

**Препараты и компоненты
крови. Основы заготовки и
требования к качеству
ГЕМОКОМПОНЕНТОВ**

Байтугаева Г.А.

канд. мед. наук, доцент кафедры
анестезиологии и реаниматологии ДПО

- Донорская кровь - кровь, взятая от донора и предназначенная для клинического использования, производства компонентов крови, лекарственных средств и медицинских изделий, а также для использования в научно-исследовательских и образовательных целях (Ст. 2 ФЗ «О донорстве»).

Компоненты донорской крови

- составляющие части крови (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, плазма, криопреципитат), взятые от донора или произведенные различными методами из крови донора.

Компоненты донорской крови:

- эритроцитная масса,
- эритроцитная взвесь,
- отмытая эритроцитарная масса (взвесь),
- эритроцитная масса обедненная лейкоцитами и тромбоцитами,

- ◎ концентрат тромбоцитов,
- ◎ концентрат тромбоцитов замороженный,
- ◎ плазма свежезамороженная,
- ◎ плазма стафилококковая человеческая,
- ◎ лейкоцитная масса (для производства интерферона)

Препараты крови

- продукты переработки компонентов крови, либо результат серийного производства.

Препараты крови:

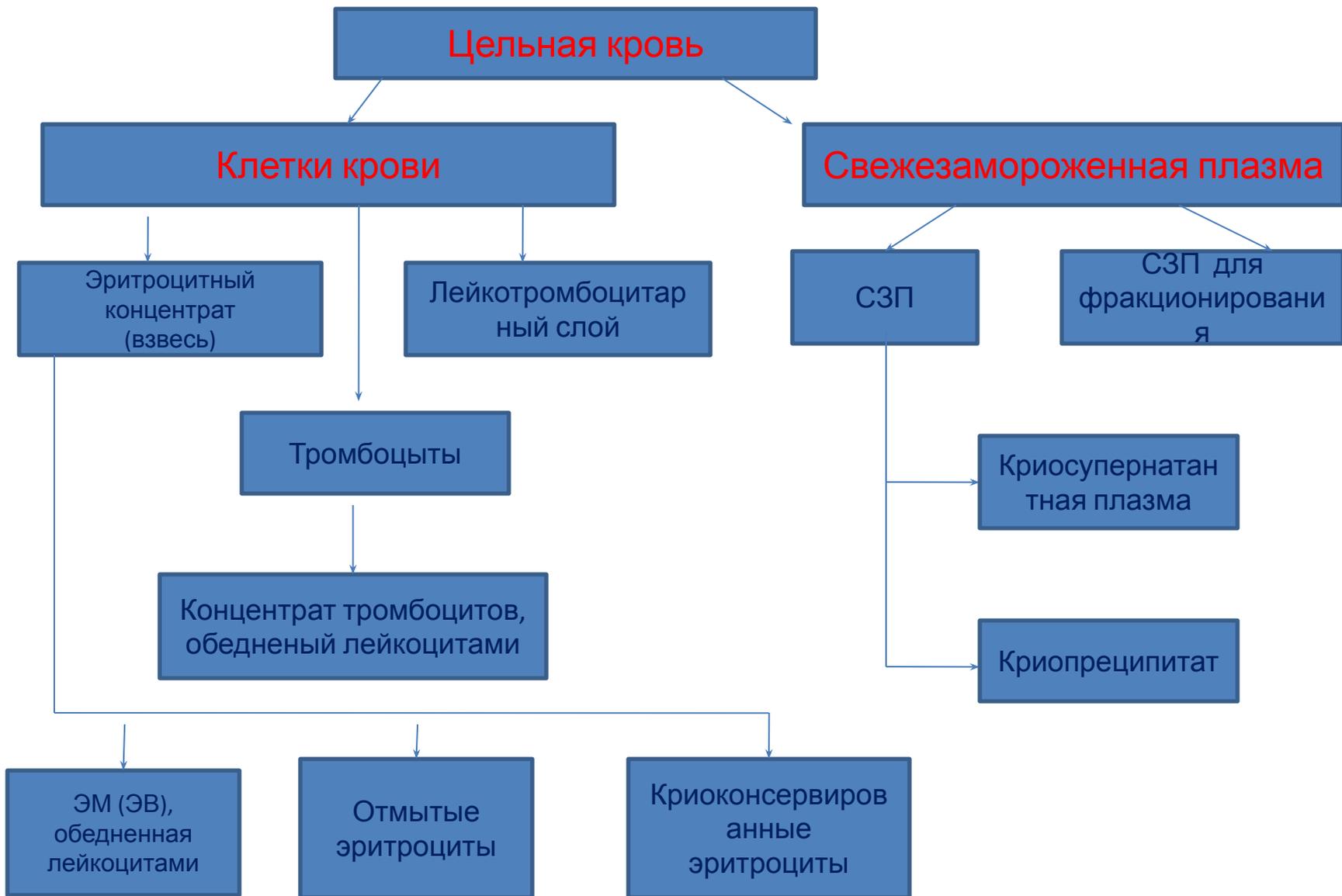
- ◎ Раствор альбумина (5%, 10% и 20%, донорский),
- ◎ протеин,
- ◎ криопреципитат (замороженный, сухой),
- ◎ иммуноглобулин нормальный человеческий,
- ◎ иммуноглобулин человека антистафилококковый донорский,

