   - ім'я, прізвище, печатка, підпис керівника лікарняного банку крові або уповноваженої ним особи, яка здійснює повернення.

2. Протокол умов зберігання компонентів крові, що має містити дані:
   - назва, номер, група крові компонента крові;
   - назва лікарняного банку крові, у якому зберігався компонент крові;
   - час зберігання при кімнатній температурі (від — до);
   - умови зберігання:
   - температура зберігання;
   - назва і номер холодильника, морозильника (якщо потрібно);
   - час зберігання в холодильнику/морозильнику (від — до);
   - копії протоколів контролю температури в період зберігання компонента крові;
   - дата і номер протоколу випробувань температури установки, в якій зберігався компонент крові, або спеціалізований індикатор на контейнері, що підтверджує правильність умов зберігання;
   - дата, підпис, печатка особи, яка складає протокол.

3. Протокол умов транспортування компонентів та препаратів крові.

Якщо компоненти та препарати крові перевозилися до ЗОЗ або з нього транспортними засобами, не підпорядкованими ЗСК, то заклад, який здійснює повернення, зобов'язаний також надати протокол умов транспортування. Цей протокол повинен містити такі дані (у разі потреби вони мають стосуватися умов транспортування в обидва боки):

- назва та адреса ЗОЗ, який замовляв/повертає компоненти або препарати (і відповідає за забезпечення належних умов транспортування);
- назва, номер, група крові компонента, серія препарату крові;
- тривалість перевезення (від — до);
- умови транспортування:

- температура;
- детальний опис транспортувального пристрою, який забезпечує належну температуру транспортування;
- копія протоколу контролю температури транспортування;
- дата і номер протоколу випробувань температури транспортувального пристрою, у якому перевозився компонент крові;
- дата, підпис, печатка особи, яка складає протокол.

9.5.2. Скарги щодо якості компонентів та препаратів крові

У випадку задоволення скарги відділ експедиції зобов'язаний безоплатно видати замість повернутого компонента інший, рівнозначний йому компонент.

У випадку скарги на компоненти крові, ЗОЗ зобов'язаний надати протокол скарги, який має містити:

- протокол невикористання компонентів крові;
- протокол умов зберігання компонентів крові;
- протокол умов транспортування компонентів крові (складається у випадку, якщо компоненти крові перевозилися транспортними засобами, не підпорядкованими ЗСК).

Ці протоколи повинні містити як мінімум дані, наведені у п. 9.5.1.

9.6. Транспортування компонентів та препаратів крові

Організацію та контроль транспортування компонентів/препаратів крові в ЗОЗ забезпечує ЗСК. Компоненти, препарати крові можуть перевозитися до ЗОЗ транспортними засобами одержувача або ж транспортними засобами, які належать ЗСК, чи орендованими ЗСК; за забезпечення належних умов транспортування та за їх контроль відповідає організатор транспортування.

Умови транспортування компонентів крові описано у Розділі 6 «Виготовлення препаратів крові та її компонентів», при цьому слід систематично контролювати і документувати температуру під час транспортування; умови транспортування мають відповідати певним вимогам, і цю відповідність слід періодично перевіряти.

Найкращим рішенням для підтримання потрібної температури під час транспортування є використання спеціально для цього пристосованих автомобілів-холодильників (температура від 2 °С до 10 °С) або автомобілів-морозильників (температура –18 °С і нижча), обладнаних власними охолоджувальними агрегатами, а також власними системами контролювання та запису температури.

Для перевезення невеликих кількостей компонентів крові можна використовувати портативні холодильники або морозильники з живленням від акумулятора автомашини. Якщо їх немає, слід використовувати транспортувальний контейнер з ізоляцією, заповнений охолоджувальними вкладками (для транспортування еритроцитовмісних компонентів) або стабільним діоксидом вуглецю, так званим «сухим льодом» (для транспортування плазми та кріопреципітату).

Якщо портативна холодильна установка не обладнана власним датчиком температури, то в безпосередній близькості від транспортованого компонента крові слід розмістити термометр і зафіксувати температуру через 5 хв. від моменту поміщення компонента в ізотермічний контейнер та температуру після завершення транспортування.

Щоразу слід складати протокол контролю температури транспортування. Для цього слід використовувати формуляр, заповнювати який має і ЗСК, що видає кров та її компоненти, і ЗОЗ. Цей протокол має містити такі дані:

- назва та адреса пункту, що видає кров та її компоненти;
- назва, номер(и) компонента(-ів) крові;
- день та час видачі;
- температура, зафіксована через 5 хв. від моменту вміщення компонента у транспортувальний контейнер;
- опис транспортувальної холодильної установки (із зазначенням кількості та різновиду додаткового охолоджувального матеріалу, а також номера датчика температури, якщо потрібно);

– дата, підпис, печатка особи, яка видає компонент(и) крові;
– ім'я та прізвище водія, а також різновид транспортного засобу;
– назва та адреса споживача;
– день та час доставки компонента(-ів) крові;
– температура, зафіксована в момент отримання компонента(-ів) крові;
– дата, підпис, печатка особи, яка приймає компонент(и) крові.

У разі використання автоматичних датчиків температури — замість даних, про які йдеться вище у підпунктах 4 та 10, до протоколу слід додати роздруковані показання температур, отримані з реєстраторів цих датчиків.

Протокол контролю транспортування має бути складений у 2-х примірниках. Його оригінал залишає в себе лікарняний банк крові, а копія має бути повернена у ЗСК.

Якщо кров або її компоненти перевозяться транспортними засобами, підконтрольними ЗОЗ, то банк крові відповідає за ведення протоколу контролю температури; зразок такого протоколу повинен надати ЗСК.

9.7. Приймання зразків із територіальних відділень

Відповідно до організаційних положень, установлених керівниками окремих відділів та схвалених керівником ЗСК, відділ експедиції зобов'язаний приймати з територіальних ВТ зразки для аналізів (вірусологічних, серологічних, консультаційних тощо).

9.8. Поточний контроль складських запасів компонентів та препаратів крові

Цей контроль слід здійснювати щоденно, на підставі планів щодо прогнозованого попиту на компоненти крові у даний період року та фактичного стану складських запасів окремих компонентів крові. Відділ експедиції зобов'язаний зробити висновок, чи зможуть наявні запаси задовольнити прогнозований попит.

У разі виявлення дефіциту складських запасів відділ експедиції повинен ужити відповідних заходів для збільшення кількості дефіцитних компонентів.

9.9. Принципи функціонування лікарняних банків крові у ЗОЗ

Принципи функціонування лікарняних банків крові описано у Наказі МОЗ України від 14.12.2010 №1112 «Про затвердження Положення для установи переливання крові (щодо організації управління системою якості і безпеки донорської крові та її компонентів).

Розділ 10
ІМУНОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ ПЕРЕЛИВАННЯ КОНЦЕНТРАТІВ ТРОМБОЦИТІВ

ЗМІСТ

10.1. Загальні принципи переливання КТ 285
10.2. Критерії ефективності перелитих КТ 285
10.3. Імунологічні принципи переливання тромбоцитів у хворих без резистентності до перелитих КТ 285
10.4. Імунологічні принципи переливання тромбоцитів у хворих із резистентністю до переливання КТ 286
10.4.1. Причини резистентності 286
10.4.2. Способи відбору донорів 288
10.4.2.1. Переливання КТ зі збереженням сумісності або часткової сумісності в антигенах HLA класу I (локус A і B) між донором та реципієнтом 288
10.4.2.2. Відбір донорів тромбоцитів для реципієнта на підставі негативних проб на сумісність 289
10.4.2.3. Відбір донорів для хворих з антитілами HLA визначеної специфічності 289
10.4.2.4. Відбір донорів для хворих із антитромбоцитарними антитілами визначеної специфічності 289
10.4.2.5. Реєстр донорів із визначеними антигенами HLA 290
10.4.2.6. Реєстр донорів із визначеними антигенами HPA 290
10.5. Переливання КТ у хворих з імунними тромбоцитопеніями 291
10.5.1. Алоімунна тромбоцитопенія у новонароджених 291
10.5.2. Посттрансфузійний діатез, пов'язаний із низьким рівнем тромбоцитів 291
10.5.3. Аутоімунна тромбоцитопенія 291
10.6. Методи виявлення антитіл, які мають значення при переливанні КТ 292
10.6.1. Методи виявлення лімфоцитотоксичних антитіл — тест на лімфоцитотоксичність 292
10.6.1.1. Спеціальне обладнання 292
10.6.1.2. Реактиви 292
10.6.1.3. Виділення лімфоцитів для тестування 293
10.6.1.4. Здійснення тестування 293
10.6.1.5. Використання тесту ЛЦТ у дослідженнях 294
10.6.1.5.1. Виявлення лімфоцитотоксичних антитіл у сироватці багаторазових реципієнтів крові 294
10.6.1.5.2. Як застосовувати тест ЛЦТ щодо проби на сумісність 294
10.6.2. Методи виявлення антитромбоцитарних антитіл 294
10.6.2.1. Імунофлюоресцентний тест із тромбоцитами — PIFT 294
10.6.2.1.1. Спеціальне обладнання 295
10.6.2.1.2. Реактиви 295
10.6.2.1.3. Виділення тромбоцитів 295
10.6.2.1.4. Приготування заморожених тромбоцитів 296
10.6.2.1.5. Приготування тромбоцитів з антигенами HLA, злущеними хлорохіном 296
10.6.2.1.6. Відбір тромбоцитів для тестування 296
10.6.2.1.7. Здійснення тестування 296
10.6.2.1.8. Оцінка флюоресцентного тесту 297

10.1. Загальні принципи переливання КТ

1. Переливання концентратів тромбоцитів має на меті зменшення кровотечі або запобігання кровотечам у хворих із нестачею тромбоцитів. Такі дії рекомендуються головним чином для хворих із тромбоцитопенією, яка є наслідком недостатнього вироблення тромбоцитів у кістковому мозку.

2. Переливання тромбоцитів рекомендоване хворим із кількістю тромбоцитів $< 10 \times 10^9$/л (деякі фахівці рекомендують тільки в тих випадках, якщо кількість тромбоцитів $< 5 \times 10^9$/л). Рішення про переливання КТ має ухвалюватися з урахуванням клінічного стану хворого.

3. У реципієнтів багаторазових трансфузій тромбоцитів може розвинутися резистентність до переливання тромбоцитів (кількість тромбоцитів не зростає, хоча це й очікується, та/або геморагічний діатез суттєво не зменшується).

4. Причини резистентності можуть бути неімунної та імунної природи.
   - Неімунні причини: переважно жар, інфекція, гіперспленізм, синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання (ДВЗ-синдром), одночасне лікування амфотерицином В; фактори, що впливають на уповільнення вироблення тромбоцитів, наприклад, коагулопатія або ниркова недостатність.
   - Імунні причини: алоімунізація антигенами лейкоцитів (HLA), значно рідше — специфічними антигенами тромбоцитів (HPA).

10.2. Критерії ефективності перелитих КТ

Не існує цілком достовірних критеріїв оцінки ефективності переливання тромбоцитів. На практиці така оцінка ґрунтується:

1) на клінічному стані хворого — припинення кровотеч, зникнення петехій або підшкірних крововиливів.

2) лабораторних показниках — оцінці зростання кількості тромбоцитів у хворого (найчастіше задовільним вважають зростання на 10×10^9/л через 1 годину або на 5×10^9/л через 20–24 години).

3) обчисленні скоригованого показника зростання тромбоцитів після переливання КТ (CCI, англ. Corrected Count Increment) за формулою:

$$\text{CCI} = \frac{\text{кількість тромбоцитів після переливання } (10^{11}) - \text{кількість тромбоцитів до переливання } (10^{11})}{\text{кількість тромбоцитів у КТ } (10^{11})} \times$$
$$\times \text{ поверхня тіла } (\text{м}^2)$$

CCI відображає посттрансфузійне зростання кількості тромбоцитів, що припадає на 1 м^2 поверхні тіла, після переливання 1×10^{11} тромбоцитів. Ефективним вважається CCI, вищий за 10 000 через 1 год. після переливання; неефективним вважається CCI < 7500 через 1 год. та CCI < 5000 через 24 год.

Оцінюючи зростання кількості тромбоцитів після переливання КТ, ***резистентністю*** ми називаємо відсутність відповідного зростання тромбоцитів (див. п. 2 і 3 вище) після чергових 2-х або 3-х переливань.

10.3. Імунологічні принципи переливання тромбоцитів у хворих без резистентності до перелитих КТ

1. Хворому слід переливати КТ від донора, сумісного за антигенами системи АВ0. Від цього принципу можна відійти, якщо сумісний донор є недоступним, а хворий має абсолютні показання для переливання КТ. Переливання тромбоцитів, не сумісних за антигенами АВ0, може не дати ефекту, а призвести до гемолізу, якщо у плазмі донора високий титр антитіл анти-А та/або анти-В.

2. Несумісність за антигеном RhD не впливає на результативність переливання тромбоцитів. Однак слід пам'ятати: невеличка кількість RhD-позитивних еритроцитів, що міститься у КТ, може створювати ризик вироблення антитіл анти-D. Якщо переливаються тромбоцити від Rh-позитивного донора, особливо Rh-негативній жінці у період фертильності, слід дати 50 мкг або 100 мкг імуноглобуліну анти-RhD, залежно від кількості еритроцитів у КТ, що переливається (зазвичай 20 мкг

імуноглобуліну анти-RhD на 1 мл перелитих Rh-позитивних тромбоцитів). Щоб запобігти імунізації антигеном RhD, після переливання несумісних тромбоцитів, отриманих шляхом аферезу, де домішка еритроцитів невелика, достатньо дати 50 мкг імуноглобуліну анти-D.

3. Сумісності між донором та реципієнтом за системою антигенів HLA та HPA для цієї групи хворих загалом не дотримуються.

4. У хворих, яким заплановано пересадку кісткового мозку, треба уникати переливань КТ, а особливо — КТ, узятих від найближчих родичів.

10.4. Імунологічні принципи переливання тромбоцитів у хворих із резистентністю до переливання КТ

10.4.1. Причини резистентності

1. Найчастішою імунною причиною резистентності є антитіла HLA, спрямовані до антигенів HLA класу I, які є наявними також на тромбоцитах, але їх експресія на цих антигенах загалом є слабшою, ніж на лімфоцитах. Причиною вироблення антитіл HLA стають лейкоцити, наявні у концентратах еритроцитів або тромбоцитів. Сучасні методи збіднення препаратів на лейкоцити (див. п. 6.2.8 та 6.2.14) значно зменшують ризик імунізації антигенами HLA (від близько 30–70% до < 10% у хворих), але не виключають його зовсім. Вироблені антитіла HLA можуть тимчасово не виявлятися. У таблиці 10.1 подано список антигенів HLA класу I з урахуванням поділу деяких антигенів на підгрупи (англ. split), тоді як на рис. 10.1 і 10.2 продемонстровано перехресно реагуючі антигени (англ. Cross Reactive Antigens). Антитіла, а також антигени HLA можна виявити за допомогою тесту на лімфоцитотоксичність (LCT, ЛЦТ), див. п. 10.6.1.

Таблиця 10.1

Антигени HLA класу I (локус A, B, C), що розпізнаються серологічним шляхом, згідно зі звітом Всесвітньої організації охорони здоров'я від 1996 р.

Локус A	Локус B		Локус C
A1	B5	B51(5)	Cw1
A2	B7	B52(5)	Cw2
A3	B8	B53	Cw3
A9	B12	B54(22)	Cw4
A10	B13	B55(22)	Cw5
A11	B14	B56(22)	Cw6
A19	B15	B57(17)	Cw7
A23(9)	B16	B58(17)	Cw8
A24(9)	B17	B59	Cw9(w3)
A25(10)	B18	B60(40)	Cw10(w3)
A26(10)	B21	B61(40)	
A28	B22	B62(15)	
A29(19)	B27	B63(15)	
A30(19)	B35	B64(14)	
A31(19)	B37	B65(14)	
A32(19)	B38(16)	B67	
A33(19)	B39(16)	B70	
A34(10)	B40	B71(70)	
A36	B41	B72(70)	
A43	B42	B73	
A66(10)	B44(12)	B75(15)	
A68(28)	B45(12)	B76(15)	
A69(28)	B46	B77(15)	
A74(19)	B47	B78	
A80	B48	B81	
	B49(21)	Bw4	
	B50(21)	Bw6	

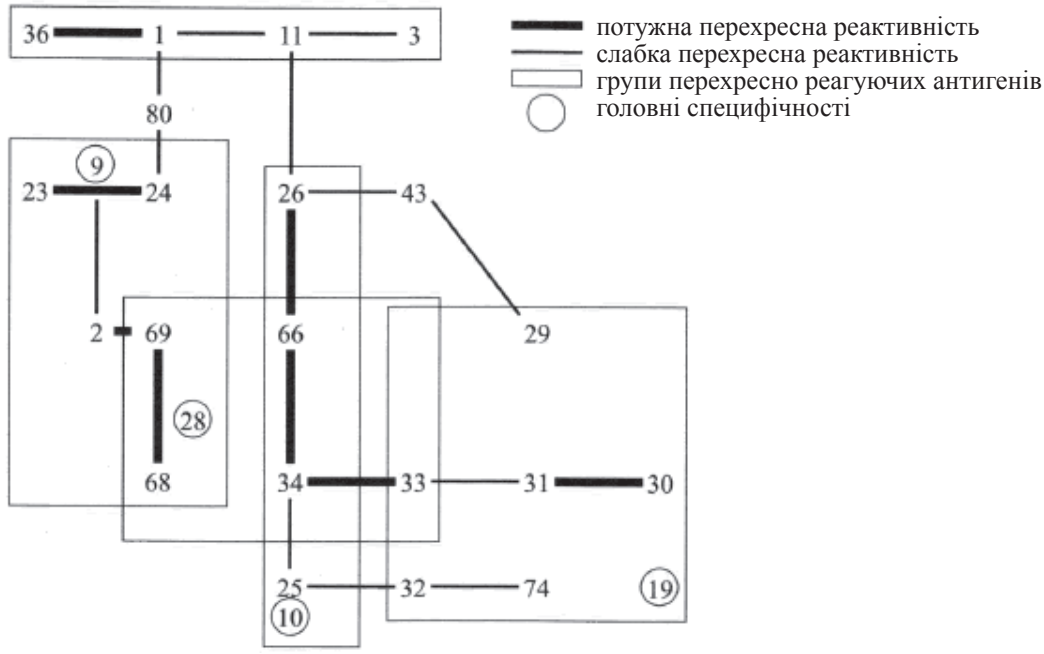


Рис. 10.1. Перехресно реагуючі антигени HLA з локусу A згідно зі Pel Freez Clinical System, 1996 рік (у власній модифікації)

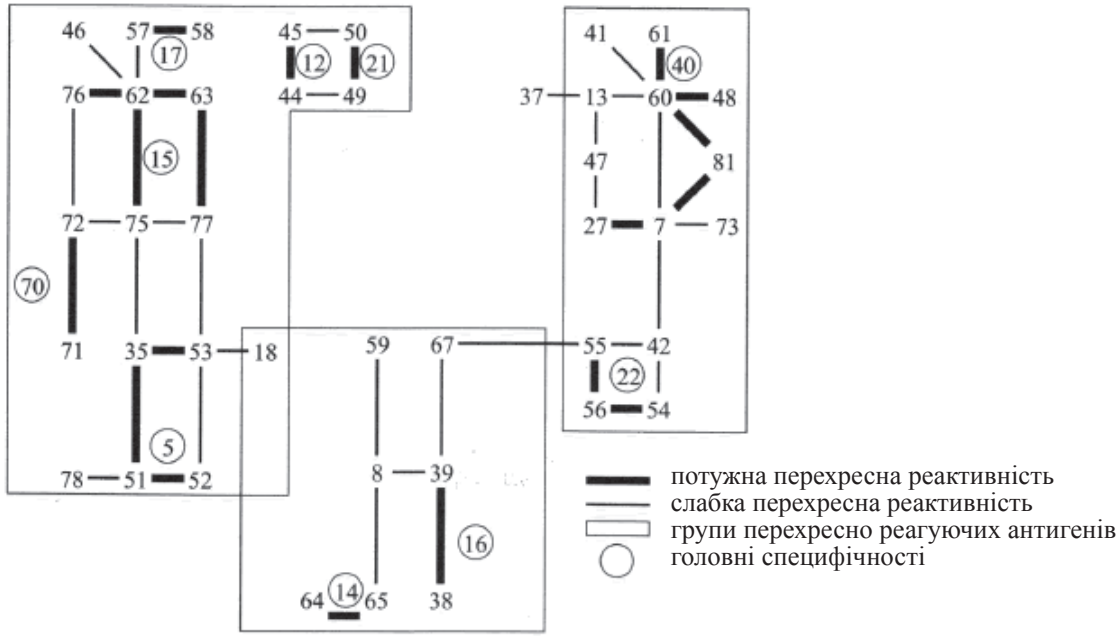


Рис. 10.2. Перехресно реагуючі антигени HLA з локусу B згідно зі Pel Freez Clinical System, 1996 рік (у власній модифікації)

2. Причиною резистентності хворих до переливань КТ може бути також імунізація антигенами HPA, які містяться на глікопротеїнах (GP) IIb/IIIa, Ib та Ia/IIa (табл. 10.2). Частота вироблення цих антитіл повністю не досліджена. Вважається, що вони з'являються у менш ніж 10% хворих. Антитромбоцитарні антитіла можна виявляти шляхом імунофлюоресцентного тестування (PIFT, англ. Platelet ImmunoFluorescence Test), а також за допомогою імуноензимних тестів (див. п. 10.6.3). Специфічні антитромбоцитарні антитіла найчастіше спрямовані до антигенів HPA-1a, HPA-1b, HPA-5b та HPA-3a. У деяких хворих виявляються антитіла з кількома специфічностями. Іноді не вдається визначити специфічності антитромбоцитарних антитіл. Це можуть бути аутоантитіла. Відрізнити аутоімунізацію від алоімунізації важко, хоча визначення фенотипу або генотипу тромбоцитів хворого може полегшити висновок про наявність або відсутність алоімунізації. Зазвичай антитіла анти-HPA

супроводжуються антитілами анти-HLA. Тому важко чітко визначити, яку роль у виникненні резистентності до перелитих КТ мають саме антитіла анти-HPA. Участь цих антитіл є безсумнівною лише у тому випадку, коли йдеться про поєднання посттрансфузійного діатезу, пов'язаного з низьким рівнем тромбоцитів, та алоімунної тромбоцитопенії у новонароджених (див. п. 10.5.1 та 10.5.2).

Таблиця 10.2

Специфічні антигени тромбоцитів (згідно з Metcalfe P. & Cº, Vox Sang., 2003 р.)

Система	Антиген	Попередня назва	Локалізація на глікопротеїні
HPA-1	HPA-1a HPA-1b	Zw^a, PI^{A1} Zw^b, PI^{A2}	GPIIIa
HPA-2	HPA-2a HPA-2b	Kob Ko^a, Sib^a	$GPIb_a$
HPA-3	HPA-3a HPA-3b	Bak^a, Lek^a Bak^b	GPIIb
HPA-4	HPA-4a HPA-4b	Yuk^b, Pen^a Yuk^a, Pen^b	GPIIIa
HPA-5	HPA-5b HPA-5a	Br^b, Zav^b Br^a, Zav^a, Hc^a	GPIa
HPA-6W	HPA-6bW	Ca^a, Tu^a	GPIIIa
HPA-7W	HPA-7bW	Mo^a	GPIIIa
HPA-8W	HPA-8bW	Sr^a	GPIIIa
HPA-9W	HPA-9bW	Max^a	GPIIb
HPA-10W	HPA-10bW	La^a	GPIIIa
HPA-11W	HPA-11bW	Gro^a	GPIIIa
HPA-12W	HPA-12bW	ly^a	GPIba
HPA-13W	HPA-13bW	Sit^a	GPIa
HPA-14W	HPA-14bW	Oe^a	GPIIIa
HPA-15W	HPA-15a HPA-15b	Gov^b Gov^a	CD109
HPA-16W	HPA-16b	Duv^a	GPIIIa

3. Невиявлення антитіл, названих у п.1 та 2, може означати і те, що їх не виявили застосованими методами, або ж може свідчити про існування неімунних причин резистентності (п. 10.1).

10.4.2. Способи відбору донорів

У випадку резистентності хворих до перелитих КТ можна діяти по-різному.

10.4.2.1. Переливання КТ зі збереженням сумісності або часткової сумісності в антигенах HLA класу I (локус A і B) між донором та реципієнтом

Це може стосуватися як тих хворих, у яких антитіла анти-HLA можуть бути виявлені, так і тих, у яких вони не можуть бути виявлені. Слід:

– визначити антигени HLA класу I у хворого (це визначення треба здійснити раніше, ніж безпосередньо перед переливанням, оскільки, наприклад, у зв'язку з лікуванням одноразове обстеження не завжди є достатнім);

– шукати відповідного донора тромбоцитів у реєстрі донорів з визначеними антигенами HLA.

Знайти донора, сумісного з реципієнтом за 4-ма антигенами HLA класу I (2 антигени з локусу A та 2 антигени з локусу B), надзвичайно важко, відтак можна переливати КТ і в разі часткової сумісності антигенів HLA між донором та реципієнтом. У таблиці 10.3 подано різні ступені сумісності з урахуванням перехресно реагуючих антигенів, сплітів та невизначених антигенів. Серед осіб із невизначеними антигенами можуть бути гомозиготи за даним антигеном. З огляду на великий поліморфізм антигенів системи HLA реєстр донорів з визначеними антигенами HLA має містити щонайменше 2000 донорів (п. 10.4.2.5).

Таблиця 10.3

Різні ступені сумісності за антигенами HLA класу I локусів A і B між донором та реципієнтом

Ступінь сумісності	Число сумісних антигенів	Число перехресно реагуючих антигенів, або т. зв. сплітів, або невизначених*
Сумісний	4	0
Частково сумісний	3	1
Частково сумісний	2	2
Частково сумісний	1	3
Частково сумісний	0	4

** Допускається також несумісність 1-го або 2-х антигенів*

10.4.2.2. Відбір донорів тромбоцитів для реципієнта на підставі негативних проб на сумісність

Такі дії стосуються резистентних хворих (антитіла виявлені у тесті ЛЦТ та/або у тестах із використанням тромбоцитів, наприклад, у флюоресцентному чи ензимному). Найбільше використовують пробу на сумісність у тесті ЛЦТ. Деякі заклади служби крові здійснюють проби на сумісність із тромбоцитами у тесті, в якому виявлено антитіла.

10.4.2.3. Відбір донорів для хворих з антитілами HLA визначеної специфічності

Хворим, у яких вдалося визначити специфічність антитіл анти-HLA, можна переливати тромбоцити від донора, у котрого на лімфоцитах немає антигену, до якого спрямовані антитіла. Однак специфічність виявлених антитіл треба перевіряти після кожного переливання, тому цей спосіб відбору застосовують рідко.

10.4.2.4. Відбір донорів для хворих із антитромбоцитарними антитілами визначеної специфічності

Хворим, у яких виявлено специфічні антитромбоцитарні антитіла і підтверджено відсутність антигену, до якого спрямовані виявлені антитіла, треба переливати тромбоцити від донора, який теж не має цього антигену (слід спиратися на реєстр донорів із визначеними антигенами HPA, п. 10.4.2.6). На практиці такі випадки зустрічаються рідко.

УВАГА! *У різних закладах служби крові, що існують у світі, використовують різні способи відбору тромбоцитів для резистентних хворих. Вибір правильних дій залежить від причини резистентності, від використовуваних у цьому пункті методів дослідження антитіл, а також від числа доступних донорів із визначеними антигенами HLA у реєстрі. Не існує абсолютного правила, який спосіб дій є найкращим; деколи вони застосовуються паралельно.*

На рис. 10.3 подано алгоритм дій у випадку хворих, які потребують переливання КТ; дії з відбору тромбоцитів залежать від можливостей кожного конкретного закладу.

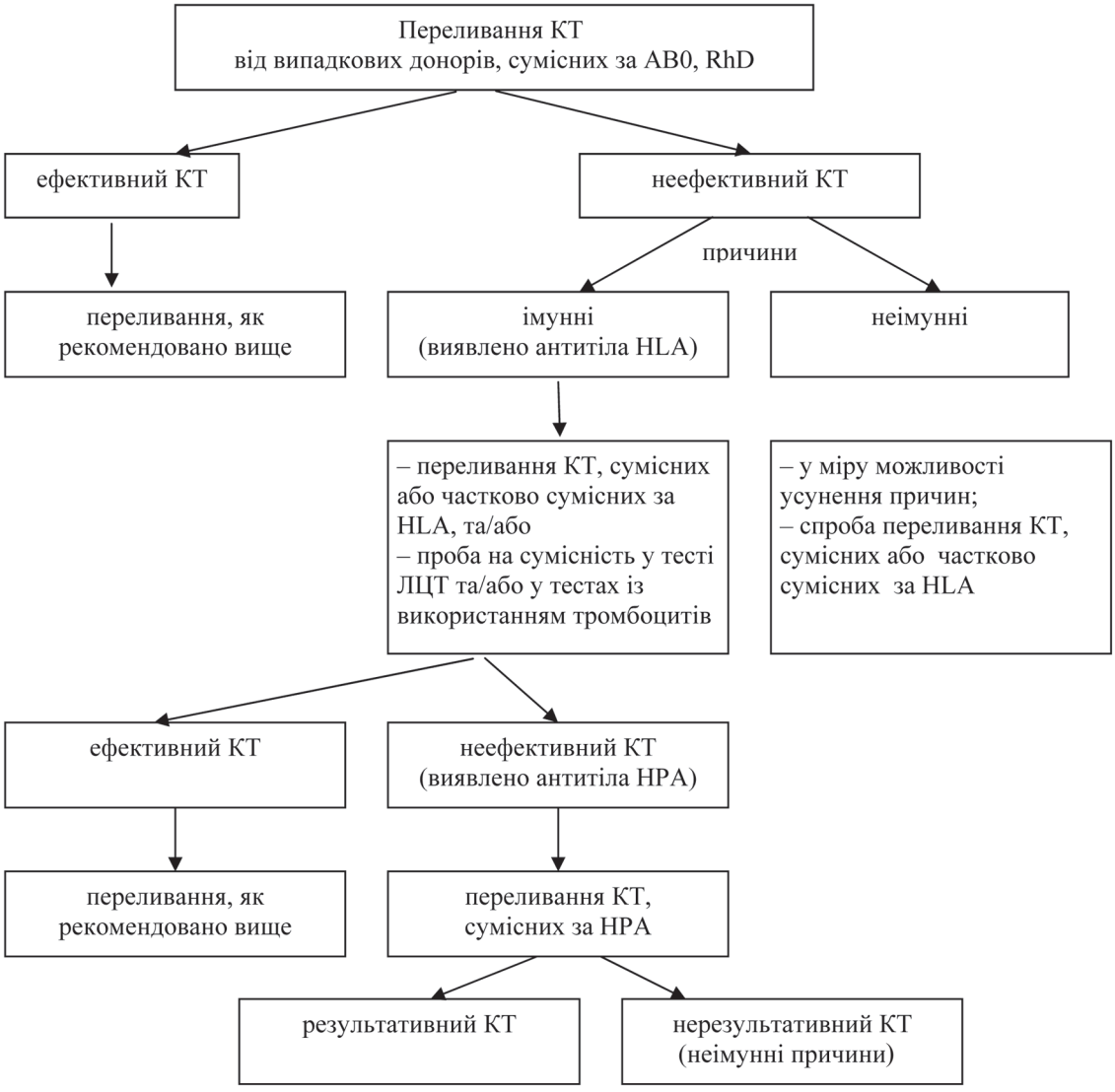


Рис. 10.3. Алгоритм дій у випадку хворих, які потребують переливання КТ

10.4.2.5. Реєстр донорів із визначеними антигенами HLA

Центр донорства має забезпечити доступність тромбоцитів від донорів із визначеними антигенами HLA класу I шляхом створення бази, яка містить дані HLA донорів для трансфузійних цілей. Антигени HLA класу I можуть бути визначені серологічними методами або за допомогою молекулярних методів. Дослідження для трансфузійних цілей слід здійснювати методами з т. зв. низькою чутливістю або ж на рівні низької чутливості сприймати результати аналізів, проведених із вищою роздільністю. Відбираючи донора для переливання тромбоцитів, треба враховувати перехресно реагуючі антигени (рис. 10.1 і 10.2).

Антигени HLA класу I слід визначати у кадрових донорів. Результати аналізів HLA кандидатів у донори кровотворних клітин (такі аналізи здійснюються центром донорства — в осередку донорів кровотворних клітин (Розділ 12)) можуть використовуватися і для трансфузійних цілей за умови отримання свідомої згоди кандидата, а також згоди установи, яка фінансує аналізи. Набираючи донорів кісткового мозку, слід інформувати їх про необхідність використання тромбоцитів із визначеними антигенами HLA для рятування життя хворих, а отже, й про потребу в донорах тромбоцитів.

10.4.2.6. Реєстр донорів із визначеними антигенами HPA

Центр донорства має забезпечити доступність тромбоцитів із визначеними антигенами HPA для реципієнтів крові з антитілами анти-HPA. Відтак, необхідно створити загальнодержавний реєстр донорів із визначеними антитромбоцитарними антигенами. У першу чергу треба створити реєстр

донорів із визначеними антигенами за системою HPA1 — з огляду на найбільшу частоту алоімунізації. Бажано створити реєстр, що міститиме відомості про інші антитромбоцитарні антигени, які рідше призводять до алоімунізації (HPA5b, -1b, -3a, -15a, -15b).

Найчастіше спостерігається алоімунізація антигеном HPA1a; вона ж є найсуттєвішою у клінічному плані. Антитіла анти-HPA1a виробляються особинами з фенотипом HPA1b/b (які становлять близько 2% популяції) після контакту з несумісним антигеном. У разі наявності антитіл анти-HPA1a для переливання відбирається кров без цього антигену. В особин HPA1a/a (їх близько 75%) може розвинутися алоімунізація антигеном HPA1b, наявним у гомозигот HPA1b/b, а також у гетерозигот HPA1a/b, які становлять близько 24% популяції.

Визначення антигенів за системою HPA1 у донорів можна здійснити серологічними (ензимний тест, цитометричні тести) або молекулярними методами (ПЦР, у реальному часі).

Аналіз тромбоцитарних антигенів у донорів має бути підтверджений шляхом здійснення аналізу іншої, окремо взятої проби крові (що має на меті виключити помилку, яка може стосуватися першої аналізованої проби крові донора).

Крім того, з огляду на той факт, що аналізи тромбоцитарних антигенів, як серологічні, так і молекулярні, є складними технічно, — необхідним є додатковий підтверджувальний аналіз, що має здійснюватися в Інституті гематології та трансфузіології НАМН України, якщо початкові аналізи проводилися у Центрі донорства та гемотерапії. Проте, якщо початковий аналіз зроблено в Інституті гематології та трансфузіології НАМН України, необхідно його повторити з додаткової проби.

10.5. Переливання КТ у хворих з імунними тромбоцитопеніями

10.5.1. Алоімунна тромбоцитопенія у новонароджених

Алоімунна тромбоцитопенія у новонароджених (NAIT, англ. Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia) виникає внаслідок материнської резистентності до специфічних тромбоцитарних антигенів плода, успадкованих від батька та відсутніх на тромбоцитах матері. У близько 85% випадків NAIT виникає внаслідок імунізації матері до антигену HPA-1a плода. У решті випадків імунізація найчастіше виникає до HPA-5b, -1b, -3a. Новонародженому, в якого виникла NAIT, мають переливатися тромбоцити без антигену HPA, до якого виникла алоімунізація. У таких випадках, якщо відповідний донор тромбоцитів відсутній, ним може бути мати, але тоді з препарату слід усунути плазму, яка містить антитромбоцитарні антитіла (тобто приготувати відмитий КТ — п. 6.3.6.2.3 та 6.3.6.2.4).

10.5.2. Посттрансфузійний діатез, пов'язаний із низьким рівнем тромбоцитів

Посттрансфузійний діатез, пов'язаний із низьким рівнем тромбоцитів (PTP, англ. Post Transfusion Purpura), — це пізнє ускладнення, що може виникати через 5–11 діб після переливання крові або її препаратів, які містять тромбоцити. Найчастіше причиною PTP є наявність антитіл HPA-1a, значно рідше — HPA-1b, -3a, -3b. Ці антитіла виникають унаслідок вторинної імунної реакції в осіб, які вже мають первинну резистентність, пов'язану з тромбоцитарними антигенами (найчастіше у результаті вагітності, рідше — після переливання крові або її препаратів). Вироблені антитіла знищують не тільки перелиті тромбоцити, але й власні тромбоцити хворого; з огляду на це хворим із PTP не рекомендують переливати КТ. Якщо ж хворому з PTP необхідно перелити концентрат еритроцитів (КЕ), то ці еритроцити мають бути очищені від тромбоцитів, лейкоцитів та плазми. Загальновизнаним методом лікування PTP є внутрішньовенні ін'єкції імуноглобуліну G (i.v. IgG, англ. Intra Venous Immunoglobulinum G) упродовж 5 днів, денна доза — 0,4 г/кг маси тіла.

10.5.3. Аутоімунна тромбоцитопенія

Аутоімунна тромбоцитопенія може бути викликана наявністю антитромбоцитарних антитіл, спрямованих до основних глікопротеїнів тромбоцитарної оболонки, наприклад, GPIIb/IIIa або GPIb. Визначити специфічність цих антитіл загалом не вдається. Для цих хворих не рекомендують переливати КТ, оскільки аутоантитіла знищують також і донорські тромбоцити. Такі спостереження

стосуються хворих із аутоімунною гемолітичною анемією після переливання КЕ. КТ мають переливатися лише тим хворим, у яких геморагічний діатез загрожує життю.

10.6. Методи виявлення антитіл, які мають значення при переливанні КТ

У зв'язку з тим значенням, яке для хворих, котрим переливають КТ, мають антитіла HLA та HPA, нижче подано методи виявлення цих антитіл.

10.6.1. Методи виявлення лімфоцитотоксичних антитіл — тест на лімфоцитотоксичність

Повсюдно для виявлення антитіл анти-HLA, що зв'язують систему комплементу, використовується тест на лімфоцитотоксичність (LCT, ЛЦТ). Цей тест найкраще виявляє антитіла, спрямовані проти антигенів HLA класу I, але він менш чутливий до антитіл анти-HLA класу II. Цей тест виявляє переважно імуноглобуліни класів IgM та IgG (підкласи IgG1, IgG3), проте не виявляє імуноглобулінів з підкласів IgG2, IgG4 та IgA. Принцип дії тесту полягає в тому, що лімфоцитотоксичні антитіла за участю системи комплементу пошкоджують клітинну оболонку лімфоцитів, що призводить до загибелі клітин; оболонка мертвих клітин пропускає барвник еозин, клітини стають більші, пласкі та не відбивають світла (позитивна реакція), тоді як живі клітини не поглинають барвника, вони лишаються маленькими і відбивають світло (негативна реакція).

10.6.1.1. Спеціальне обладнання

Для виконання тесту необхідні:

– інвертований мікроскоп;
– мікрошприци Гамільтона (або Роббінса) із вмістом 50 μл та 250 μл із дозаторами (одно- або шестиканальні);
– пластикові мікрокамери (тип Терасакі).

10.6.1.2. Реактиви

1. Рідина для виділення лімфоцитів з градієнтом густини 1,077 г/мл. Дозу 9,556 г фіколу розчинити у 134 мл дистильованої води, підігрітої до 90 ºС. Коли охолоне до кімнатної температури, додати 20 мл 75% верографіну. Густина розчину має становити 1,077 г/мл. Розведений фікол можна поділити на порції та зберігати при температурі –25 ºС. Після розмороження перед використанням pH довести до 6,8 за допомогою 1N NaOH.

УВАГА! *Можна використовувати готові рідини для виділення лімфоцитів із густиною, зазначеною вище.*

2. Система комплементу кролика, заморожена або ліофілізована.

УВАГА! *Особливої уваги потребує дотримання правил роботи з комплементом: розчиняти ліофілізований комплемент необхідно дистильованою водою (pH 7,2–7,4) безпосередньо перед використанням, тримати впродовж використання на льоду. Слід обережно піпетувати розчин комплементу, уникаючи спінювання, яке знижує його активність. Термін придатності розчиненого ліофілізованого комплементу не перевищує 3 годин. Повторне заморожування комплементу для подальшого використання недопустиме (див. інструкцію виробника). Рідка система комплементу може зберігатися у замороженому вигляді за температури –25 ˚С. Кожна партія системи комплементу має спершу пройти вхідний контроль.*

3. 38% формалін із pH 7,2 (pH треба довести до потрібного показника за допомогою 1N NaOH).

УВАГА! *Можна використовувати готові реактиви, що містять суміш еозину та формаліну.*

4. Парафінова олія.
5. Буферний розчин NaCl (PBS, буферний розчин 0,9% NaCl) із pH 7,2.
6. Антикоагулянт — 5% розчин Na_2EDTA або K_3EDTA у 0,9% NaCl.
7. (EDTA — етилендіамінтетраоцтова кислота.)

10.6.1.3. Виділення лімфоцитів для тестування

1. Найкраще виділяти лімфоцити зі свіжої крові. Вимагається, щоб близько 95% становили живі лімфоцити без забруднень іншими клітинами, особливо гранулоцитами. Якщо виникає необхідність транспортування крові, то треба пильнувати, щоб кров було взято в умовах стерильності, найкраще до пробірок системи «vacutainer», та щоб транспортували її за кімнатної температури.
2. Кров може бути взята на гепарин (20 од. натрієвого гепарину на 1 мл крові), Na_2EDTA або K_3EDTA (1 мл 5% EDTA та 9 мл крові).
3. Кров слід центрифугувати протягом 10 хв. у режимі 1500 обертів на хв. (170 × g) і видалити з неї багату на тромбоцити плазму (тромбоцити з плазми можна використати для виявлення антитромбоцитарних антитіл, п. 10.6.2.1). Решту крові доповнити PBS до початкового об`єму та розвести в PBS у пропорції 1:1.
4. Розведену кров обережно нашарувати на рідину для виділення лімфоцитів у пропорції 1 частина рідини на 2 частини розведеної крові. Центрифугувати впродовж 10 хв. у режимі 1500 обертів на хв. (170 × g), а потім — у режимі 3000 обертів на хв. (700 × g).
5. Лімфоцити зібрати з інтерфази, тобто кільця, розташованого між рідиною для виділення та плазмою. Клітини тричі відмити PBS, двічі центрифугуючи впродовж 5 хв. у режимі 1500 обертів на хв. (170 × g) та один раз — упродовж 5 хв. у режимі 2000 обертів на хв. (300 × g).
6. Осад лімфоцитів завісити у PBS та довести до концентрації 2×10^6/мл.

10.6.1.4. Здійснення тестування

1. Пластикові камери треба відповідним чином підписати. Усі заглибини камери ретельно наповнити парафіновою олією. Під час наливання парафіну слід стежити, щоб не потрапляли бульбашки повітря.
2. До кожної із заглибин камери (під парафін) за допомогою мікрошприца Гамільтона ввести 1 мкл досліджуваної сироватки, сироватки з антитілами HLA (позитивний контроль), а також сироватки групи АВ без антитіл (негативний контроль). Щоразу, змінюючи сироватку, мікрошприц слід ретельно промивати PBS — близько 5 разів, щоб уникнути потрапляння сироватки з однієї заглибини камери до іншої. Найчастіше подальші етапи тестування здійснюють безпосередньо після введення сироваток, але камери із сироватками можна зберігати в холодильнику до 3 діб, а довше — у морозильнику протягом кількох місяців за температури –70 ºС.
3. До сироваток додати по 1 мкл завісі лімфоцитів, виділених способом, наведеним у п. 10.6.1.3, та інкубувати протягом 30 хв. за температури (20–24) ºС (найкраще у термостаті).
4. Додати 5 мкл системи комплементу та інкубувати протягом 60 хв. за температури (20–24) ºС.
5. Додати 1 мкл 5% еозину, а через кілька хвилин — 5 мкл розчину формаліну.

УВАГА! *Готові реактиви (суміш еозину та формаліну) додавати у тих кількостях, які рекомендує виробник.*

6. Результат аналізу виявити в інверсійному мікроскопі (збільшення об'єктива 10 ×, окуляра — 16 × або 12,5 ×), не раніше ніж через 30 хв. Найбільш достовірними є результати, які отримують наступного дня. Реакцію оцінюють за 8-бальною шкалою, враховуючи відсоток мертвих лімфоцитів у порівнянні з позитивним та негативним контролем (табл. 10.4).

Таблиця 10.4

Інтерпретація результатів аналізів у тесті ЛЦТ

Бали	% мертвих клітин	Інтерпретація тесту
1	до 10	Негативний
2	11–20	Сумнівно негативний
4	21–50	Слабо позитивний
6	51–80	Позитивний
8	81–100	Сильно позитивний
0		Для оцінювання не годиться

10.6.1.5. Використання тесту ЛЦТ у дослідженнях

10.6.1.5.1. Виявлення лімфоцитотоксичних антитіл у сироватці багаторазових реципієнтів крові

Для здійснення дослідження потрібна така кількість зависей лімфоцитів, щоб представлені були найпоширеніші антигени HLA (зазвичай достатньо 10 зависей лімфоцитів).

10.6.1.5.2. Як застосовувати тест ЛЦТ щодо проби на сумісність

Тест ЛЦТ, зорієнтований на пробу на сумісність, проводиться із сироваткою хворого та зависсю лімфоцитів донора КТ.

Визначення антигенів HLA класу I (локус A, B, C) лімфоцитів здійснюється за допомогою комплекту стандартних сироваток (по кілька сироваток даної специфічності). Такі комплекти виробляються багатьма фірмами і містять від 60 до 180 сироваток із різними специфічностями. Кожна фірма додає до тестових комплектів протоколи з описами діагностичних сироваток, а також ампулки із системою комплементу. Кожен антиген HLA-A, -B, -C має бути визначений за допомогою двох моноспецифічних сироваток або ж за допомогою трьох сироваток, які, окрім антитіл, спрямованих до даного антигену, містять також інші специфічні антитіла анти-HLA.

10.6.2. Методи виявлення антитромбоцитарних антитіл

Для виявлення антитромбоцитарних антитіл найчастіше застосовують методи, що базуються на антиглобуліновому тестуванні. Сироватку, у якій ми шукаємо антитіла, слід інкубувати з алогенними тромбоцитами, а потім з антиглобуліновою сироваткою, поєднаною з флюорохромом або ензимом. Якщо антиглобулінова сироватка:

– мічена флюоресцеїном (імунофлюоресцентний тест) — результати аналізів спостерігають у флюоресцентному мікроскопі або у проточному цитометрі;

– поєднана з ензимами: основною фосфатазою або пероксидазою (імуноензимний тест) — результати аналізів спостерігають у спектрофотометрі.

Існує можливість купівлі готових комплектів для ензимних тестів, які виробляють різні фірми, разом із необхідними реактивами та докладними правилами проведення аналізу. Нині на ринку доступні ензимні тести на мікрокамерах, оброблених:

– тромбоцитами (такий тест виявляє не тільки специфічні антитромбоцитарні антитіла, а й антитіла HLA);

– глікопротеїнами, виділеними з тромбоцитарних оболонок, наприклад, GPIIb/IIIa, GPIb або GPIa/IIa, які є носіями відповідних специфічних антигенів HPA (такий тест виявляє специфічні антитромбоцитарні антитіла).

10.6.2.1. Імунофлюоресцентний тест із тромбоцитами — PIFT

На противагу вищеописаним ензимним тестам, комплекти для імунофлюоресцентних тестів із тромбоцитами (PIFT) не виробляються комерційними фірмами, тому нижче наведено правила виконання таких тестів.

10.6.2.1.1. Спеціальне обладнання

Для тестування необхідні:

– флюоресцентний мікроскоп або проточний цитометр;
– пластикові мікрокамери із круглодонними заглибинами (Falcon);
– центрифуга для центрифугування пластикових камер (утім, PIFT можна робити і в пробірках, і тоді така центрифуга не потрібна).

10.6.2.1.2. Реактиви

1. Концентрований буфер EDTA:
   – 31,25 г $Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$;
   – 16,50 г Na_2EDTA;
   – 45,0 г NaCl;
   – H_2O — до 500 мл (розчиняти в гарячому стані).
2. Розведений буфер EDTA (готується у день аналізу з концентрованого буфера EDTA):
   – 10 мл концентрованого буфера EDTA;
   – 90 мл H_2O;
   – 1 мл 20% бичачого альбуміну;
   – довести до pH 7,2 за допомогою 3M NaOH.
3. Хлорид амонію для лізису еритроцитів:
   – 4,15 г NH_4Cl;
   – 0,5 г $KHCO_3$;
   – 0,8 мл 5% EDTA;
   – H_2O — до 500 мл.

Якщо результати аналізів планується спостерігати у цитофлюориметрі, виділені тромбоцити не обов'язково очищувати від еритроцитів шляхом лізису останніх за допомогою хлориду амонію.

4. Параформальдегід (для фіксації тромбоцитів) — 1% розчин у PBS.

5. Антиглобулінові сироватки, фрагмент $F(ab')_2$, сполучені з ізотіоціанатом флюоресцеїну (FITC), спрямовані проти людських глобулінів: IgG+IgM+IgA (поліспецифічних) або IgG чи IgM (моноспецифічних). Для кожної антиглобулінової сироватки слід установити відповідну міру розведення для тесту PIFT. Спираючись на показник розведення, рекомендований виробником (див. фірмову листівку), приготувати кілька розведень сироватки з показниками, вищими та нижчими за рекомендований. Для цієї мети слід застосувати сироватку з потужними антитромбоцитарними антитілами, а також сироватку групи AB без антитіл (негативний контроль). Обрати таке найбільше розведення антиглобулінової сироватки, яке дає потужні реакції з антитромбоцитарними антитілами — за відсутності реакції із сироваткою без антитіл.

6. Рідина для заморожування тромбоцитів: буфер EDTA та DMSO у пропорції 10:1.

(DMSO — диметилсульфоксид).

7. Рідина для розморожування тромбоцитів: змішати буфер EDTA та ACD у пропорції 10:1.
8. Хлорохін 20% із pH 4; розчин хлорохіну довести до потрібного pH за допомогою 5N HCl.
9. Антикоагулянт: 5% Na_2EDTA або K_3EDTA у 0,9% NaCl.

10.6.2.1.3. Виділення тромбоцитів

1. Кров, узяту з EDTA (1 мл EDTA та 9 мл крові), центрифугувати впродовж 10 хв. у режимі 1500 обертів на хв. (170 × g).

2. Зібрати багату на тромбоцити плазму та центрифугувати впродовж 5 хв. у режимі 3000 обертів на хв. (700 × g).

3. Осад тромбоцитів залити крижаною рідиною для лізису еритроцитів (1–2 мл) та інкубувати у льодовій бані від 5 до 10 хв. Цей етап проводиться у тому разі, якщо результати аналізів планується спостерігати у флюоресцентному мікроскопі.

4. Тромбоцити тричі відмивати розведеним буфером EDTA, центрифугуючи по 5 хв. у режимі 3000 обертів на хв. (700 × g).

5. До осаду тромбоцитів додати 2 мл 1% параформальдегіду та фіксувати клітини впродовж 5 хв. за температури 20–22 ºC (для тесту PIFT можна також використовувати нефіксовані тромбоцити).

6. Тромбоцити відмити так само, як рекомендовано у п. 4, та довести до густини близько 250 × 10^6/мл.

10.6.2.1.4. Приготування заморожених тромбоцитів

1. Тромбоцити, виділені способом, поданим у п. 10.6.2.1.3, розподілити по пробірках на порції (наприклад, по 200 мкл), після чого упродовж 10–15 хв. дуже повільно, по краплі, постійно струшуючи, додавати такий самий об'єм рідини для заморожування тромбоцитів. Пробірки заморозити за температури –196 ºС (у рідкому азоті).

2. Перед виконанням тесту PIFT тромбоцити швидко розморозити і тричі відмити, застосовуючи рідину для розморожування тромбоцитів, після чого завісити їх у розведеному буфері EDTA і довести до потрібної густини.

10.6.2.1.5. Приготування тромбоцитів з антигенами HLA, злущеними хлорохіном

Тромбоцити виділити способом, поданим у п. 10.6.2.1.3, але крім того (до фіксації параформальдегідом), до осаду тромбоцитів додати 1 мл 20% хлорохіну та інкубувати впродовж 20 хв. за температури (20–22) ºС, помішуючи клітини кожні 5 хв. Після триразового відмивання хлорохіну продовжувати подальші етапи виділення тромбоцитів, описані у п. 10.6.2.1.3.

10.6.2.1.6. Відбір тромбоцитів для тестування

1. Для виявлення антитіл у сироватках реципієнтів багаторазових трансфузій крові достатньо буде виділити тромбоцити від двох донорів. Оскільки тест PIFT виявляє також антитіла HLA, то слід паралельно провести тест ЛЦТ з лімфоцитами від тих самих донорів крові, чиї тромбоцити будуть використані для тесту PIFT. Це потрібно для того, щоб зрозуміти, чим спричинена реактивність сироватки з тромбоцитами — чи антитілами HLA, чи специфічними антитромбоцитарними антитілами. Якщо у сироватці виявлено антитіла HLA, а ми маємо на меті ще виявити в ній антитіла HPA, тест PIFT можна провести із тромбоцитами, обробленими хлорохіном, який злущує антигени HLA з поверхні клітин.

2. Для виконання перехресної проби слід використовувати тромбоцити від донорів, КТ яких буде переливатися цьому хворому.

3. Якщо свіжовиділених тромбоцитів у розпорядженні немає, то для тесту PIFT можна також використовувати раніше заморожені тромбоцити.

10.6.2.1.7. Здійснення тестування

1. До заглибин мікрокамери ввести по 30 μл досліджуваних сироваток, 2–3 сироватки групи АВ без антитіл (негативний контроль), сироватку зі специфічними антитромбоцитарними антитілами анти-HPA1a (позитивний контроль) і додати по 30 мкл виділених тромбоцитів. Мікрокамеру інкубувати впродовж 30 хвилин за температури 37 ºС.

2. Відмити мікрокамеру у такий спосіб: додати до заглибин по 200 мкл розведеного буфера EDTA та центрифугувати протягом 3 хв. у режимі 2500 обертів на хвилину (800 × g), якщо тест виконується на пластикових мікрокамерах, — або протягом 3 хв. у режимі 3000 обертів на хвилину (1100 × g), якщо тест виконується в пробірках. Відмивання повторити ще тричі. Після кожного центрифугування видалити надосадову рідину та висушити мікрокамеру на лігніні.

3. Додати 30 мкл відповідного розчину антиглобулінової сироватки, поєднаної з FITC. Мікрокамеру захистити від світла алюмінієвою фольгою та інкубувати протягом 30 хв. за температури (20–22) ºС, після чого тричі відмити, як описано вище в п. 2.

4. Після останнього відмивання видалити надосадову рідину із заглибин мікрокамери, але не висушувати на лігніні. Якщо результати аналізів планується спостерігати:

- у флюоресцентному мікроскопі — до кожної заглибини мікрокамери додати по краплині PBS із домішкою гліцерину (1 крапля гліцерину + 4 краплі PBS). Далі краплини зависі тромбоцитів перенести на предметне скло, накрити покривним склом і спостерігати в мікроскопі;
- у проточному цитофлюориметрі — з кожної заглибини мікрокамери перенести по 5 мкл осаду клітин до 1000 мкл розведеного буфера EDTA. Результати аналізу спостерігати того самого дня у цитофлюориметрі; у крайньому разі можна спостерігати результат наступного дня, але тоді мікрокамера має бути захищена від світла і зберігатися при температурі 4 ºС.

10.6.2.1.8. Оцінка флюоресцентного тесту

Оцінку флюоресцентного тесту можна здійснити:

– у мікроскопі (при збільшенні 400 ×). Реакція визнається позитивною, якщо наявне характерне світіння тромбоцитів (світла флюоресцентна облямівка навколо клітин); у разі негативної реакції світіння відсутнє. Інтенсивність світіння оцінюється за шкалою від 1+ до 4+;

– у проточному цитометрі (можуть бути проаналізовані від 5000 до 10 000 клітин). Результати тесту оцінюються на підставі кількості клітин, що світяться (відсоток, медіана чи т. зв. середній канал світіння — mean channel). Негативним результатом вважається реакція тромбоцитів із сироватками без антитіл (від донорів групи АВ). Якщо показник перевищує середній показник світіння негативного контролю ±3SD — результат позитивний.

Розділ 11
БЕЗПЕКА КРОВІ (гемовіджелінс)

ЗМІСТ

11.1. Безпека крові 299
11.2. Завдання ЗСК у сфері безпеки крові 300
11.2.1. Ідентифікація крові та її компонентів 300
11.2.1.1. Повідомлення у ЗСК про післятрансфузійну вірусну інфекцію 301
11.2.1.2. Отримання інформації про захворювання донора після донації 301
11.2.1.3. Ідентифікація реципієнтів потенційно зараженої крові (ретроспективний аналіз) 301
11.2.2. Співпраця ЗСК із ЗОЗ 301
11.2.3. Безпека крові донорів 306

11.1. Безпека крові

Безпека крові (англ. haemovigilance) включає в себе набір установлених контрольних процедур, які застосовуються:

– при серйозних непередбачених випадках;
– тяжких реакціях у донорів та реципієнтів;
– епідеміологічному контролі донорів.

Відомості, що збираються в межах цих заходів, є запорукою безпеки заготовленої крові та трансфузій. Це відбувається шляхом:

– інформування ЗОЗ про небажані випадки та реакції, пов'язані з узяттям та трансфузією компонентів донорської крові;
– визначення коригувальних заходів, які мають запобігти появі ускладнень та небажаних реакцій у майбутньому;
– інформування ЗОЗ та ЗСК про непередбачені випадки, пов'язані з донорами (наприклад, перенесення інфекційних захворювань, виявлені помилки щодо контейнерів, застосованих для взяття крові, та виготовлення її компонентів).

Безпека крові є інтегральною частиною системи охорони здоров'я України.

До небажаних випадків та реакцій, які вимагають реєстрації стосовно безпеки крові, належать:

1. Непередбачені, тобто неочікувані реакції у донора під час здачі крові чи її компонентів або у пацієнта при трансфузіях. Ці реакції можуть мати різну інтенсивність, що в кінцевому результаті може призвести до суттєво серйозних наслідків, зокрема до втрати працездатності, хвороби, госпіталізації або ж летальних випадків. Небажані реакції можуть виявлятись як у пацієнтів, яким переливають компоненти крові, так і в донорів.

Непередбачені реакції у реципієнтів

До небажаних реакцій, пов'язаних із переливанням компонентів крові, належать:

– ранні реакції, що виникають під час трансфузії або протягом 24 годин після переливання — гостра гемолітична реакція, анафілактичний шок, бактеріальне зараження, TRALI (посттрансфузійна гостра дихальна недостатність), негемолітичні температурні реакції, еритема, кропивниця тощо;
– запізнілі післятрансфузійні реакції — запізніла гемолітична реакція; післятрансфузійна хвороба «трансплантат проти хазяїна», післятрансфузійна тромбоцитопенічна пурпура, вірусне паразитарне та пріонне зараження, алоімунізація проти антигенів еритроцитів, HLA або антигенів тромбоцитів і т. д.

Залежно від інтенсивності післятрансфузійні реакції класифікують на тяжкі і легкі.

Тяжкі післятрансфузійні реакції:

– гостра гемолітична реакція;
– сепсис внаслідок бактеріального зараження;
– запізніла гемолітична реакція;
– післятрансфузійна гостра дихальна недостатність;
– анафілактичний шок;
– хвороба «трансплантат проти хазяїна»;
– післятрансфузійне вірусне зараження;
– переобтяження системи кровообігу.

Лікар, відповідальний за трансфузію, або лікар-куратор повідомляє про таку післятрансфузійну реакцію у ЗСК (п. 11.2.2).

Легкі посттрансфузійні реакції:

– негемолітичні температурні та алергічні реакції (крім анафілактичного шоку);
– нудота;
– короткочасні порушення роботи системи кровообігу та дихальної системи, які минають самі.

Лікар, відповідальний за трансфузію, повідомляє лікарняний банк крові про кожну легку реакцію, виявлену під час переливання крові або після його закінчення, якщо він пов'язує цю реакцію саме з трансфузією. У такому разі заповнюється повідомлення у вигляді спеціального бланку (Зразок №11.1). Лікарняний банк крові періодично (кожні 3 місяці) передає у ЗСК бланки повідомлення про легку післятрансфузійну реакцію, а також підсумкові дані стосовно кількості окремих реакцій, кількості хворих, у яких ці реакції виявлено, статі хворих, різновиду перелитого компонента крові.

Ці дані мають бути доповнені загальним числом переливань окремих компонентів крові та числом хворих, які отримали переливання за конкретний звітний період.

Непередбачені реакції в донорів

До тяжких непередбачених реакцій, пов'язаних зі здачею крові, зараховують:

– непритомність, що призводить до травми;
– серцево-судинну недостатність;
– пошкодження нерва, артерії або зараження в місці проколу.

Окрім реєстрації вищезгаданих реакцій, система безпеки крові передбачає:

– збір відомостей стосовно відбору донорів, частоти донацій, випадків відведення донацій;
– збір епідеміологічних даних про донорів із підтверджуючими результатами аналізів на інфекційні захворювання.

Непередбачені випадки — це всі події, пов'язані з узяттям, аналізами, зберіганням і видачею компонентів та препаратів крові, які могли б призвести до смерті, становити загрозу для життя, спричинити пошкодження тіла або розлад здоров'я пацієнта/донора, наслідком якого була б госпіталізація, подовження госпіталізації або хвороба.

Прикладами непередбачених випадків можуть бути:

– невиявлення інфекційного агента;
– помилка у визначенні групи крові за системою АВ0;
– помилка маркування компонента крові або зразка крові.

Непередбачені випадки мають бути зареєстровані.

Передбачені випадки (англ. near miss) — це випадки (помилки), виявлені та усунені у ЗСК на будь-якому етапі, починаючи з відбору донора до здачі крові і закінчуючи видачею компонентів, а також випадки (помилки), виявлені у ЗОЗ й усунені до трансфузії. До них належать:

– виявлення і виправлення помилки при визначенні групи крові;
– виявлення помилок при маркуванні (ідентифікації) контейнера з кров'ю або її компонентом;
– виявлення підміни контейнера з кров'ю або її компонентом перед початком трансфузії;
– виявлення випадків видачі компонента крові, який не відповідає замовленню, і вилучення його до моменту трансфузії.

Реєстрація таких випадків має на меті зменшення ймовірності ризиків, пов'язаних із трансфузією. Усі такі випадки повинні розглядатися на засіданнях медичної ради ЗОЗ із метою їх недопущення у майбутньому.

Випадки, що не призвели до небажаних наслідків, — це помилки при переливанні крові, які не спричинили ускладнення у реципієнта: підміна крові, внаслідок якої хворий із групою А отримав кров групи 0, переливання нефільтрованого компонента крові, що не відповідає рекомендаціям лікаря. Такі помилки теж мають реєструватися, а інформація про них передаватися у ЗСК.

11.2. Завдання ЗСК у сфері безпеки крові

Основним завданням ЗСК є забезпечення ідентифікації заготовленої крові та її компонентів для безпомилкового визначення вмісту контейнера та відповідності вимогам щодо маркування та відстеження.

11.2.1. Ідентифікація крові та її компонентів

Ідентифікація крові та її компонентів — це можливість відтворення руху кожної окремої дози крові або виготовлених з неї компонентів від донора до реципієнта і навпаки.

Принципи заповнення документації для ідентифікації донора, заготовленої крові, її компонентів, а також реципієнта, наведено у пп. 1.4.10.1.5.2 та 8.9.

У межах нагляду за трансфузіями в ЗОЗ працівники ЗСК повинні контролювати правильність заповнення документації стосовно реципієнтів (запис в історіях хвороб та відповідних документах, затверджених діючою нормативною базою).

11.2.1.1. Повідомлення у ЗСК про післятрансфузійну вірусну інфекцію

ЗОЗ мають інформувати ЗСК про позитивні результати лабораторних аналізів або симптоми, що свідчать про можливість післятрансфузійного зараження реципієнта гепатитами В, С, ВІЛ-1, ВІЛ-2 та сифілісом.

Отримавши таке повідомлення, ЗСК зобов'язаний тимчасово дискваліфікувати всіх донорів, з крові яких було виготовлено компоненти, перелиті інфікованому реципієнту. Слід також тимчасово вилучити всі інші компоненти крові, які заготовлені від цих донорів. Повернення такого донора до здачі крові та видача вилучених компонентів, виготовлених з його крові, можливе лише за умови отримання негативних результатів повторних (контрольних) тестів, проведених на архівних або свіжовзятих зразках крові. Якщо контрольні тести підозрюваного донора дали позитивні результати, ЗСК повинен негайно відсторонити його на постійний термін і розпочати процедуру ретроспективного аналізу щодо всіх інших компонентів, виготовлених з його крові і перелитих іншим реципієнтам.

З метою подальшого забезпечення інфекційної безпеки компонентів крові ЗСК визначається послідовність дій у відповідності до діючої нормативної бази на виявлення маркерів гемотрансмісивних інфекцій.

11.2.1.2. Отримання інформації про захворювання донора після донації

Отримавши повідомлення про виявлення захворювання у донора, який нещодавно здав кров, ЗСК має оцінити ризик передачі цього захворювання реципієнтові. Якщо повідомлення стосується захворювання донора на гепатит В, С, СНІД або носійства ВІЛ, сифілісу, слід ретельно проаналізувати результати скринінгових тестів донорської крові, а також провести додаткові або контрольні аналізи на матеріалі архівного зразка крові, взятого під час донації, або свіжовзятого зразка.

Якщо контрольні тести цього донора дадуть позитивні результати. Заклад служби крові повинен негайно відсторонити його на постійний термін і розпочати процедуру ретроспективного аналізу щодо всіх компонентів, виготовлених із його крові.

11.2.1.3. Ідентифікація реципієнтів потенційно зараженої крові (ретроспективний аналіз)

Ретроспективний аналіз — це ідентифікація реципієнтів крові та її компонентів, що могли бути заражені вірусами.

До ретроспективного аналізу вдаються, якщо у кадрового донора виявлено маркери гепатитів В, С, ВІЛ, сифілісу, при цьому попередня донація могла припасти на «серологічне вікно». Процедуру ретроспективного аналізу у ЗСК описано у Розділі 1.4.10.1.5.2.

Здійснюючи процедуру ретроспективного аналізу, ЗСК мають письмово повідомити ЗОЗ про видачу компонентів та препаратів крові, які могли містити вірусну інфекцію. Лікар-куратор або інший лікар, призначений керівником ЗОЗ, повинен поінформувати про це хворого. Від передачі цієї інформації можна відмовитися, якщо є аргументи медичного характеру, які вказують на те, що така інформація може зашкодити хворому. Про результати контрольних аналізів реципієнта на маркери гемотрансфузійних інфекцій або ж про невиконання таких аналізів ЗОЗ зобов'язана повідомити ЗСК.

Після закінчення всієї процедури ретроспективного аналізу ЗСК зобов'язані передати звіт до ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України».

11.2.2. Співпраця ЗСК із ЗОЗ

Реєстрація та оцінка небажаних випадків та реакцій у реципієнтів крові вимагає тісної співпраці ЗСК із ЗОЗ.

Із цією метою у ЗСК призначають лікарів-кураторів, відповідальних за організацію роботи служби крові в ЗОЗ.

ЗСК повинні перевіряти правильність проведення імуногематологічних досліджень перед трансфузіями, заповнення документації, наявність бланків повідомлень про післятрансфузійні ускладнення (Зразок №11.1) та контролювати правильність заповнення цих бланків. Відстежувати зміст звітів, які надходять до ЗСК, з метою виявлення в них серйозних небажаних випадків. Постійно нагадувати ЗОЗ про необхідність направлення звітів до ЗСК стосовно випадків, які могли б загрожувати безпеці хворого внаслідок трансфузії.

Бланк повідомлення про післятрансфузійні реакції враховує виключно ранні реакції. Про відстрочені реакції (більш ніж через 24 год. після переливання), у цьому бланку не зазначають.

До відстрочених реакцій належать:

– відстрочена гемолітична реакція;
– післятрансфузійна пурпура;
– післятрансфузійна хвороба «трансплантат проти хазяїна»;
– алоімунізація антигенами еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, білків та ферментів плазми;
– гемотрансмісивні інфекційні захворювання.

Обов'язком ЗСК є інформування ЗОЗ щодо необхідності повідомлення про такі випадки.

Кожне іногрупне переливання компонентів крові, кожне зараження пацієнта гемотранфузійними інфекціями слід трактувати як серйозний небажаний випадок, що загрожує здоров'ю та життю людини, навіть якщо він не спричинив тяжкої післятрансфузійної реакції. Негайно (протягом 24 год.) після виявлення тяжкого небажаного випадку та/або після появи тяжкої реакції лікар, відповідальний за переливання, має поінформувати ЗСК, який видав кров та її компоненти, електронною поштою або телефоном. Після отримання інформації відповідальна особа ЗСК має негайно провести перевірку правильності проведення всіх процедур — від ідентифікації донора на здачу крові до видачі компонентів ЗОЗ. Якщо причиною серйозного небажанного випадку стала помилка у ЗСК, відповідальна особа повинна негайно письмово повідомити керівника закладу і розробити план заходів.

Упродовж 24 годин від моменту отримання повідомлення про небажаний випадок та/або тяжку реакцію лікар-куратор ЗСК зобов'язаний здійснити у ЗОЗ перевірку всіх дій, пов'язаних із трансфузією крові. Контроль слід провести у відділенні, де була проведена гемотрансфузія, у лікарняному банку крові та в лабораторії, яка проводила імуногематологічні дослідження перед трансфузією. Лікар-куратор має надати консультацію стосовно обстеження пацієнта, перевірки правильності взяття і передачі матеріалу на лабораторні аналізи.

Додаток №11.1

БЛАНК ПОВІДОМЛЕННЯ ПРО ПІСЛЯТРАНСФУЗІЙНЕ УСКЛАДНЕННЯ

Сторінка 1

ПОВІДОМЛЕННЯ ПРО ПІСЛЯТРАНСФУЗІЙНЕ УСКЛАДНЕННЯ

до _____ закладу служби крові _____

Трансфузія

де: операційний зал, відділення інтенсивної терапії, відділення _____,

амбулаторія _____, інше _____

коли: в робочий час, під час чергування, у вихідний (святковий) день

Прізвище та ім'я пацієнта _____

Стать: чоловік, жінка

Дата народження / ідентифікаційний код _____

№ історії хвороби _____

Діагноз_____

Hb (до переливання) _____ Hb (після переливання) _____

Група крові пацієнта _____ Антитіла _____

Резус-приналежність пацієнта _____

Дата переливання: _____

Назва компонента крові _____Реєстраційний № _____

Група крові та Резус-приналежність компонента _____

Перелитий об'єм (мл) _____

Дата заготівлі крові _____ Термін придатності _____

Час появи реакції: під час трансфузії _____ хвилин _____ годин

після завершення трансфузії _____ хвилин _____ годин _____ днів

Перелиті компоненти:

_____

_____

_____

_____

_____

_____

Препарати:

_____

_____

_____

_____

_____

Проба на індивідуальну сумісність за системою АВ0 (не) виконана

Результат

_____

Проба на індивідуальну сумісність за системою Резус (не) виконана

Результат

_____

Клінічні симптоми / біологічні ознаки реакції

	до	після
Температура	_____	_____
Кров'яний тиск	_____	_____
Пульс	_____	_____
Порушення кровообігу	_____	_____
Гемоглобінурія	_____	_____
Інше	_____	_____

□ занепокоєння
□ тремтіння
□ свербіж
□ висипання
□ почервоніння
□ нудота/блювота
□ ниркова недостатність
□ жовтяниця
□ болі в ділянці попереку
□ болі в ділянці грудної клітки
□ болі в животі
□ задишка
□ шок
□ непритомність
інше

_____

Результати аналізів: білірубін _____ ЛДГ _____ /Нр _____

Газометрія: PO_2 _____ PCO_2 _____

Легені: фонендоскопічно _____

Рентген _____

Проведене лікування _____

_____

_____

_____

_____

□ киснетерапія □ інтубація

Інтенсивність реакції:

□ 0 — відсутність реакції

□ 1 — негайна реакція, що не загрожує життю

□ 2 — негайна реакція, що загрожує життю

□ 3 — тривала хвороба

□ 4 — смерть

Інші важливі клінічні відомості

Стан пацієнта перед трансфузією: □тяжкий □ досить добрий

Операція: □ так коли _____ □ ні

Інше

_____

_____

_____

Перелито неправильно підібраний компонент □ так □ ні

У який момент сталася помилка

_____

(проба сумісності; персонал, відповідальний за переливання; персонал, відповідальний за видачу компонента, та ін.)

Чи раніше пацієнт проходив гемотерапію □ так □ ні

Назва і кількість компонента крові, дата останнього переливання _____

_____

_____

_____

Чи під час попередніх трансфузій спостерігалися небажані реакції

□ так

_____

□ ні

Для з'ясування причини надсилаємо залишки перелитої крові/компонента

№ контейнера (компонента крові) _____ разом із набором для переливання; зразок крові пацієнта, на матеріалі якого було виконано імуногематологічні аналізи перед переливанням; зразки, взяті після переливання у кількості 5 мл на згустку і 5 мл на антикоагулянті, а також зразки крові донорів із серологічної лабораторії.

Зразки для бактеріологічних аналізів надіслано до _____

Лікар, який повідомляє про ускладнення,

_____
(печатка і підпис)

Лікар, відповідальний за трансфузію,

_____
(печатка і підпис)

Сторінка 2

ЗАПОВНЮЄ **Заклад служби крові**

у _____

Чи пов'язана реакція із трансфузією:
□ 0 — ні, це виключено
□ 1 — сумнівно
□ 2 — можливо
□ 3 — достовірно, обґрунтовано

Висновки або виявлені синдроми:
□ гемоліз — несумісність за АВ0
□ гемоліз — наявність імунних антитіл
□ посттрансфузійний тромбоцитопенічний діатез
□ алергія
□ анафілактичний шок
□ післятрансфузійна гостра дихальна недостатність
□ післятрансфузійна задишка (TAD)
□ зараження:
- ◊ бактеріальне _____
- ◊ ВІЛ
- ◊ HBV
- ◊ HCV
- ◊ ЦМВ (цитомегаловірус)

□ інший фактор
Імунізація антигенами, специфічність антитіл
- ◊ еритроцитів _____
- ◊ HLA _____
- ◊ HPA _____
- ◊ гранулоцитів _____
- ◊ IgA _____

□ Інше:
- ◊ негемолітична температурна реакція
- ◊ «трансплантат проти господаря»
- ◊ набряк легень (порушення кровообігу, переобтяження кровообігу)
- ◊ гемосидероз

Дата _____

Заповнив:

_____

У звіті про перевірку ЗОЗ, окрім переліку ретроспективних дій, мають міститися такі відомості:

– дані про персонал, який проводив переливання компонентів/препаратів крові, зазначаються у списку осіб, допущених до трансфузій;

– лікар, відповідальний за переливання, був присутній на момент початку переливання кожної дози компонента крові;

– хворий підписував поінформовану згоду на переливання компонентів/препаратів крові;

– повідомлено хворому про серйозний небажаний випадок, який став причиною тяжкої післятрансфузійної реакції.

Кінцеві причини серйозного небажаного випадку та/або тяжкої післятрансфузійної реакції встановлюються у ЗСК після отримання повного звіту з ЗОЗ та після зібрання всіх результатів лабораторних аналізів. Якщо з'ясується, що причиною стала помилка, якої припустилися у ЗОЗ, ЗСК зобов'язаний ухвалити відповідні рішення, мета яких — запобігти таким помилкам у майбутньому, письмово повідомити керівника Департаменту охорони здоров'я, зазначити термін перевірки впровадження рекомендацій та здійснити перевірку впровадження.

Документацію, що стосується небажаних випадків та/або тяжкої післятрансфузійної реакції, слід зберігати у ЗСК відповідно до діючої нормативної бази, а копії цієї документації слід негайно надіслати до ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» та Департаменту охорони здоров'я. Ця документація має включати в себе:

– правильно заповнений формуляр повідомлення про післятрансфузійне ускладнення;

– протокол дій ЗСК після повідомлення про ускладнення (разом із висновками з'ясувальних дій та розпорядженнями після перевірки);

– службові записки працівників ЗОЗ, які брали участь у події;

– копії результатів усіх лабораторних аналізів, виконаних у ЗОЗ та ЗСК;

– копії історії хвороби, температурної карти, даних із Журналу переливання трансфузійних рідин;

– копію повідомлення керівника ЗОЗ про впровадження рекомендацій;

– протокол ЗСК про здійснену перевірку впровадження рекомендацій.

Щорічно ЗСК зобов'язані надсилати до ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» (Департаменту охорони здоров'я) підсумкове повідомлення про тяжкі післятрансфузійні ускладнення (Зразок №11.2). Пункт «Оцінювання» означає ймовірність того, що перелиті компоненти крові викликали тяжку реакцію у реципієнта або що тяжка небажана реакція в донора була пов'язана з процесом здачі крові. Рівні оцінювання пояснено у Зразку №11.3.

Підсумкове повідомлення про серйозні небажані випадки ЗСК мають щорічно надсилати до ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» або Департаменту охорони здоров'я (Зразок №11.4.).

ЗСК зобов'язані збирати бланки повідомлень про післятрансфузійні ускладнення, які містять відомості про легкі реакції у реципієнтів. Сумарні дані про легкі реакції ЗСК мають щорічно надсилати до ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України». Шкалу оцінки ступеня післятрансфузійної реакції наведено у Зразку №11.5.

11.2.3. Безпека крові донорів

До складу системи безпеки крові входить:

– реєстрація реакцій, що з'являються під час донації або після неї (див. Зразок №11.6);

– аналіз даних, що стосуються відбору донорів до здачі крові, зокрема аналіз частоти відведень та причин, які до них призвели;

– збір епідеміологічних даних про донорів;

Володіння цією інформацією дозволяє:

– підвищити безпеку взяття крові та її компонентів шляхом запровадження дій, спрямованих на профілактику появи небажаних випадків і реакцій або обмеження їх кількості;

– підвищити безпеку переливань завдяки більш ретельному відбору донорів з урахуванням епідеміологічних даних.

До тяжких реакцій відносять:

– непритомність, що призводить до травми;

– серцево-судинну недостатність;
– пошкодження нерва, артерії або зараження в місці проколу.

Усі реакції, як тяжкі так і легкі, мають бути записані в картці донора.

Усі дані, зібрані в результаті вищезгаданих дій, слід як мінімум раз на рік надсилати до ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України».

Зразок №11.2

РІЧНИЙ БЛАНК ПОВІДОМЛЕНЬ ПРО ТЯЖКІ УСКЛАДНЕННЯ

<table>
<tr><td colspan="9">Заклад охорони здоров’я, що повідомляє</td></tr>
<tr><td colspan="9">Звітний період</td></tr>
<tr><td colspan="3" rowspan="3">Таблиця стосується
Концентрату еритроцитів
Концентрату тромбоцитів
Плазми
Інших компонентів крові (для кожного компонента використовувати окрему таблицю)</td><td colspan="6">Кількість виданих доз (кількість усіх виданих доз компонентів крові, а також кількість доз даного компонента крові)</td></tr>
<tr><td colspan="6">Кількість реципієнтів, яким проведено переливання (абсолютна кількість реципієнтів, а також кількість перелитих доз даного компонента крові) (якщо ця інформація доступна)</td></tr>
<tr><td colspan="6">Кількість перелитих доз (абсолютна кількість компонентів крові (доз), перелитих упродовж звітного періоду (якщо ця інформація доступна)</td></tr>
<tr><td colspan="3" rowspan="2"></td><td>Абсолютна кількість небажаних випадків</td><td colspan="5" rowspan="2">Кількість тяжких реакцій, рівень оцінювання яких (після підтвердження) — від 0 до 3 (див. Зразок №11.3)</td></tr>
<tr><td>Кількість смертей</td></tr>
<tr><td colspan="4"></td><td>Важко оцінити</td><td>Рівень 0</td><td>Рівень 1</td><td>Рівень 2</td><td>Рівень 3</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Імуногемолітична анемія</td><td rowspan="2">З причини несумісності АВ0</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="2">З причини інших алоантитіл</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Післятрансфузійне бактеріальне зараження</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Анафілаксія / надмірна чутливість</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Післятрансфузійна гостра дихальна недостатність (TRALI)</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="8">Післятрансфузійне вірусне зараження</td><td rowspan="2">HBV</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="2">HCV</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="2">ВІЛ-1/2</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="2">Інше (навести)</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="4">Післятрансфузійне зараження паразитами</td><td rowspan="2">Малярія</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="2">Інше (навести)</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Післятрансфузійна тромбоцитопенічна пурпура</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Післятрансфузійна хвороба «трансплантат проти хазяїна»</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Інші тяжкі небажані реакції</td><td>Загалом</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Смертей</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>

Зразок №11.3

РІВНІ ОЦІНЮВАННЯ ПРИ АНАЛІЗІ ТЯЖКИХ НЕБАЖАНИХ РЕАКЦІЙ

Рівень оцінювання		**Пояснення**
ВО	Важко оцінити	Якщо даних для оцінювання недостатньо
0	Виключена	Якщо є безперечні докази того, що небажана реакція відбулася з інших причин
	Малоймовірна	Якщо є чіткі докази того, що небажану реакцію можна пов'язати з іншими причинами, а не з трансфузією
1	Можлива	Якщо на підставі доказів не вдається встановити небажану реакцію, її слід пов'язувати з трансфузією чи з іншою причиною
2	Імовірна	Якщо є чіткі докази того, що небажану реакцію можна пов'язати з трансфузією
3	Достовірна	Якщо є переконливі докази того, що небажану реакцію слід пов'язати з трансфузією

Зразок №11.4

БЛАНК РІЧНОГО ПОВІДОМЛЕННЯ ПРО СЕРЙОЗНІ НЕБАЖАНІ ВИПАДКИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА ЯКІСТЬ ТА БЕЗПЕКУ КОМПОНЕНТІВ КРОВІ

Заклад охорони здоров'я, що повідомляє					
Звітний період			1 січня — 31 грудня … року		
Абсолютна кількість доз компонентів крові					
Небажаний випадок, що має вплив на якість та безпеку компонента крові, виник на етапі:	Абсолютна кількість	**Деталі**			
		Пошкодження компонента	Пошкодження апарата	Помилка людини	Інше *(розшифрувати)*
Взяття цільної крові					
Взяття методом аферезу					
Кваліфікації донації					
Виготовлення компонентів					
Зберігання					
Видачі					
Матеріалів					
Інше *(розшифрувати)*					

Зразок №11.5

ШКАЛА ОЦІНЮВАННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ПОСТТРАНСФУЗІЙНОЇ РЕАКЦІЇ

Рівень	**Інтенсивність реакції**
0	Відсутність симптомів
1	Симптоми з'явилися одразу, але не загрожували життю і повністю минули
2	Симптоми з'явилися одразу і загрожували життю
3	Тривала хвороба
4	Смерть хворого

Зразок №11.6

БЛАНК РІЧНОГО ПОВІДОМЛЕННЯ ПРО УСКЛАДНЕННЯ, ПОВ'ЯЗАНІ ЗІ ЗДАЧЕЮ КРОВІ ТА ЇЇ КОМПОНЕНТІВ

Заклад охорони здоров'я, що повідомляє			
Звітний період		1 січня — 31 грудня … року	
Абсолютна кількість одиниць крові та її компонентів			
		Процедура взяття крові	
		Мануальна	Автоматична
Ускладнення			
Гематома			
	Без симптомів		
	Із симптомами		
	Із симптомами + лікування		
Тромботичне запалення вени			
Пошкодження нерва			
	Спричинене голкою	< 7 днів	
		> 7 днів	
	Спричинене гематомою	< 7 днів	
		> 7 днів	
Пошкодження сухожилля			
Місцева інфекція шкіри			
Місцева алергічна реакція			
Загальна алергічна реакція			
Вазомоторні реакції			
	Негайні без утрати свідомості		
	Негайні з утратою свідомості		
	Ускладнені		
	Ускладнені + лікування		
	Відстрочені без утрати свідомості		
	Відстрочені з утратою свідомості		
Гіпотонія, спричинена гіповолемією			
Симптоми гіпервентиляції			
Падіння без симптомів травми			
Падіння, що призвело до травми			
Перелом кістки			
Тромбофлебіт, спричинений аферезом			
Отруєння лимонною кислотою, спричинене аферезом			
Інше (розшифрувати)			

Розділ 12
ПРИНЦИПИ ПІДБОРУ ТА ТКАНИННОГО ТИПУВАННЯ СПОРІДНЕНИХ І НЕСПОРІДНЕНИХ ДОНОРІВ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

ЗМІСТ

12.1. Донори алогенних гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 311
12.2. Загальні принципи підбору споріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин 311
12.3. Загальні принципи підбору неспоріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин 312
12.3.1. Вимоги до кандидатів у донори гемопоетичних стовбурових клітин 312
12.3.2. Відомості, що мають бути надані донорам та кандидатам у донори гемопоетичних стовбурових клітин 313
12.3.3. Наступні етапи залучення донора гемопоетичних стовбурових клітин 314
12.3.4. Медична анкета донора гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 315
12.3.5. Долучення до реєстру неспоріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 316
12.3.5.1. Порядок долучення (рекрутингу) потенційних донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 316
12.3.5.2. Інформована згода про надання крові для HLA типування 317
12.3.5.3. Інформована згода про внесення відомостей HLA типування до реєстру потенційних донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 318
12.3.5.4. Порядок пошуку сумісного донора 319
12.3.5.5. Форма запиту на пошук сумісного донора 320
12.3.5.6. Інформована згода донора на донацію гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 321
12.3.6. Декларація долучення до Всеукраїнського центрального реєстру донорів кісткового мозку та пуповинної крові 322
12.3.7. Листівка з основною інформацією для донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові 323
12.4. Характеристика системи генів та антигенів лейкоцитів людини 324
12.5. Методи тканинного типування 326
12.5.1. Серологічні методи HLA типування 326
12.5.1.1. Стандартний лімфоцитотоксичний тест 326
12.5.1.2. Виділення лімфоцитів 327
12.5.1.3. Проведення лімфоцитотоксичного тесту. 327
12.5.2 Методи генотипування HLA 330
12.5.2.1. Виділення ДНК 330
12.5.2.2. Вимірювання концентрації та чистоти ДНК 330
12.5.2.3. HLA генотипування методом ПЛР-ССП 331
12.5.2.4. HLA генотипування методом ПЛР-ССОП 331
12.5.2.5. HLA генотипування з використанням технології Luminex 332
12.5.2.6. HLA генотипування з використанням секвенування 333
12.5.3. Контроль якості HLA типування 334

12.1. Донори алогенних гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

Підбір спорідненого або неспорідненого донора гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК) за специфічністю генів тканинної сумісності HLA класу I та класу II здійснюється виключно для пацієнтів, які мають медичні показання до трансплантації таких клітин.

Абревіатура HLA використовується для позначення системи ідентифікації унікальних маркерів (людські лейкоцитарні антигени, антигени тканинної сумісності, антигени гістосумісності) головного комплексу тканинної сумісності МНС, які розпізнаються імунною системою.

УВАГА!

А. Трансплантація алогенних ГСК — це операція, мета якої — заміщення патологічного кісткового мозку пацієнта гемопоетичними стовбуровими клітинами здорового донора. Слід зауважити, що термін «трансплантація кісткового мозку» (ТКМ) не є коректним. Для трансплантації використовують не кістковий мозок як такий, а його гемопоетичні (кровотворні) стовбурові клітини (ТГСК кісткового мозку). Донедавна кістковий мозок був єдиним джерелом таких стовбурових клітин. Основними джерелами ГСК є периферична кров, кістковий мозок та пуповинна кров. Завдяки використанню процедури мобілізації стовбурових клітин, а саме стимуляції міграції (виходу) гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку в кровотік із застосуванням гранулоцитарно-макрофагальних колонієстимулюючих факторів та подальшої їх сепарації, найбільшого поширення набула алогенна трансплантація ГСК, мобілізованих з кісткового мозку в периферичну кров (ТГСК периферичної крові). Як джерело ГСК використовують також пуповинну кров. Таким чином, у загальному випадку слід говорити «трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин» (ТГСК). У даному розділі розглядаються принципи підбору донорів для проведення алогенних ТГСК.

Б. Показання до трансплантації ГСК охоплюють ряд онкологічних й неонкологічних хвороб кровотворної та імунної систем, а також деякі інші захворювання.

В. Підставою для виконання аналізів, необхідних для підбору спорідненого донора, є показання, визначені медичною комісією для трансплантації.

Г. Залучення неспоріднених донорів ГСК відбувається за наявності медичних показань до трансплантаії (при відсутності протипоказань) та фінансових можливостей.

12.2. Загальні принципи підбору споріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин

Мета аналізу тканинної сумісності між пацієнтом та членами його родини — виявити, у кого з-поміж родичів є два HLA гаплотипи, ідентичні гаплотипам хворого, а також виключення явища рекомбінації.

Якщо йдеться про біологічних братів чи сестер (сибсів) — достатньо буде підтвердити наявність таких самих алелів HLA A, B, C, DRB1 та DQB1 на рівні низької роздільної здатності. У деяких випадках Центр трансплантації допускає можливість неповної сумісності за антигенами HLA між спорідненим донором та хворим. На підставі отриманих результатів здійснюється підбір оптимального спорідненого донора.

Шанс на повну сумісність HLA кожного брата чи сестри становить близько 25%. Приблизно у 1–3% випадків повністю сумісним донором може виявитися хтось із батьків.

Відтак, типування HLA гаплотипу має охоплювати пацієнта і всіх його найближчих родичів, тобто батьків, братів та сестер.

Відсутність сумісного спорідненого донора дає підстави розпочинати пошук та підбір неспорідненого донора.

Процедура підбору спорідненого донора включає в себе два аналізи:

1. Первісне типування пацієнта та його найближчих родичів як мінімум на рівні антигенів HLA-A, B, DRB1 на низькому рівні роздільної здатності.

Результатом цього аналізу буде або знаходження сумісного донора (тоді необхідно буде зробити повторний аналіз на матеріалі знову зібраних зразків крові), або виключення наявності сумісного донора в родині (тоді підтверджувального аналізу можна не робити, натомість розпочати пошук неспорідненого донора).

2. Підтверджувальне (трансплантаційне) типування пацієнта і первісно сумісного/их донора/ів виконується на матеріалі окремо взятих зразків крові.

Аналіз включає в себе повторне визначення на високому рівні роздільної здатності HLA-A та інших раніше проаналізованих алелів локусів B, DRB1 задля підтвердження результатів, одержаних під час первісного типування, а також аналіз HLA-C та DQB1, який виконується з метою підтвердження відсутності явища рекомбінації, або кросинговеру (англ. crossing over).

Антигенна сумісність пацієнта з сибсом за HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 або за HLA-A, B, C, DRB1 (у деяких випадках) є підставою допущення спорідненого донора до трансплантації ГСК. У випадку сумісності з біологічними батьками використовується схема підбору як для неродинного донора.

У підтверджувальному (трансплантаційному) типуванні немає необхідності, якщо первісне типування показало однозначну несумісність HLA з потенційними спорідненими донорами.

Однак підтверджувальне (трансплантаційне) типування виконується в тих випадках, у яких допустимим є підбір неповністю сумісного спорідненого донора (за винятком випадків, коли немає співпадіння алелів локусів A, B та DRB1, що може призвести до відторгнення трансплантата).

УВАГА! *Підтверджувальне (трансплантаційне) типування неповністю сумісного спорідненого донора, кваліфікованого у свій час як донора ГСК, має включати в себе тестування на рівні високої роздільної здатності HLA-A, B, C, DRB1 та DQB1.*

12.3. Загальні принципи підбору неспоріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин

Центр неспоріднених донорів ГСК (Центр донорів), зобов'язаний надавати інформацію про наявність донора з певним генотипом HLA безпосередньо або ж за посередництвом реєстру потенційних донорів ГСК, що має зв'язок з міжнародною базою донорів.

HLA генотипи донорів з усього світу доступні для авторизованих центрів відбору донорів за допомогою Європейської інформаційної системи донорів кісткового мозку EMDIS через єдиний вебсайт міжнародної бази Bone Marrow Donor Worldwide — www.bmdw.org.

Набір та тестування кандидатів у неспоріднені донори ГСК ґрунтуються виключно на добровільних засадах та спираються на висловлену з самого початку кандидатом волю і згоду надати кістковий мозок для потреб пацієнта, незалежно від місця проживання цього пацієнта й від інших особливостей, що його вирізняють.

З огляду на результати тканинного типування потенційний донор ГСК є водночас найкращим і найдоступнішим донором концентратів тромбоцитів, сумісних за HLA класу I. Особи, які дають згоду на своє залучення до реєстру неспоріднених донорів кісткового мозку, мають бути про це поінформовані, а свідома згода на включення до реєстру донорів тромбоцитів має бути висловлена окремо (тобто донор може дати згоду лише на один різновид донорства або на обидва, залежно від своєї власної волі).

12.3.1. Вимоги до кандидатів у донори гемопоетичних стовбурових клітин

Кандидати у донори ГСК повинні мати повні 18 років і не бути старшими за 45 років. Кандидати і потенційні донори ГСК віком понад 60 років автоматично дискваліфікуються та/або вибувають з реєстру.

Кандидат у донори ГСК має відповідати всім вимогам, що висуваються до донорів крові.

Постійне відсторонення (дискваліфікація) від здачі крові автоматично відсторонює особу і від здачі ГСК на постійний час, а тимчасове відсторонення — відсторонює тимчасово.

Кандидат у донори ГСК зобов'язаний заповнити індивідуальну медичну анкету донора ГСК, а також підписати інформовані згоди про HLA типування зразків його крові та про приєднання

до реєстру неспоріднених донорів кісткового мозку (приклади наведено у пп. 12.3.4, 12.3.5, 12.3.6.2 відповідно).

12.3.2. Відомості, що мають бути надані донорам та кандидатам у донори гемопоетичних стовбурових клітин

Кандидат у донори ГСК або донор ГСК має отримувати доступну інформацію про:

1) роль кісткового мозку в організмі та важливість трансплантації ГСК для пацієнта;
2) процес набору та тестування донорів;
3) способи взяття ГСК та пов'язані із цим можливі загрози для здоров'я донора. Донор має бути перевірений лікарем, який не бере участі в трансплантаційній процедурі й повинен оцінити його/її ризики проходження процедури донації, виключення ризиків для донора, що є абсолютною причиною припинити донацію:
4) залежність здоров'я і життя пацієнта від донорської співпраці на різних етапах;
5) необхідність проведення додаткових досліджень після визначення первісної сумісності та здійснення початкового підбору донора;
6) можливість відкликати свою згоду на донацію ГСК на будь-якому етапі набору та тестування донорів;
7) необхідність письмової інформованої згоди на донацію ГСК та згоди на супровідні процедури;
8) можливість тимчасового відсторонення донора за станом здоров'я від донації та/або знищення файла донора у реєстрі при неможливості виконання функції донора за медичними показаннями або за власним бажанням;
9) захист персональних даних донора та іншої інформації, що стосується донорства.

Консультування донорів

Донор повинен бути проконсультований у трьох окремих випадках:

(а) Коли він є залучений до реєстру.
(б) Коли відібраний для подальших тестів.
(в) Коли остаточно вибраний як донор.

Консультування у донорському центрі має включати в себе надання донору інформаційного листа (листівки) про особливості донорства ГСК кісткового мозку або периферичної крові, донор може вимагати надання відповідної літератури, щоб ознайомитися з нею вдома.

Консультування має охоплювати такі теми:

(а) акцентування на анонімності донора і пацієнта;
(б) необхідність подальших тестів крові перед донацією;
(в) необхідність тестування на інфекційні хвороби, особливо ВІЛ і HBsAg;
(г) ризики анестезії, процедур збору і асоційовані ризики;
(д) право донора відмовитись і наслідки для пацієнта, якщо це право використане після того, як розпочато трансплантаційний протокол (під час проведення або завершення режиму кондиціонування);
(е) потребу пацієнта у трансплантації ГСК і шанс на успіх, описаний загальними словами;
(є) можливість повторної трансплантації для того самого пацієнта;
(ж) можливість повторної донації для донора;
(з) місцезнаходження центрів збору ГСК, зручних для донора;
(і) витрати часу на всі етапи донації;
(к) деталі компенсації на відновлення здоров'я, за втрачений час, транспортні витрати та втрачений дохід тощо.

Уся необхідна інформація для волонтерів реєстру неспоріднених донорів кісткового мозку має бути доступна у письмовій формі та розміщена на видному місці, наприклад, у вигляді листівки (лист інформування) (приклад наведено у п. 12.3.7.).

12.3.3. Наступні етапи залучення донора гемопоетичних стовбурових клітин

Залучення волонтерів до реєстру неспоріднених донорів ГСК має на меті збільшення вірогідності підбору сумісного з пацієнтом донора за рахунок генетичного розмаїття потенційних донорів.

Завдання донора — чекати, доки буде виявлений пацієнт, який потребуватиме відповідної трансплантації, і дати на неї згоду. Очікування може тривати довго — більшість зареєстрованих донорів так ніколи й не бувають залучені для донації ГСК.

У випадку виявлення первісної сумісності (найчастіше — за HLA-A, B, DRB1 на рівні низької роздільної здатності) із пацієнтом, який потребує трансплантації, настає черга для певних кроків, мета яких — координація подальших дій.

- Установлення контакту з донором задля перевірки актуальності його контактних даних в реєстрі (телефонів, електронної пошти та адреси) — виконує Центр донорів ГСК кісткового мозку та периферичної крові.
- Медичне обстеження стану здоров'я донора та оновлення анкети донора — виконує Центр донорів ГСК кісткового мозку та периферичної крові.
- Надання нового зразка крові для додаткових і підтверджувальних тестів HLA (трансплантаційне типування), а також для тестування на маркери інфекційних захворювань.

Аналізи HLA класу I та класу II з високою роздільною здатністю виконує авторизована лабораторія тканинного типування; аналізи на маркери інфекційних захворювань доповнюються аналізами на ЦМВ IgM та ЦМВ IgG, а також аналізами групи крові за системою AB0 та Резус — виконує Центр донорів ГСК кісткового мозку і периферичної крові та передає результат до осередку, який координує пошук донорів.

- Після підтвердження сумісності з хворим і отримання результатів додаткових тестів донор отримує початковий дозвіл на донацію ГСК (такий дозвіл дають лікарі осередку трансплантації ГСК кісткового мозку та периферичної крові).

Водночас лікар визначає орієнтовний термін трансплантації. Безпосередньо перед донацією ГСК донор повинен отримати дозвіл з медичної точки зору (такий дозвіл надає лікар, який не бере безпосередньої участі у процедурі трансплантації). Тоді донор дістає додаткову доступну інформацію про процедуру взяття в нього ГСК та підписує інформовану згоду на виконання маніпуляції взяття ГСК та можливу стимуляцію препаратами для збільшення кількості стовбурових клітин в периферичній крові (англ. granulocyte colony-stimulating factor — G-CSF).

До обов'язкових аналізів донора включаються всі аналізи, що їх вимагають лікарі медичного центру, який виконуватиме трансплантацію ГСК.

На момент остаточного кваліфікування донора результати тестів на маркери інфекційних захворювань не повинні бути більш давніми ніж ті, які визначено нормативними документами. Медичні відомості, закодовані під ідентифікаційним номером (ID) донора, передаються у трансплантаційний центр та узгоджується остаточний термін надання ГСК для трансплантації.

12.3.4. Медична анкета донора гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

АНКЕТА СТАНУ ЗДОРОВ'Я ДОНОРА ГСК КІСТКОВОГО МОЗКУ ТА/АБО ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ *(приклад)**

Номер донора ……..…….……

Ім'я та прізвище ……

Ідентифікаційний код ……..

Увага! *Метою анкет* є турбота про безпеку реципієнта кісткового мозку та гарантування безпеки потенційному донорові ГСК. Відсутність відповіді на будь-яке питання, адресоване до донора, потягне за собою невключення до реєстру неспоріднених донорів кісткового мозку.*	Потрібне обвести кружечком
1. Чи на даний час ти здоровий/а?	так, ні
2. Скільки ти важиш?	…… кг
3. Який маєш зріст?	…… см
4. Чи ти є активним донором крові на даний час?	так, ні
5. Чи був/ла ти колись відстороненій/а від здачі крові? (зазначити причину) ……	так, ні
6. Чи переливали тобі колись кров або її препарати?	так, ні
7. Для жінок:	
— чи ти вагітна?	так, ні
— скільки разів ти була вагітна?	……
8. Чи мав/ла ти колись підвищену температуру з нез'ясованої причини?	так, ні
9. Чи вживаєш ти ліки (у тому числі аспірин)?	так, ні
10. Чи робили тобі останнім часом профілактичні щеплення? (проти: ……)	так, ні
11. Чи хворів/ла ти будь-коли на серйозні хвороби або чи мав/ла якийсь із наведених нижче симптомів (якщо так — обвести кружечком):	
– жовтяниця, малярія, туберкульоз, ревматична лихоманка?	так, ні
– хвороби серця, підвищений або знижений кров'яний тиск?	так, ні
– алергії, алергійний ринокон'юнктивіт, астма?	так, ні
– судоми або захворювання нервової системи?	так, ні
– цукровий діабет?	так, ні
– задишка, інсульт, інфаркт?	так, ні
– якщо так, то чи вживаєш постійно ліки?	так, ні
А. Запитання для з'ясування ризику зараження ВІЛ/HBV/HCV	
1. Чи ознайомлений/а ти з інформацією про СНІД (ВІЛ) та про вірусний гепатит?	так, ні
2. Чи мав/ла ти будь-коли ін'єкції наркотиків?	так, ні
3. Чи ти будь-коли одержував/ла гроші або наркотики взамін за секс?	так, ні
4. Для чоловіків: чи ти будь-коли кохався з чоловіком?	так, ні
5. Для жінок: чи відомо тобі, щоб котрийсь із чоловіків, із якими ти кохалася протягом останніх 12 місяців, кохався з іншим чоловіком?	так, ні
6. Чи протягом останніх 12 місяців ти кохався/лася з партнером, який:	
– має позитивний ВІЛ-статус або хворіє на вірусний гепатит?	так, ні
– вколює або вколював собі наркотики?	так, ні
– бере чи брав гроші або наркотики взамін за секс?	так, ні
7. Чи стикався/лася ти з вірусним гепатитом через контакти з членами родини або контакти по роботі?	так, ні
8. Чи протягом останніх 12 місяців були в тебе:	
– операція, ендоскопія, біопсія або хірургічна стоматологічна маніпуляція?	так, ні
– косметичні проколи тіла або татуювання?	так, ні

– акупунктурне лікування, яке здійснював не зареєстрований лікар, а хтось інший?	так, ні
– переливання крові або її препаратів?	так, ні
– випадковий укол голкою або дотик до слизової оболонки предметом, забрудненим кров'ю?	так, ні
Б. Контакт із герпесвірусами (*не є підставою для дискваліфікації донора*)	
9. Чи відомо тобі про можливі захворювання в минулому:	
– на вітряну віспу?	так, ні
– кружлястий (оперізуючий) лишай?	так, ні
– герпес губ?	так, ні
– герпес геніталій?	так, ні
– інфекційний мононуклеоз?	так, ні
– цитомегалію?	так, ні
В. Запитання для з'ясування ризику під час знеболення	
10. Чи піддавався/лася ти колись анестезії?	так, ні
11. Якщо так, то чи були в тебе якісь ускладнення або нетипові реакції?	так, ні
Г. Запитання для з'ясування ризику хвороби Кройцфельда—Якоба та інших хвороб	
12. Чи в період від 01.01.1980 до 31.12.1996 ти перебував/ла безперервно впродовж 6 місяців або довше у Великій Британії, Франції або Ірландії?	так, ні
13. Чи були у твоїй родині випадки хвороби Кройцфельда—Якоба?	так, ні
14. Чи пересаджували тобі коли-небудь рогівку?	так, ні
15. Чи пересаджували тобі коли-небудь тверду оболонку головного мозку?	так, ні
16. Чи мав/ла ти будь-коли якусь іншу пересадку? (зазначити, яку) ……	так, ні
17. Чи проходив/ла ти будь-коли лікування екстрактом з гіпофіза людини (гормоном росту)?	так, ні
18. Чи протягом останніх 12 місяців ти перебував/ла у країнах Центральної, Західної Африки або у Таїланді?	так, ні
19. Чи хворів/ла ти на малярію або інші тропічні хвороби?	так, ні
Ґ. Запитання щодо ризикованого стилю життя	
20. Чи хворів/ла ти будь-коли на якусь хворобу, що передається статевим шляхом?	так, ні
21. Чи протягом останніх 12 місяців ти перебував/ла у слідчому ізоляторі або у в'язниці?	так, ні

Дата: …….. Підпис донора: …….

** Для коректного формування Донорським центром опитувальної анкети для збору інформації про потенційного донора необхідно користуватись чинними нормативними документами Міністерства охорони здоров'я України.*

12.3.5. Долучення до реєстру неспоріднених донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

12.3.5.1. Порядок долучення (рекрутингу) потенційних донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

Подальше збільшення кількості алогенних трансплантацій стовбурових кровотворних клітин з метою відновлення кровотворення або імуногенезу можливе лише при широкому використанні як трансплантатів гемопоетичних стовбурових клітин, отриманих від неспоріднених донорів. З метою реалізації даного напрямку створюються реєстри донорів стовбурових кровотворних клітин, що включають списки осіб з ідентифікованим HLA типом.

Включення потенційного донора до реєстру здійснюється на основі повного медичного обстеження, заповнення необхідної реєстраційної анкети, підписання інформованої згоди на імуногенетичне типування зразків крові та інформованої згоди щодо включення до Реєстру донорів.

Персональні дані донорів вносяться у базу даних Реєстру.

Інформовані згоди зберігаються в інформаційній базі даних Реєстру та в архіві у паперовому вигляді. Інформовані згоди візуються відповідальними особами та передаються до Реєстру для обробки, зберігання та формування пошукових запитів неспоріднених алогенних донорів ГСК.

Доступ до архіву та баз даних Реєстру мають тільки уповноважені представники Реєстру з дотриманням законодавства про захист персональних даних.

При долученні (рекрутингу) потенційних донорів ГСК визначається:

– необхідність набору груп потенційних донорів, виходячи з обсягів фінансування;
– контингент для набору груп волонтерів;
– обставини проведення співбесіди. Під час співбесіди потенційний донор має бути вичерпно поінформований з питань стосовно структури і функцій реєстру потенційних донорів, мети донорства ГСК, процедури донорства в залежності від джерела гемопоетичних стовбурових клітин, ризиків для донора, фінансових витрат та часу, що буде витрачений донором, медичної підтримки, що буде йому надана, місця та часу проведення бесіди, форми інформованих згод і обсягу особистих відомостей, що необхідні для обробки його персональних та медичних даних.

У донорському центрі проводиться взяття зразків крові, їх перевірка на інфекційну безпеку.

Знеособлені зразки крові та висновки про інфекційну безпеку зразків направляються до лабораторії тканинного типування. Лабораторія тканинного типування проводить типування зразків, складає звіт про результати типування та направляє його до Реєстру.

Результати типування та дані інформованих згод зберігаються в базі даних Реєстру для обробки запитів на пошук сумісного донора для трансплантаційної допомоги хворим за медичним показаннями.

12.3.5.2. Інформована згода про надання крові для HLA типування

ІНФОРМОВАНА ЗГОДА
про надання крові для HLA типування щодо потенційного донорства *(приклад)*

Цією згодою я засвідчую свою готовність добровільно надати зразок моєї крові для проведення типування та отримання відомостей про мій HLA тип.

Я згодний(а) надати 20 мл своєї крові для HLA типування та для проведення первинного обстеження на інфекційні захворювання (в тому числі ВІЛ).

Я інформований(а) про те, що зразок крові буде взято у стерильних умовах з використанням одноразових засобів з вени на руці кваліфікованим персоналом.

Якщо мій HLA тип буде сумісним з HLA типом пацієнта, якому потрібна трансплантація ГСК кісткового мозку або периферичної крові, я буду інформований(а) про це додатково, і тільки після моєї згоди може бути вирішено питання щодо донорства та подальшого використання моїх клітин.

Я інформований(а) та погоджуюсь, що надання зразка крові не оплачується і не передбачає будь-яких витрат від донора.

Я залишаю за собою право в будь який момент в односторонньому порядку припинити дію цієї інформованої згоди, враховуючи принципи донорства, а саме: добровільність, анонімність та безкоштовність.

Прізвище _____

Ім'я _____ По батькові _____

Дата народження ____ / ____ / _____

Контактний телефон _____

Адреса _____

(місце проживання)

Адреса _____

(місце реєстрації)

Дата _____ / _____ / _____ Підпис_____

Керівник закладу (установи), де виконується типування

Прізвище _____

Ім'я _____ По батькові _____

Дата _____ / _____ / _____ Підпис_____

М.П.

12.3.5.3. Інформована згода про внесення відомостей HLA типування до реєстру потенційних донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

ІНФОРМОВАНА ЗГОДА
про внесення відомостей HLA типування до Реєстру потенційних донорів (*приклад*)

Цією згодою я засвідчую свою готовність добровільно надати відомості про мене та мій HLA тип для внесення цих відомостей до бази даних реєстру донорів ГСК кісткового мозку та периферичної крові.

Я достатньо інформований про донорство гемопоетичних стовбурових клітин та кісткового мозку (надання донорського матеріалу здійснюється у клінічних умовах із забезпеченням необхідної стерильності, кваліфікованим персоналом: надання стовбурових клітин здійснюється методом сепарації крові донора після застосування препаратів для стимулювання збільшення кількості стовбурових клітин у крові; надання кісткового мозку здійснюється за умови госпіталізації донора в стаціонарі під місцевим або загальним наркозом в операційній шляхом взяття необхідної кількості кісткового мозку).

Я усвідомлюю, що на всі мої запитання, що стосуються взяття крові, HLA типування та донорства, що можуть виникнути у майбутньому, я отримаю вичерпні об'єктивні відповіді від співробітників Реєстру та кваліфікованих лікарів.

Я згоден повідомити про своє прізвище, ім'я та по батькові, свою адресу реєстрації та адресу місця проживання, контактні телефони (домашній телефон, мобільний телефон, адресу електронної пошти) для внесення цих відомостей до Реєстру.

Я згоден надати необхідну інформацію про моє здоров'я, відомі мені протипоказання щодо донорства та результати щодо перевірки моєї крові на інфекційні захворювання для внесення цих відомостей до Реєстру.

Мені відомо, що вся інформація про мене і моє здоров'я є конфіденційною та буде захищена і зберігатиметься у Реєстрі за моїм кодом потенційного донора. Доступ до цієї інформації буде надано тільки спеціалістам Реєстру, що мають доступ до такої інформації за їх службовими обов'язками.

Я повідомлений про те, що інформацію про мене та моє здоров'я не буде використано без мого дозволу, крім інформації про результати HLA типування, відсутність інфекційних захворювань, та коду потенційного донора, яка є відкритою та необхідна для пошуку сумісного реципієнта.

Я усвідомлюю, що згода стати потенційним донором є першим етапом донорства гемопоетичних стовбурових клітин або кісткового мозку. Якщо мій HLA тип буде сумісним з HLA типом пацієнта, якому потрібна трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин або кісткового мозку, я буду інформований про це додатково, і тільки після моєї згоди може бути вирішене питання про донорство та використання моїх клітин як трансплантата.

Я залишаю за собою право в будь-який момент в односторонньому порядку припинити дію цієї інформованої згоди.

Я повідомлений про те, що після припинення дії цієї інформованої згоди за моїм бажанням спеціалісти Реєстру видаляють з бази даних всі записи про мене.

Потенційний донор
Прізвище _____
Ім'я _____ По батькові _____
Дата народження ____ / ____ / _____
Контактний телефон _____
Адреса _____
(місце проживання)
Адреса _____
(місце реєстрації)
Дата _____ / _____ / _____ Підпис_____
Код потенційного донора / / / / / / / /

Керівник Реєстру
Прізвище _____
Ім'я _____ По батькові _____
Дата _____ / _____ / _____ Підпис_____
М.П.

12.3.5.4. Порядок пошуку сумісного донора

Алгоритм пошуку та процесу підбору гістосумісносного неспорідненого донора включає в себе кілька важливих етапів:

1. HLA тканинне типування донора і реципієнта.
2. Отримання відповіді на запит про наявність гістосумісного донора у базі даних Реєстру.
3. Проведення порівняння відповідних HLA антигенів пацієнта і донора. За результатами відбирається донор з повністю сумісними або частково сумісним (у деяких випадках) з пацієнтом набором алелів. Для трансплантації можуть відбирати частково сумісного донора (при відсутності повністю ідентичного). Прийнятний ступінь сумісності донора і реципієнта визначається з урахуванням нозології і стадії захворювання пацієнта.
4. Надання відповіді на пошуковий запит у встановленій формі (приклад п. 12.3.5.5.) та у необхідний термін.
5. У випадку співпадіння генотипів потенційного донора та реципієнта направляється запит на активацію донора.

5.1. Для активації донора необхідно зв'язатися з ним, використовуючи контактні дані надані донором в його анкеті.

5.2. Донор запрошується до найближчого донорського центру для проведення аналізів на інфекційну безпеку.

5.3. У випадку відсутності протипоказань до донорства проводиться інформаційна співбесіда з донором для роз'яснення ризиків та процедури донації, ризиків для реципієнта у випадку відмови донора на етапі донації, коли розпочався трансплантаційний протокол.

За згодою донора на співбесіді можуть бути присутні спеціалісти Реєстру, необхідні спеціалісти Донорського центру, родичі потенційного донора.

5.3.1. У разі відмови донора складається звіт. Звіт зберігається у Донорському центрі, базі даних та архіві Реєстру.

5.4. У разі надання остаточної інформованої згоди донора на донацію з донором та центром узгоджується процедура та підписується інформована згода на донацію ГСК кісткового мозку або периферичної крові.

5.4.1. У разі відмови донора на етапі донації (після того, як розпочався трансплантаційний протокол) складається звіт. Звіт зберігається у Донорському центрі, базі даних та архіві Реєстру.

6. Після отримання донорських ГСК кісткового мозку або периферичної крові організовується транспортування трансплантату до трансплантаційного центру.
7. Після проведення трансплантації необхідно отримати звіт про результати трансплантації.
8. Післятрансплантаційний супровід донора проводять щорічно протягом п'яти років. Перші шість місяців опитування проводяться щомісяця.

12.3.5.5. Форма запиту на пошук сумісного донора

Форма №_____ (*приклад*)

Дата відповіді на пошуковий запит ____ / ____ / _____	Пошук проведено серед: ☐ тільки донорів стовбурових клітин / кісткового мозку ☐ тільки одиниць пуповинної крові ☐ донорів ГСК і одиниць пуповинної крові	
Дата народження: ____ / ____ / _____	Стать: ☐ Чол. ☐ Жін.	ЦМВ статус: ☐ Позитивний ☐ Негативний ☐ Невідомий
Дата проведення актуальних аналізів на інфекційну безпеку: ____ / ____ / _____		
Расова приналежність (*за бажанням*)		Географічне походження (*за бажанням*)

Результати типування донора	**Клас I:**		
	A	**B**	**C**
Перший антиген			
Другий антиген			
Метод типування	☐ Серологія ☐ДНК	☐ Серологія ☐ ДНК	☐ Серологія ☐ ДНК

Результати типування донора	**Клас II:**			
	DRB1	**DRB3/4/5**	**DQB1**	**DPB1**
Перший антиген				
Другий антиген				
Метод типування	☐ Серологія ☐ ДНК	☐ Серологія ☐ ДНК	☐ Серологія ☐ ДНК	☐ Серологія ☐ ДНК
Реєстр, що надає відповідь:				
Координатор:				
Телефон:	Факс:		E-mail:	

При позитивній відповіді за цією формою на пошуковий запит здійснюється процедура вибору найкращого співпадаючого донора/ів (виконує осередок трансплантації) та процедура активації донора/ів, підписання інформованої згоди на донацію та залучення до процесу донації ГСК (виконує Донорський центр та Реєстр).

Після пошуку сумісних з реципієнтом неспоріднених алогенних донорів у базах даних національних реєстрів можливим є формування та направлення пошукового запиту до міжнародної бази донорів.

Міжнародний запит надсилається відповідно до порядку та встановлених форм міжнародних організацій донорів кісткового мозку, донорів гемопоетичних стовбурових клітин периферичної крові та донорських банків пуповинної крові.

Суб'єктами формування міжнародних запитів є:

1) реєстри донорів;

2) трансплантаційні центри (осередки трансплантації);

3) фізичні особи: реципієнт, його родичі, офіційно визнані опікуни.

Найкращим результатом пошуку сумісного донора є співпадіння гаплотипу HLA донора та реципієнта на рівні 10/10 високої роздільної здатності відповідно до номенклатури HLA (Міжнародна база даних IMGT/HLA Database web site).

12.3.5.6. Інформована згода донора на донацію гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

Назва регіонального центру донорів
Назва центру трансплантації ГСК кісткового мозку та периферичної крові

ІНФОРМОВАНА ЗГОДА
потенційного донора на донацію гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та/або периферичної крові *(приклад)*

Ідентифікаційний номер (**ID**) донора

Прізвище ……. Ім'я …… По батькові ……
Дата народження ……
Серія і номер паспорта ……
виданий ким і коли ……
Адреса ……..
Телефони: мобільний ……. робочий …… домашній …….
e-mail …….

Висловлюю бажання надати ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові для порятунку життя хворого, який не є моїм родичем і не має спорідненого донора.

Я свідомо і без примусу надаю добровільну згоду на вилучення клітин для виготовлення клітинних трансплантатів, які будуть застосовані для трансплантаційної допомоги хворому за медичними показаннями.

Заявляю про добровільну участь у донації ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові та даю згоду на анонімну та безоплатну донацію ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові у разі встановлення сумісності з реципієнтом.

Я поінформований/а про суть медичного втручання, щодо процесу та можливих ризиків донації ГСК кісткового мозку та периферичної крові.

Не заперечую проти зберігання мого зразка крові для додаткових аналізів та тестування.

Не маю застережень стосовно критеріїв відбору реципієнта за показниками тканинної сумісності.

Даю згоду на обробку моїх даних уповноваженим на це особам та відкрите використання знеособлених медичних даних згідно з чинним законодавством.

Я поінформований:

– про мої права у зв'язку з виконанням донорських функцій;
– що узяття кісткового мозку відбувається під загальною анестезією, вимагає перебування в лікарні, за що я одержу лікарняний лист;
– що узяття гемопоетичних стовбурових клітин з периферичної крові не вимагає анестезії, а виконується за допомогою мобілізуючих препаратів та сепараторами клітин периферичної крові;
– про можливі ускладнення, що можуть виникнути під час вилучення клітин, та призначення ліків, якщо в них виникне необхідність;
– що при необхідності повторної трансплантації, заради блага реципієнта, я згоден повторно здати ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові з урахуванням медичних показників щодо цього;
– що я не можу визначати спосіб використання мого донорського матеріалу та не можу вибирати конкретну особу, якій буде проводитись трансплантація;
– що я не маю права шукати контакту з реципієнтом моїх ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові із будь-якою метою, крім як за його бажанням, висловленим незалежно від мого.
– що кошти, пов'язані з донацією ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові, покриває медичний заклад, в якому відбувається трансплантація, і отримання грошової компенсації за донорський матеріал не допускається;
– я маю право відкликати свої дані з Реєстру.

Я даю згоду на додаткові інвазійні маніпуляції (послідовні обстеження), у яких може виникнути потреба при вилученні клітин.

Я зобов'язуюсь не висувати претензій з метою отримання інформації щодо подальшого застосування наданого мною донорського матеріалу.

Я хочу стати донором ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові і даю свою згоду на медичне втручання.

Зобов'язуюсь повідомляти реєстр та донорський центр про зміну своєї адреси проживання, та інших пошукових реквізитів.

Дата _____ / _____ / _____ Підпис донора _____

Згоду посвідчено:

_____

посада та підпис керівника закладу охорони здоров'я, на базі якого проводиться вилучення анатомічного матеріалу

Дата _____ / _____ / _____

12.3.6. Декларація долучення до Всеукраїнського центрального реєстру донорів кісткового мозку та пуповинної крові

Враховуючи наявність у національній популяції гено-географічних зон локалізації HLA гаплотипів, подібних між собою, є доцільним з медичних та економічно-фінансових міркувань формувати мережу реєстрів, що охоплюють території регіонів, та інтегрувати інформацію про зареєстрованих потенційних неспоріднених алогенних донорів до Всеукраїнського центрального реєстру донорів кісткового мозку та пуповинної крові.

Відомості з регіональних реєстрів консолідуються у центральному реєстрі з метою оптимізації термінів і фінансових витрат пошуку сумісних донорів у національній популяції та формування міжнародного пошуку і обробки наданих запитів з інших країн.

Національний центральний реєстр має бути авторизований/акредитований профільними міжнародними організаціями.

Порядок формування реєстрів на регіональному рівні і центрального реєстру не відрізняються між собою.

Додатковою є реєстрація типованих відповідно до головного комплексу гістосумісності донорських зразків стовбурових клітин пуповинної крові, що надані добровільно та зберігаються у публічному донорському кріобанку.

Кожен із донорів може зареєструватись у будь-якому реєстрі за власним бажанням.

Якщо донор хоче бути внесеним саме до центрального реєстру, він звертається за електронною адресою реєстру та/або телефоном/факсом щодо безпосереднього вступу, або з пропозицією про передачу його файлу бази даних та паперових відомостей з регіонального реєстру до центрального з процедурою знищення запису про нього у регіональному реєстрі (тобто доручає уповноваженій особі центрального реєстру обробляти та використовувати його знеособлені дані відповідно до законодавства про захист персональних даних).

Процедури внесення донорів до Всеукраїнського центрального реєстру донорів кісткового мозку та пуповинної крові аналогічні викладеним вище та не відрізняються як для постійних (штатних) донорів крові та її компонентів, так і для волонтерів, що виявили бажання стати донорами ГСК.

12.3.7. Листівка з основною інформацією для донорів гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та периферичної крові

Листівка (лист інформування) донорів ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові
(*приклад*)

Донація ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові для трансплантації, повинна бути добровільною і безоплатною за будь-яких обставин; не повинно бути жодного примусу щодо донора.

Донор має дати інформовану згоду на донацію крові або компонентів крові з подальшим законним їх використанням.

Донор має бути поінформований про ризики, пов'язані з процедурою донації; здоров'я донора повинно бути захищене. Будь-які процедури, пов'язані з введенням донору речовин, що сприяють підвищенню концентрації будь-яких компонентів крові повинні виконуватися відповідно до прийнятих нормативних документів та стандартів.

Анонімність між донором і реципієнтом має бути забезпечена за винятком особливих ситуацій, а також повинна бути гарантована конфіденційність інформації про донора.

Донор має усвідомлювати ризик донації інфікованої крові для інших і свою моральну відповідальність перед реципієнтом.

Донорство має бути засноване на критеріях медичного відбору без будь-якої дискримінації за ознаками статі, раси, національності або релігії. Ні донор, ні потенційний реципієнт не мають права вимагати, щоб будь-яка подібна дискримінація практикувалася.

Узяття крові здійснюється під повною відповідальністю зареєстрованого медичного працівника належної кваліфікації.

Усі питання, що стосуються донорства, повинні відповідати нормативно-правовим актам та стандартам.

Донор і реципієнт мають бути поінформовані, якщо їм було завдано шкоду.

Фінансові міркування не повинні бути причиною призначення процедур.

Узяття ГСК кісткового мозку та/або периферичної крові для трансплантації здійснюється тільки у підібраних сумісних донорів після проведення їх остаточного медичного оцінювання, покликаного виключити надмірний ризик маніпуляції для самого донора. Остаточне медичне оцінювання донора потрібне також і для того, щоб убезпечити реципієнта від зараження інфекційними хворобами.

Узяття кісткового мозку — це маніпуляція, яка здійснюється під анестезією (найчастіше під загальним наркозом) та полягає у проколі тазових кісток (великі пласкі кістки) і відсмоктуванні багатьох маленьких порцій кісткового мозку. Усього береться близько 1 л кісткового мозку (неминучою є домішка циркулюючої крові); кістковий мозок усмоктується на різній глибині — для того, щоб узятий кістковий мозок був якомога багатший на клітини. Маніпуляція триває приблизно 1,5–2 години; вона пов'язана з 1–2-денною госпіталізацією донора. Після процедури донор найчастіше не відчуває болю і в нього не залишається шрамів.

Дедалі частіше замість узяття кісткового мозку практикують узяття гемопоетичних стовбурових клітин периферичної крові методом аферезу. Йому передує внутрішньом'язова ін'єкція агента, який активізує вихід ГСК із кісткового мозку у кров, — упродовж 5 днів до процедури. Сама процедура відбувається із застосуванням клітинного сепаратора, який з однієї вени донора малими порціями бере кров, відокремлює гемопоетичні стовбурові клітини (клітини «кісткового мозку») і повертає решту крові в іншу вену донора. Під час цієї процедури береться необхідна, медично обґрунтована кількість гемопоетичних стовбурових клітин донора. Процедура аферезу довготривала, що обумовлено сепарацією декількох об'ємів загального обсягу циркулюючої крові донора.

Кількість клітин, отриманих від донора, має бути достатньою для поновлення функції кісткового мозку у реципієнта.

В екстрених випадках заради блага хворого донор може отримати медично обґрунтовану пропозицію про повторне здавання ГСК кісткового мозку або периферичної крові після першого здавання.

Примітка. Наведений приклад листівки (листа інформування) донорів ГСК з кісткового мозку не є остаточним і має формуватись фахівцями донорського центру разом з трансплантаційними

центрами, реєстрами та іншими медичними осередками, що задіяні у процесі трансплантаційної допомоги хворим відповідно до лікувального профілю та застосування трансплантатів ГСК кісткового мозку, ГСК периферичної крові або ГСК донорської пуповинної крові.

ДОНОР ГСК З КІСТКОВОГО МОЗКУ АБО ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ Є НАЙКРАЩИМ ДОНОРОМ ТРОМБОЦИТІВ.

У пацієнтів, які пережили пересадку кровотворних клітин, а також у хворих на мієлопроліферативні захворювання та пухлини, у перебігу лікування часто спостерігається значне зниження кількості тромбоцитів, що становить безпосередню загрозу їхньому життю в разі кровотеч.

Єдиним способом порятунку життя в таких випадках є переливання концентрату тромбоцитів. На жаль, після переливань КТ, узятих у випадкових донорів, у деяких хворих виробляються антитіла до антигенів HLA класу I, наявних на тромбоцитах донорів. Подальше лікування, спрямоване на порятунок життя хворого, тоді стає можливим лише за умови використання тромбоцитів донора, сумісного за антигенами HLA.

В осіб, які заявляють про себе як потенційні донори кісткового мозку, вже визначено ті антигени HLA, що виявляють себе й на тромбоцитах. Серед цих осіб без зайвого зволікання й додаткових імуногенетичних аналізів можуть бути підібрані донори сумісних тромбоцитів, трансплантація яких принесе велику користь хворим, чиє життя перебуває під загрозою.

Процес донації тромбоцитів принципово не відрізняється від процесу здавання крові. Це безболісна процедура, яка здійснюється з використанням сучасних клітинних сепараторів. Малими порціями береться венозна кров, від неї відокремлюється КТ, а решта крові повертається до іншої вени.

12.4. Характеристика системи генів та антигенів лейкоцитів людини

Лейкоцитарні антигени людини (HLA) являють собою трансмембранні HLA молекули, що кодуються генами головного комплексу гістосумісності MHC та визначають біологічну індивідуальність кожної людини.

Функція системи HLA полягає у презентації власних (ендогенних) та чужинних (екзогенних) пептидів клітинам імунної системи. Молекули HLA класу I презентують ендогенні антигени CD8+Т-клітинам, тоді як HLA класу II презентують екзогенні пептиди CD4+Т-хелперам. Наслідками такої взаємодії є активація Т-хелперів і Т-кілерів, дозрівання та диференціювання ефекторних клітин, секреція цитокінів. Презентація антигенних пептидів є високоврегульованим процесом та потребує ефективної взаємодії між антигенним пептидом, антигензв'язуючою борозною HLA молекули й Т-клітинним рецептором.

HLA молекули, що кодуються MHC, розділяють на глікопротеїни MHC класу I (HLA-A, HLA-B та HLA-C), які присутні на поверхні всіх ядровмісних клітин, а також — MHC класу II (HLA-DP, HLA-DQ та HLA-DR), експресованих переважно на мембранах антигенпрезентуючих клітин (В-лімфоцитів, активованих Т-лімфоцитів, моноцитів, макрофагів та дендритних клітин).

Т-лімфоцити за допомогою антиген-розпізнавальних рецепторів здатні до розпізнавання антигенів тільки у комплексі з молекулами MHC-I та MHC-II на поверхні клітин власного організму. Молекули MHC-I гістосумісності беруть участь у презентації антигену для попередників Т-лімфоцитів-кілерів/супресорів (CD8+-клітин). Молекули MHC-II гістосумісності залучені до презентації антигенів для Т-лімфоцитів-хелперів (CD4+-клітини). Таким чином, система HLA забезпечує регуляцію імунної відповіді організму людини на рівні взаємодії імунокомпетентних клітин шляхом розпізнавання своїх та елімінації чужорідних білкових молекул.

Слід зазначити, що хоча молекули MHC і називаються зазвичай антигенами, вони проявляють антигенність тільки в тому випадку, коли розпізнаються імунною системою не власного, а генетично іншого організму, наприклад, при алотрансплантації органів і тканин.

Комплекс генів MHC розташований на короткому плечі 6-ї хромосоми (6p21), займає значну ділянку ДНК, що включає приблизно 4×10^6 пар основ (4 Мб) і розподіляється на три класи. До першого класу належать класичні гени (HLA-A, -B та -C); некласичні гени (HLA-E, -F та -G); псевдогени (HLA-S/17, -X, -N/30, -L/92, -J/59, -W/80, -U/21, -K/70, -16, -H/54, -90 та -75), а також сімейство MIC генів. Гени другого класу також розподіляються на класичні гени (HLA-DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1,

-DQA1, -DPA1, -DPB1 і ряд менш поліморфних генів*)* та некласичні гени (HLA-DM, -DO, CLIP, TAP, LMP та LNA). Гени класу III безпосередньо не кодують молекули МНС, але контролюють синтез білків, частина з яких бере участь в імунних процесах: LTA — ген, кодуючий лімфотоксин альфа; TNF — ген фактора некрозу пухлин альфа; MCGC — кластер генів комплементу; CYP21A — контроль активності ферменту цитохрому Р450, Hsp70 — гени білків теплового шоку та ін.

Таким чином, основною особливістю комплексу МНС є значна полігенність (наявність декількох неалельних генів, білкові продукти яких подібні у структурному відношенні і виконують ідентичні функції) і надзвичайний поліморфізм — присутність багатьох алельних форм одного і того ж гена. Успадкування HLA генів відбувається за кодомінантним типом, коли у нащадків однаковою мірою експресуються HLA алелі, отримані від кожного з батьків. Комбінація алелей різних генів на одній хромосомі, яка має назву HLA гаплотип, успадковується окремим блоком. Як виняток, у випадках кросинговеру успадкування блоком може порушуватись, внаслідок чого утворюється рекомбінантний гаплотип.

Характерною особливістю розподілу HLA генів на популяційному рівні є нерівноважність за зчепленням — невипадковий розподіл частот алелів різних генів, обумовлений не тільки тісним генетичним зчепленням генів, але і наявністю адаптаційної переваги конкретної комбінації алелів в окремому гаплотипі, частота якого зростає в порівнянні з очікуваною згідно з випадковим розподілом генів з кодомінантним типом успадкування. Класичним прикладом нерівноважності за зчепленням є зв'язок антигену HLA-A1 локусу А з антигеном HLA-B8 локусу В у осіб західноєвропейського походження.

Традиційна номенклатура HLA заснована на серологічному розпізнаванні антигенних структур на поверхні імунокомпетентних клітин. Назва антигену складається із зазначення системи — HLA; одного з локусів — A, B, Cw, D, DR, DQ; власного імені антигену, яке представлене довільною комбінацією цифр (табл. 12.1). Наприклад, HLA-B51, або скорочено — B51.

Упровадження молекуляно-генетичних методів HLA типування призвело до необхідності перегляду номенклатури з урахуванням генетичної структури HLA системи. Сучасна HLA номенклатура складається з назви системи — HLA; імені гена (наприклад, один з класичних генів: A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1 , -DQA1, -DPA1, -DPB); * — символ, що вказує на молекулярно-генетичний метод типування; перші цифри (до першої двокрапки) позначають алельну групу, яка часто співпадає з певним серологічним антигеном, наприклад, HLA-A*25. Якщо назва алельної групи позначається однією цифрою, перед цифрою додається 0, наприклад, HLA-B*07. Такий рівень визначення HLA поліморфізму забезпечують методи з низькою роздільною здатністю. Другий набір цифр (між першою та другою двокрапками) використовується для відображення різниці між алелями однієї групи, а саме — одну або більше нуклеотидних замін, які призводять до змін в амінокислотній послідовності кодованого білка, наприклад, HLA-A*25:02 або HLA-A*25:05. На практиці перші два набори цифр, що складають ім'я алеля, визначають високу роздільну здатність HLA типування та достатні для підбору гістосумісної пари «донор–реципієнт» при неродинній трансплантації ГСК. Третій набір цифр (між другою та третьою двокрапками) показує, що даний алель має нуклеотидні заміни в екзоні (кодуюча ділянка гена), які не впливають на структуру білкової молекули, наприклад, HLA-A*25:02:01 або HLA-A*25:02:02. Четвертий набір цифр диференціює алелі за мутаціями в інтронах або фланкуючих ділянках гена за межами регіону кодування.

Певні літери наприкінці назви деяких алелів позначають відмінності в рівнях експресії генів HLA: N — алелі, що не експресуються, або нульові алелі (Null); L — алелі з низьким рівнем експресії на поверхні клітин (Low); S — алель експресує розчинну форму молекули білка, яка відсутня на поверхні клітини (Secreted); C — білок виявляється в цитоплазмі клітин, але відсутній на клітинній мембрані (Cytoplasm); A — аномальна експресія, що призводить до відсутності синтезу білкових молекул (Aberrant); Q — сумнівний варіант експресії, що потребує дослідження (Questionable).

Таблиця 12.1

Приклад HLA номенклатури та її застосування щодо методів тканинного типування

Метод HLA типування	Номенклатура
Серологічний	HLA-A1
Молекулярний: низька роздільна здатність (low resolution)	HLA-A*01
Молекулярний: середня роздільна здатність (medium resolution)	HLA-A*01:01/01:04N
Молекулярний: висока роздільна здатність (higt resolution)	HLA-A*01:01

Сучасна HLA номенклатура представлена на веб-ресурсі Міжнародної асоціації імуногенетики (http://hla.alleles.org/nomenclature), де надана інформація про кількість відкритих алелів кожного HLA локусу, перелік всіх HLA генів та їх молекулярна характеристика, зміни і доповнення до номенклатури.

Система HLA є найбільш вивченою серед усіх складних генетичних систем людини, оскільки саме вона може допомогти у вирішенні важливих проблем медицини, до яких належить трансплантація органів і тканин. При підборі пари «донор–реципієнт», а також при створенні донорських реєстрів виникає завдання проведення HLA типування.

12.5. Методи тканинного типування

Визначення HLA типу тканини передбачає ідентифікацію трансмембранних HLA молекул, або HLA антигенів (за локусами HLA-A, -B, -C класу I та HLA-DR, -DQ, -DP класу II), експресованих на мембрані плазматичних клітин організму людини, або ідентифікацію послідовностей ДНК генів головного комплексу гістосумісності (класичні гени першого HLA-A, -B, -C та другого HLA-DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPA1, -DPB1 класів). Виділяють дві різні за принципом групи методів типування: серологічні — для визначення HLA фенотипу та молекулярно-генетичні — для визначення HLA генотипу.

12.5.1. Серологічні методи HLA типування

Серологічні методи засновані на ідентифікації молекул МНС, експресованих на мембрані, за допомогою специфічних антитіл. На практиці серологічне **HLA типування** проводять на виділених клітинних популяціях. Оскільки основними носіями антигенів МНС є лімфоцити, суспензію Т-лімфоцитів використовують для визначення антигенів класу I, а суспензію В-лімфоцитів — для визначення антигенів класу II гістосумісності. Найбільш поширеним методом типування HLA антигенів є лімфоцитотоксичний тест, модифікований Полем Терасакі.

12.5.1.1. Стандартний лімфоцитотоксичний тест

Принцип лімфоцитотоксичного тесту (ЛЦТ) заснований на здатності специфічних антитіл взаємодіяти з HLA антигенами відповідної до антитіл специфічності, утворюючи комплекс «антиген–антитіло». Зв'язування комплементу з комплексом «антиген–антитіло» запускає каскад реакцій, що призводить до пошкодження клітинної мембрани і лізису клітин. У разі негативної реакції лімфоцити залишаються неушкодженими. При позитивній реакції лімфоцити руйнуються. Візуалізація позитивної реакції проводиться за допомогою суправітальних барвників (еозин, трипановий синій), які потрапляють всередину клітин тільки через ушкоджену мембрану. Визначення фенотипу HLA проводиться за сукупністю позитивних і негативних реакцій.

Для ЛЦТ використовують моноклональні антитіла або панель діагностичних сироваток з широким спектром антитіл до HLA антигенів різних специфічностей. Діагностичні сироватки з HLA антитілами отримують від імунізованих донорів. Імунізація може бути викликана вагітністю (у 10–20% вагітних виробляються антитіла до HLA антигенів батьківського HLA гаплотипу плода), переливанням крові або трансплантацією органів. Спрямована імунізація донорів пересадкою шкіри, переливанням крові або лейкоцитарної маси призводить до появи високоактивних антитіл до HLA антигенів.

12.5.1.2. Виділення лімфоцитів

Упродовж усього процесу температура реакційних сумішей та зразків крові повинна бути 21 ± 3 °С.

Для дослідження використовують гепаринізовану кров (20–25 ОД гепарину на 1 мл крові) або застосовують інші антикоагулянти відповідно до інструкцій виробника тест-систем.

Виділення лімфоцитів з використанням методу седиментації у градієнті густини фікол-урографіну має здійснюватися відповідно до розділу 10.6.1.3. Також можна застосовувати імуномагнітний поділ клітин.

Імуномагнітна сепарація є швидким і надійним методом поділу клітин. Технологія біомагнітної сепарації заснована на застосуванні парамагнітних полістирольних мікрочастинок, вкритих шаром моноклональних антитіл, високоспеціфічних по відношенню до певних поверхневих маркерів клітин людини. Використання однорідних за розміром і формою мікросфер забезпечує швидке та ефективне зв'язування клітин, мінімізує неспецифічне зв'язування, що забезпечує високу відтворюваність результатів.

Парамагнітні мікрочастинки з імобілізованими моноклональними антитілами специфічними до CD4+ або CD8+ Т-лімфоцитів додаються безпосередньо до зразка периферичної крові. Після 10–20-хвилинної інкубації пробірка із зразком поміщається в магнітний сепаратор, де певна популяція клітин, пов'язана з магнітними частинками, уловлюється, а супернатант видаляється. Виділені CD4+ або CD8+ Т-лімфоцити ресуспендують в буфері і аналізують за протоколом дослідження. При необхідності магнітні частинки згодом відокремлюються від виділених клітин.

Визначення життєздатності клітин

Життєздатність клітин розраховується як співвідношення кількості життєздатних клітин і загальної кількості клітин у камері Горяєва. Клітини, забарвлені трипановим синім, вважаються мертвими. Цей барвник не проникає через мембрани живих клітин, але при їх пошкодженні здатний забарвлювати клітинне ядро.

- Приготувати 0,4% розчин трипанового синього в фосфатно-сольовому буфері (pH 7,2–7,3).
- На знежирене скло нанести 10–20 мкл суспензії лімфоцитів, додати 5 мкл розчину трипанового синього і перемішати.
- 10 мкл забарвленої клітинної суспензії внести під покривне скло камери Горяєва, через 1 хвилину провести підрахунок послідовно вибраних 100 клітин, серед яких забарвлені у блакитний колір (мертві клітини) і незабарвлені (життєздатні клітини). Облік результатів реакції проводять за допомогою оптичного мікроскопа (окуляр 10×, об'єктив 10× або 12,5×). Термін між забарвленням клитинної суспензії і оцінкою життєздатності клітин не повинен перевищувати 5 хвилин.
- Визначити відсоток життєздатних клітин по відношенню до суми мертвих і живих клітин:

% життєздатних клітин = [1,00 – (кількість мертвих клітини ÷ загальна кількість клітин)] × 100.

- Зразки з показником менш ніж 80% слід вилучити з подальшого дослідження.

Робоча концентрація клітин у суспензії лімфоцитів становить 2000 ± 500 клітин/мкл. Готова суспензія лімфоцитів може зберігатися до 24 годин при температурі 4–8 °С за умов додавання в пробірку з лімфоцитами 5–10 мл розчину Хенкса або іншого розчину для стабілізації клітин. Перед використанням пробірку центрифугують 5 хвилин при 700 × g, відбирають надосадову рідину і готують робочу концентрацію клітин в суспензії лімфоцитів.

12.5.1.3. Проведення лімфоцитотоксичного тесту

Упродовж проведення тесту температура реакційних сумішей і клітинних суспензій повина бути 21 ± 3 °С.

Серологічне HLA типування слід проводити відповідно до пункту 10.6.1.4.

УВАГА! *Деякі серологічні тести, особливо за умов використання моноклональних антитіл, можливо, потребуватимуть внесення змін у хід виконання дослідження. Слід чітко дотримуватися рекомендацій виробника.*

Робочий протокол (розробляється виробником і постачається в комплекті з тест-системами) має бути оформлений належним чином з урахуванням дати проведення тесту, ідентифікаційного номера

зразка біологічного матеріалу пацієнта, замовника тесту, дати і часу надходження біологічного матеріалу до лабораторії, життєздатності клітин.

Оцінку результатів ЛЦТ слід проводити із використанням інвертованого фазово-контрастного або люмінісцентного мікроскопа. Необхідно проводити паралельну оцінку результатів тесту для незалежної перевірки (перевірка проводиться іншим фахівцем з оформленням окремого робочого протоколу). Інтенсивність цитотоксичної реакції в кожній лунці оцінюють за 8-бальною шкалою, враховуючи відсоток мертвих лімфоцитів, у порівнянні з позитивним та негативним контролями (таблиця 10.4).

Інтерпретація даних за результатами проведення ЛЦТ має бути заснована на оцінці позитивних і негативних контролей тесту, також слід брати до уваги:

– підтвердження встановленого HLA антигену двома або трьома позитивними реакціями з відповідними моно- або поліспецифічними сироватками різних серій;
– групи перехреснореагуючих антигенів;
– належність певних антигенів локусів HLA-B і A до епітопів Bw4 і Bw6;
– диплоїдність HLA фенотипу;
– при проведенні сімейного аналізу слід враховувати правила успадкування HLA гаплотипів з метою виявлення можливої рекомбінації;
– частоту і нерівноваги за зчепленням у популяційному розподілі HLA антигенів.

У разі виявлення позитивної цитотоксичної реакції у негативному контролі (кількість мертвих клітин не повинна перевищувати 10%) або відсутності інтенсивної цитотоксичної реакції в позитивному контролі, тест необхідно повторити, використовуючи перевірені реагенти іншої серії або молекулярно-генетичні методи типування.

Специфічність HLA антигену можна вважати встановленою, якщо інтенсивність цитотоксичної реакції відповідає 6–8 балам з двома або трьома відповідними поліспецифічними сироватками, в тому числі принаймні однією моноспецифічною сироваткою. Оцінка результату серологічного HLA типування здійснюється незалежно двома фахівцями, які оформлюють окремі робочі протоколи з власними підписами. Приклад оформлення висновків за результатами аналізу робочих протоколів наведений у формі 12.1. Результати серологічного HLA типування повинні фіксуватися в електронній базі даних лабораторії.

УВАГА! *Періодично (принаймні один раз на тиждень), необхідно робити копію електронної версії бази даних на компакт-диску, флеш-накопичувачі або сервері.*

Форма 12.1 — приклад оформлення результатів HLA типування

		Код форми за ЗКУД Код закладу за ЗКПО
Міністерство охорони здоров'я України Найменування закладу _____ Лабораторія _____		медична документація **форма №** затверджена наказом МОЗ України «____»_____20____р. №_____

РЕЗУЛЬТАТ АНАЛІЗУ HLA ТИПУВАННЯ

Метод дослідження HLA типу:_____

Результати молекулярного HLA типування:

№ реєстрації	ПІБ, статус пацієнта (донор/ реципієнт), тип родинних зв'язків	HLA класу I			HLA класу II				
		A*	**B***	**C***	**DRB1***	**DRB__***	**DQB1***	**DQA1***	**DPB1***

Результати серологічного HLA типування:

№ реєстрації	ПІБ, статус пацієнта (донор/ реципієнт), тип родинних зв'язків	HLA класу I			HLA класу II		
		A	**B**	**Cw**	**DR**	**DR(51/52/53)**	**DQ**

Примітка:_____

Прізвище, ім'я, по батькові _____
(підпис)

«____»_____ 20_____р. Завідувач лабораторії
(дата видачі аналізу) Прізвище, ім'я, по батькові _____
(підпис)

Серологічне HLA типування — це надійний і добре відтворюваний метод. Однак він має низку обмежень, до яких відносять залежність від експресії молекул HLA на мембрані клітини. Це перешкоджає типуванню при слабкій або зовсім відсутній експресії, наприклад, при лікуванні кортикостероїдами. У пацієнтів з онкогематологічними захворюваннями, успадкованими дефектами диференціювання і визрівання клітин та хворих після терапії цитостатиками та/чи імунодепресантами відмічене зниження кількості або повна відсутність клітин, необхідних для проведення ЛЦТ. Зразки крові повинні бути тільки свіжими і зберігатися не довше 4–5 годин. Неможливо аналізувати зразки після заморожування. Існують проблеми відтворюваності методу (результат залежить від навичок персоналу, життєздатності клітин, активності комплементу, від використання моно- або поліспецифічних сироваток). Ще одна проблема серологічного типування полягає в тому, що для багатьох алелів, визначених молекулярно-біологічними методами, не існує специфічних алоантитіл. Наприклад, з більш як 670 описаних HLA-DRB алелів тільки 18 визначаються серологічно, тобто мають відповідні серотипи. Складність транспортування і зберігання серологічних панелей (поставляються і зберігаються тільки в замороженому вигляді при температурі –50–70 ºС). Суттєвим обмеженням для участі лабораторії в міжлабораторному контролі якості є відсутність можливості типування заморожених контрольних зразків крові. Зазначені проблеми з успіхом вирішуються за допомогою молекулярно-генетичних методів HLA типування.

12.5.2. Методи генотипування HLA

Методи HLA генотипування засновані на вивченні послідовності поліморфних фрагментів ДНК генів головного комплексу гістосумісності, виділених із клітин біологічного матеріалу людини. Молекулярно-біологічні методи, або типування HLA з геномної ДНК, створено завдяки виділенню генів I та II класу HLA на основі детального вивчення їх структури та визначення послідовностей нуклеотидів алелів цього регіону. Сучасні молекулярні методи HLA типування використовують стандартизовані специфічні зразки, які реагують не з антигенами на поверхні лейкоцитів, а безпосередньо з фрагментами ДНК і прямо вказують на те, які алелі присутні у пробі. Молекулярні методи не потребують живих лімфоцитів, будь-яка ядровмісна клітина організму може слугувати матеріалом для аналізу.

Підґрунтям молекулярно-генетичного HLA типування є полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР). На першому етапі виконання методу слід вилучити геномну ДНК з цільної крові або лейкоцитарної суспензії, тканин людини. За другим етапом зразок ДНК ампліфікують (копіюють) у пробірці з використанням праймерів (коротких одноланцюгових ДНК-фрагментів), специфічних до певної ділянки HLA гена. Кінці кожного з пари праймерів повинні бути абсолютно комплементарними унікальній послідовності, тотожній конкретному алелю, — у випадку часткової комплементарності ампліфікація буде неможливою.

Після проведення ПЛР у ході багаторазового копіювання отримують велику кількість фрагментів ДНК, які можливо оцінити візуально. Для цього реакційні суміші піддають електрофорезу або гібридизації та визначають, чи відбулась специфічна ампліфікація за допомогою програмного забезпечення або спеціальних таблиць. Результат HLA типування надається у формі детального звіту з урахуванням генного та/або алельного рівнів дослідження.

12.5.2.1. Виділення ДНК

ДНК виділяють з ядровмісних клітин периферичної крові, для чого збирають від 1,5 до 10 мл венозної крові у стерильну пробірку з антикоагулянтом (цитратом натрію або ЕДТА).

УВАГА! *Забороняється використовувати гепарин, оскільки він уповільнює полімеразно-ланцюгову реакцію.*

Виділення ДНК може бути виконане з використанням наборів:
- NucleoSpin Blood;
- NucleoMag Blood;
- Purelink Genomic DNA;
- PROTRANS DNA Box 500 або інших наборів для вилучення ДНК, які мають свідоцтво про державну реєстрацію і дозволені для застосування на території України.

12.5.2.2. Вимірювання концентрації та чистоти ДНК

Після проведення процедури виділення ДНК перед здійсненням подальшого молекулярного аналізу необхідно визначити чистоту та концентрацію ДНК в отриманих зразках. Наявність домішок у зазначених зразках може несприятливо вплинути на їх молекулярний аналіз, інгібувати ферментативні реакції при їх використанні, наприклад, реакцію ампліфікації.

Для визначення концентрації ДНК в отриманих зразках використовується спектрофотометричний метод.

Концентрацію ДНК у зразку можна розрахувати, вимірявши його оптичну густину (ОГ) при довжині хвилі 260 нм. Одна одиниця ОГ приблизно відповідає концентрації дволанцюгової ДНК 50 мкг/мл і концентрації одноланцюгової ДНК — 40 мкг/мл. Для оцінки чистоти зразків ДНК використовують аналіз співвідношення між ОГ при 260 і 280 нм. Зразок ДНК вважається чистим, коли співвідношення ОГ 260/280 дорівнює або перевищує 1,7. Забруднення зразків домішками призводить до зменшення співвідношення. Сучасні спектрофотометричні прилади автоматично виконують розрахунок концентрації і чистоти ДНК. Для кожного зразка проводять три незалежних вимірювання і розраховують середньоарифметичні показники чистоти і концентрації. Для розведення ДНК використовують деіонізовану воду або інший розчинник відповідно до інструкцій виробника тесту HLA типування. Вимоги до концентрації та чистоти ДНК теж вказані в інструкції.

12.5.2.3. HLA генотипування методом ПЛР-ССП

HLA генотипування шляхом ампліфікації зі специфічними за своєю послідовністю, або сіквенс-специфічними праймерами (ССП, SSP — Sequence Specific Primers). Принцип ПЛР-ССП полягає в тому, що ампліфікація специфічного продукту в ПЛР відбувається лише за умов, коли 3'-кінець праймера комплементарний до цільової послідовності ДНК, що аналізується. Одна єдина різниця між послідовностями нуклеотидів матричної ДНК та відповідного праймера перешкоджає процесу ампліфікації в ПЛР, що зумовлює високу специфічність методу ССП в ідентифікації алелів. Для контролю ампліфікації до кожної проби додається ще одна пара праймерів. Вона забезпечує утворення продукту ПЛР при будь-яких умовах ампліфікації незалежно від генного та алельного поліморфізму HLA. Це так званий внутрішній контроль.

Роздільна здатність методу ПЛР-ССП залежить від виду та позиції різних пар нуклеотидів і можливості їх використання для ПЛР. Диференціювання окремих алелів чи їх груп відбувається при порівнянні специфічних продуктів реакції ампліфікації після електрофорезу в агарозному гелі, де продукти ПЛР розділяють за їх розміром (молекулярною масою) та електричним зарядом і візуалізують в ультрафіолетовому випромінюванні. Аналіз сукупності позитивних і негативних результатів реакції ампліфікації дозволяє виявити один або два алеля (одну або дві алельні групи) HLA генотипу особи, ДНК якої досліджували.

Основною перевагою методу ПЛР-ССП є відносна простота і можливість проводити типування зразків як на низькому (на рівні окремих груп генів), так і на високому дозвільному рівні (на рівні окремих алелів, визначаючи точковий алельний поліморфізм). Таким чином, ПЛР-ССП є в даний час найбільш широко використовуваним методом для HLA типування.

Основним недоліком методу є низька продуктивність — приблизно 3–5 зразків на день, а також необхідність використання кількох праймерів для уникнення двозначностей в інтерпретації результатів.

Для проведення HLA генотипування можуть використовуватись тест-системи: HLA SSP One Lambda, PROTRANS HLA SSP, HLA SSPGo Abbot або інші набори для тестування гістосумісності, які мають свідоцтво про державну реєстрацію і дозволені для застосування на території України. При виконанні тесту дотримуйтесь інструкцій виробника. Оцінка результату генотипування HLA ПЛР-ССП здійснюється незалежно двома кваліфікованими фахівцями, які підтверджують достовірність результатів аналізу власними підписами.

Приклад оформлення висновків за результатами аналізу робочих протоколів наведений у формі 12.1. Результати HLA типування повинні фіксуватися в електронній базі даних лабораторії.

12.5.2.4. HLA генотипування методом ПЛР-ССОП

HLA генотипування шляхом гібридизації з міченими специфічними за своєю послідовністю олігонуклеотидними пробами (ССОП, SSOP — Sequence Specific Oligonucleotide Probes). Основним принципом методу ПЛР-ССОП є ампліфікації за допомогою полімеразної ланцюгової реакції і подальша гібридизація цього продукту з міченими специфічними за своєю послідовністю олігонуклеотидними пробами, або зондами. Аналогічно до ССП технології для ССОП теж необхідна стадія виділення геномної ДНК, яку на наступному етапі ампліфікують з однією парою специфічних праймерів для копіювання поліморфних фрагментів ДНК (2-го екзона для генів HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DQA1 і HLA-DPB1; 2-го і 3-го екзонів для генів HLA-A, HLA-B і HLA-C). Ампліфікація зразка тестованої ДНК відбувається в одній ПЛР пробірці, тобто ніяких «специфічних» HLA ампліконів не отримують. Після стадії ампліфікації ДНК денатурують для отримання одноланцюгових фрагментів та інкубують з панеллю мічених олігонуклеотидних зондів. Кожен зонд призначений для ідентифікації певної послідовності нуклеотидів унікальної для конкретного аллеля або групи алелів. Якщо зонд має послідовність, комплементарну цільовій ДНК, відбувається гібридизація. Гібридизація являє собою процес зв'язування (кон'югації) тепер уже ділянок ДНК з олігонуклеотидними флюоресцентно міченими зондами (послідовність специфічних олігонуклеотидів), розміщеними на твердому носії. Аналіз сукупності позитивних і негативних результатів гібридизації дозволяє виявити один або два алеля (одну або дві алельні групи) HLA генотипу особи, ДНК якої досліджували.

ПЛР-ССОП є методом HLA генотипування, що може визначити всі відомі HLA алелі для аналізу поліморфізму на низькому та високому дозвільному рівнях. Головний комплекс гістосумісності є суперсімейством генів з високим рівнем поліморфізму. Постійно реєструються нові аллельні варіанти

HLA генів, які не можуть бути виявлені методами ПЛР-ССП та ПЛР-ССОП, оскільки специфічні праймери і олігонуклеотидні зонди можуть синтезуватися тільки до раніше встановлених послідовностей ДНК. Крім того, коли в зразку ідентифіковано тільки один алель, важко визначити, в гомозиготному чи в гетерозиготному стані цей алель перебуває. Таким чином, за допомогою вказаних методів не можна точно визначити частоти HLA алелей і гаплотипів.

Для проведення HLA генотипування методом ПЛР-ССОП можуть використовуватись тест-системи, які мають свідоцтво про державну реєстрацію і дозволені для застосування на території України. При виконанні тесту слід дотримуватись інструкцій виробника. Оцінка результату генотипування HLA здійснюється незалежно двома кваліфікованими фахівцями, які підтверджують достовірність результатів аналізу власними підписами.

Приклад оформлення висновку за результатами аналізу робочих протоколів наведений у формі 12.1. Результати HLA типування мають фіксуватися в електронній базі даних лабораторії.

12.5.2.5. HLA генотипування з використанням технології Luminex

Технологія Luminex є сучасною модифікацією методу ПЛР-ССОП і являє собою різновид твердофазного аналізу, де як носій (тверда фаза) використовуються полістиролові мікросфери, що мають розмір 5–6 мкм. До складу мікросфер інтегровані два флуорофора в різній концентрації — червоний та інфрачервоний. Певне співвідношення концентрацій цих двох флуорофорів створює 100 можливих варіантів частинок, кожна з яких має свою власну унікальну спектральну характеристику. Спектр частинки є її індивідуальним «кодом» і визначає її тип. Кожен тип частинок несе на поверхні тільки один вид олігонуклеотидного зонда, специфічного тільки до одного HLA алеля. Тип мікросфери із специфічним зондом, у свою чергу, розпізнається за допомогою оптичної системи аналізатора Luminex у процесі вимірювання.

Процедура HLA генотипування SSO-Luminex починається з ПЛР-ампліфікації найбільш поліморфної частини гена HLA другого класу з використанням специфічних до екзона 2 праймерів для генів HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DQA1 і HLA-DPB1. Для ампліфікації генів першого классу HLA-A, HLA-B і HLA-C використовують два типи праймерів, специфічних до поліморфних фрагментів ДНК 2-го і 3-го екзонів. До складу праймерів включена біотинована мітка, яка під час реакції ампліфікації вбудовується в готовий ПЛР-продукт. Отриманий ампліфікат змішують з мікросферами, на поверхні яких кон'юговані специфічні олігонуклеотидні послідовності (зонди). Після реакції гібридизації за допомогою центрифугування або фільтрації проводять відмивання продуктів, які комплементарно не зв'язалися зі специфічними зондами. На останньому етапі вноситься флуоресцентний кон'югат стрептавідину-фікоеритрину. У разі присутності в ампліфікаті специфічного ПЛР-продукту стрептавідин-флуоресцентний кон'югат з'єднується з біотином, що входять до складу амплікону, після чого виконується зчитування інтенсивності флуоресцентного сигналу в аналізаторі Luminex. Слід зазначити, що кожний зразок суміші мікросфер має позитивні і негативні контрольні зонди, необхідні для вирахування неспецифічних фонових сигналів і нормалізації вихідних даних. Аналізатор потоку Luminex ідентифікує інтенсивність флуоресценції кожної мікросфери. Інтерпретація результатів проводиться за допомогою програмного забезпечення на підставі аналізу інтенсивності флуоресценції з подальшим визначенням відповідного HLA алеля або алельної групи.

У лабораторній практиці технологія Luminex широко використовується для HLA генотипування низької та середньої розподільної здатності. Останнім часом були розроблені тестові набори Luminex для тканинного типування на алельному рівні. Ці тести містять спеціальні зонди, які дозволяють вирішувати проблеми двозначності при визначенні деяких аллельних вариантів та гомозиготності HLA генотипу, які виникають при використанні стандартного методу Luminex SSOP. До базової панелі кульок були додані мікросфери з декількома олігонуклеотидними зондами, що збільшило кількість підтверджуючих реакцій, підвищило чіткість аналізу і дозволило модернізувати традиційну технологію Luminex до високої роздільної здатності HLA типування. Висока продуктивність і автоматизація процесів робить цей метод незамінним при створенні кріосховищ пуповинної крові, реєстрів донорів кісткового мозку та гемопоетичних стовбурових клітин, великих трансплантологічних і онкологічних центрів.

Для HLA генотипування з використанням технології Luminex можуть бути використані набори LABType SSO, HD LABType One Lamda або інші тест-системи, які мають свідоцтво про державну реєстрацію і дозволені для застосування на території України. При виконанні тесту дотримуйтесь

інструкцій виробника. Необхідно своєчасно оновлювати програмне забезпечення, що надається виробником/дистриб'ютором тест-систем. Оцінка результату HLA генотипування ПЛР-SSO Luminex здійснюється незалежно двома кваліфікованими фахівцями, які підтверджують достовірність результатів аналізу власними підписами.

Приклад висновку заключення за результатами аналізу робочих протоколів наведений у формі 12.1. Результати HLA типування мають фіксуватися в електронній базі даних лабораторії.

12.5.2.6. HLA генотипування з використанням секвенування

Типування HLA на основі прямого визначення послідовності нуклеотидів (секвенування) на відповідних ділянках ДНК, попередньо ампліфікованих у генспецифічній чи алельспецифічній ПЛР, дає найточніший доказ наявності окремого алеля чи комбінації алелів. Секвенування або типування на основі сіквенсу (SBT — sequence-based typing) є «золотим стандартом» і використовується як еталонний метод у типуванні HLA. Найбільш широке використання знайшов спосіб секвенування ДНК за Сенгером. Для виконання цього методу використовуються автоматичні генетичні аналізатори (секвенатори), що працюють за принципом капілярного електрофорезу нуклеїнових кислот. Суть методу полягає в тому, що при постановці реакції ампліфікації, крім звичайних нуклеотидів, використовуються дідезоксинуклеотидтрифосфати (ddNTP), мічені флуорохромними барвниками. Такі ddNTP називаються термінальними, оскільки їх включення в ампліфікований фрагмент ДНК у процесі ПЛР призводить до припинення або обриву ампліфікації. ДНК-залежна реакція подовження за допомогою ДНК-полімерази припиняється при приєднанні одного з чотирьох різних флюоресцентно мічених термінальних дідезоксинуклеотидів до комплементарної ділянки матричної ДНК. Результатом постановки ПЛР з ddNTP є численні фрагменти ДНК різної довжини, кожен із яких закінчується специфічною до одного з чотирьох нуклеотидів флюоресцентною міткою. Автоматичні секвенатори поділяють ці фрагменти за довжиною (молекулярною масою), як іони, що рухаються в електричному полі, пропускаючи всю суміш через найтонші капіляри, наповнені гелем. Під час електрофорезу промінь лазера в зоні секвенування збуджує флуоресценцію барвників і детектор визначає, який нуклеотид зараз мігрує через гель. Таким чином, реєструючи послідовність появи нуклеотидів, прилад складає «букви» (нуклеотиди) в «текст» (послідовність ДНК). Одержану в ході секвенування нову послідовність нуклеотидів порівнюють з відомими послідовностями HLA алелів з банку даних і таким чином її ідентифікують або додають до банку даних, якщо послідовність ще невідома. Аналіз отриманих даних та інтерпретація результатів проводиться в автоматичному режимі за допомогою програмного забезпечення, яке передбачає безпосереднє підключення до банку даних (IMGT/HLA Database).

Приклад оформлення висновку за результатами аналізу робочих протоколів наведений у формі 12.1. Результати HLA типування повинні фіксуватися в електронній базі даних лабораторії.

Сучасні методи секвенування ДНК (Next Generation Sequencing — NGS) передбачають використання нових технологічних розробок, до яких належить високопродуктивне піросеквенування, циклічне лігазне та напівпровідникове секвенування; секвенування на молекулярних кластерах з використанням флуоресцентно мічених попередників, а також новітні (Next-Next Generation Секвенування — NNGS) методи секвенування, які зчитують інформацію з мільйонів одиничних фрагментів ДНК без їх попередньої ампліфікації. До високотехнологічних систем нового покоління належать GenomeSequencer 454 FLX (Roche), Illumina Genome Analyzer (Solexa); SOLiD™ System ABI (Applied Biosystems) та HeliScope™ Single Molecule Sequencer (Helicos Biosciences).

Для проведення HLA генотипування можуть використовуватись тест-системи: Protrans HLA STB, ATRIA AlleleSEQR (STB) або інші набори для тестування гістосумісності методом секвенування, які мають свідоцтво про державну реєстрацію і дозволені для застосування на території України.

Технологія HLA генотипування з використанням секвенування заснована на визначенні повної нуклеотидної послідовності ДНК-мішені, має максимальну роздільну здатність, але є найдорожчою з наявних на сьогоднішній день. У сучасній лабораторії дана технологія застосовується найчастіше в тих випадках, коли виникають ускладнення з інтерпретацією результатів дослідження при використанні технологій ССОП і ССП.

Метод HLA генотипування з використанням секвенування вимагає чіткого виконання всіх етапів аналізу, передбачених інструкцією виробника, в тому числі контрольної перевірки якості продуктів ампліфікації перед етапом секвенування. Програмне забезпечення повинно регулярно (щоквартально) оновлюватись відповідно до електронної бази міжнародної системи IMGT/HLA Database. Коди

бази даних IMGT і міжнародної програми донорів кісткового мозку (NMDP — National Marrow Donor Program) повинні бути передбачені програмою і можуть бути переглянуті одночасно з даними секвенування.

12.5.3. Контроль якості HLA типування

Одним із основних факторів, що обумовлюють успішність виконання ало-ТГСК, є підбір донора, сумісного з реципієнтом за HLA системою. Висока точність і надійність результатів тканинного типування забезпечує максимальний рівень гістосумісності і підвищує ефективність трансплантації. Упровадження в лабораторну практику молекулярно-генетичних методів тканинного типування дозволило уніфікувати методичну сторону роботи більшості імуногенетичних лабораторій, істотно підвищити точність та відтворюваність результатів типування. Досягненню високого рівня лабораторної діагностики сприяло забезпечення належного контролю якості тканинного типування.

Кожен аналіз з HLA типування має проводитись особою, яка пройшла відповідне лабораторне стажування (не менше одного року практики в галузі тканинного типування). Оцінка результатів HLA типування здійснюється незалежно двома кваліфікованими фахівцями та уповноваженою особою з лабораторної діагностики з відповідною освітою та досвідом роботи (завідувач лабораторії). Уповноважена особа, яка контролює хід проведення аналізу з HLA типування та видає дозвіл на видачу результатів аналізу, повинна мати як мінімум 3-річний досвід роботи у галузі HLA типування. У штаті лабораторії рекомендовано мати фахівців із спеціалізацією в галузі клінічної або лабораторної імунології, клінічної або лабораторної генетики, лабораторної гематології та трансфузіології, які засвідчують своїм підписом результати HLA типування. Остаточний підсумковий звіт за результатами HLA типування має містити підписи з розшифровкою прізвища та імені уповноважених осіб.

Фахівці, які виконують і аналізують результати HLA типування, повинні звертати особливу увагу на маркування біологічного матеріалу, який надходить до лабораторії. При реєстрації зразків слід чітко фіксувати відмінності між пацієнтом і членами його родини (часто з однаковим прізвищем), зазначати інформацію стосовно родиннх зв'язків донора (споріднений або неспоріднений донор). Ця інформація може суттєво вплинути на якість результатів HLA типування.

Оцінка результату серологічного HLA типування здійснюється незалежно двома фахівцями, які оформлюють окремі робочі протоколи з власними підписами. Слід також оцінити результат реакцій позитивного та негативного контролю. Правильність ідентифікації HLA антигену повинна бути підтверджена позитивними реакціями двох чи трьох полі- або моноспецифічних HLA антисироваток, що мають різні серії. Необхідно враховувати можливість перехресних реакцій, приналежність певних антигенів локусів HLA-B і A до епітопів Bw4 і Bw6, а також частоту розподілу і нерівноваги за зчепленням у популяційному розподілі HLA антигенів. При проведенні сімейного аналізу слід ураховувати правила успадкування HLA гаплотипів з метою виявлення можливої рекомбінації.

Підґрунтям молекулярно-генетичних методів типування є полімеразно-ланцюгова реакція, тому лабораторії, які проводять HLA генотипування, у своїй роботі повинні керуватися відповідними нормативними документами.

Аналіз результатів HLA генотипування за методом ПЛР-ССП має проводитись на підставі правильної інтерпретації задокументованих результатів електрофорезу з урахуванням наявності та молекулярної маси продуктів ампліфікації у позитивному та негативному контролях. Слід також взяти до уваги можливі випадки контамінації. Аналіз сукупності позитивних і негативних результатів реакції ампліфікації дозволяє виявити один або два алеля (одну або дві алельні групи) HLA генотипу особи, ДНК якої досліджували. Інтерпретація отриманих результатів повинна проводитись відповідно до інструкції виробника тест-систем.

У разі проведення HLA генотипування за методом ПЛР-ССОП слід чітко фіксувати послідовність додавання зондів, відповідним маркуванням з метою уникнення помилок в оцінці результатів специфічних реакцій, а також позитивного та негативного контролю. Аналіз результатів необхідно здійснювати за допомогою програмного забезпечення або спеціальних таблиць, які додаються до протоколу досліджень.

У разі проведення HLA генотипування за технологією Luminex слід контролювати результати ампліфікації відповідних екзонів за допомогою електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації

в агарозному гелі. У разі сумнівних результатів електрофоретичного аналізу HLA типування необхідно повторити, починаючи із забору біоматеріалу.

Якщо при повторному типуванні аналіз результатів тесту виявив розбіжності з попередніми результатами типування, необхідно провести консультації з виконавцями попереднього дослідження для оцінки можливих причин неоднозначностей. Цей аналіз має призвести до узгодження методичних підходів до інтерпретації фактичних результатів HLA типування. За відсутності консенсусу тест слід повторити на матеріалі повторно взятих зразків крові пацієнта.

Перевірка якості тест-систем для HLA типування

Перед використанням нових серій тест-систем для проведення HLA типування в лабораторії слід проводити контроль на специфічність і активність сироваток, праймерів або олігонуклеотидних зондів: методом паралельних проб проводять дослідження одного й тогож зразка біологічного матеріалу з використанням тест-систем з відомими характеристиками та тест-систем нової серії.

Проведення внутрішньолабораторного контролю якості досліджень

Ефективним засобом виявлення та оцінки випадкових та систематичних помилок, що дозволяє достовірно оцінювати отримані результати, є внутрішньолабораторний контроль якості, основні завдання якого:

– оцінка та безперервний контроль щодо основних критеріїв точності результатів — відтворюваності та правильності;

– пошук причин, що призводять до неприпустимих помилок в лабораторних дослідженнях, та своєчасне їх усунення;

– оцінка метрологічних характеристик аналітичних методів.

Для підвищення точності дослідження передбачене проведення внутрішньолабораторного контролю якості HLA типування для кожного методу відповідно до галузі атестації лабораторії: процедура проводиться методом дослідження HLA типу контрольного зразка або зразків (біологічного матеріалу з визначеним HLA фено/генотипом) наданого уповноваженою особою лабораторії. Рекомендована періодичність контролю — принаймні 2 проби на рік для кожного методу.

Проведення міжлабораторного контролю якості досліджень

Основною метою міжлабораторного контролю якості є стандартизація процедур дослідження та виявлення систематичних помилок у лабораторній діагностиці. Програма міжлабораторного контролю якості може проводитись на різних рівнях: міжнародному, національному та регіональному. Уповноважений референтний центр має розробляти та впроваджувати систему управління якістю лабораторної служби відповідно до ISO 15189. В Україні відсутні програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань з HLA типування.

Моніторинг обладнання

Перевірка роботи лабораторного обладнання, що підлягає обов'язковій атестації, відбувається відповідно до графіка проведення метрологічних повірок сертифікованими спеціалістами ДП «Всеукраїнський державний центр стандартизації, метрології, сертифікації та захисту прав споживачів».

Організація роботи лабораторії, що виконує молекулярно-генетичне HLA типування з використанням ПЛР, регламентується:

– Наказом МОЗ України від 24.01.2008 р. №26 «Про затвердження державних санітарних норм і правил «Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I–IV груп патогенності молекулярно-генетичними методами»;

– Методичними рекомендаціями «Порядок забору, транспортування та зберігання матеріалу для дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції», затвердженими Наказом МОЗ України від 30.07.2013 р. №662.

Виробничо-практичне видання

НАЦІОНАЛЬНЕ КЕРІВНИЦТВО З ВИРОБНИЧОЇ ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ

ДЛЯ ЗАКЛАДІВ, ПІДРОЗДІЛІВ ТА ЛАБОРАТОРІЙ СЛУЖБИ КРОВІ

Коректор *Тетяна Дубіна*
Комп'ютерне верстання *Миколи Волощука*
Оформлення обкладинки *Сергія Нурахметова*

Формат 60×90/8. Ум. друк. арк. 42,0.
Тираж 500 пр. Зам. 1478.

Видавець і виготовлювач ТОВ «Золоті сторінки»
вул. Маршала Бажанова, 28, м. Харків, 61002
Тел./факс (057) 701-0-701
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 276 від 12.12.2000 р.