- ◎ иммуноглобулин антирезус человека,
- ◎ иммуноглобулин против клещевого энцефалита,
- ◎ иммуноглобулин противостолбнячный человека,
- ◎ иммуноглобулин противогриппозный человека,
- ◎ тромбин,
- ◎ пленка фибринная изогенная

- рекомбинантные препараты факторов свертывания – VII (коагил, новосевен), VIII, концентраты протромбинового комплекса.

Основной причиной производства компонентов крови являются различные условия их последующего хранения:

- ◎ эритроциты сохраняют функциональную полноценность в охлажденном состоянии;
- ◎ качество составляющих плазмы поддерживается в замороженном состоянии;
- ◎ оптимальные условия хранения тромбоцитов — помешивание при комнатной температуре;
- ◎ клетки-предшественники гемопоэза для сохранений своих функций нуждаются в криоконсервировании.



Изменения форменных элементов и факторов свертывания при хранении цельной крови

- ***Изменения эритроцитов при длительном хранении.***
- **Эритроциты цельной крови, стабилизированной любым антикоагулянтом без глюкозы, спустя 48 часов хранения утрачивают жизнеспособность. В растворы для хранения крови вводят вещества, поддерживающих функциональное состояние клеток крови (глюкоза, фосфат, аденин и др.).**

- Поддержание жизнеспособности эритроцитов при хранении коррелирует с внутриклеточным содержанием аденозинтрифосфата (АТФ), потребление которого сокращается в 40 раз при уменьшении температуры хранения до +4 °С.

- Добавление в консервирующий раствор аденина повышает уровень АТФ и жизнеспособность эритроцитов.
- Предельный срок хранения консервированной крови и эритроцитных сред и их пригодность для трансфузии определяются периодом, в течении которого уровень АТФ в эритроцитах остается выше 70% от исходного.

Кислородтранспортная функция

- эритроцита коррелирует и связана с промежуточным компонентом гликолиза – 2,3-дифосфоглицератом (2,3-ДФГ).
Уровень 2,3-ДФГ, по данным литературы считается одним из важных, хотя и косвенных показателей кислородтранспортной функции эритроцитов, поскольку он регулирует сродство гемоглобина к кислороду, влияя на показатель P_{50} .

Показатель P_{50}

- Показатель P_{50} отражает величину парциального давления кислорода, при которой гемоглобин на 50% насыщается кислородом. Чем выше P_{50} , тем оксигемоглобин легче диссоциирует и отдает кислород тканям при прочих равных условиях.

P_{50}

- В процессе консервирования крови P_{50} снижается с 22-24 до 17-19 мм рт. ст.
- Тем не менее содержанию 2,3-ДФГ в переливаемой крови долго придавали исключительное значение в прогнозировании эффективности трансфузии при острой кровопотере. В результате утвердилось мнение о бесполезности использования в этих случаях консервированной крови более 3 сут. хранения.

Однако

- многолетний опыт применения консервированной крови в клинических условиях и экспериментальные данные позволяют считать, что значение содержания 2,3-ДФГ в переливаемых эритроцитах в большинстве случаев явно преувеличено.

- Есть данные о восстановлении уровня 2,3-ДФГ в сосудистом русле реципиента от критического уровня (<50%) до нормы в течение 8 часов.

pH

- В процессе хранения консервированной крови снижается вне- и внутриклеточный pH, что обусловлено накоплением молочной кислоты в процессе гликолиза и истощением буферных систем.

Морфология эритроцитов

- в процессе хранения изменяется: от дискоцитов к эхиноцитам (шиповатая клетка, обратимая форма) и далее – к сфероцитам (необратимая предгемолитическая форма). К необратимым изменениям ведет также “отпочкование” шипов с образованием частиц размером 50 – 200 нм, содержащих гемоглобин и компоненты клеточной мембраны – этот процесс называется везикуляцией.

Нарушение проницаемости мембраны эритроцитов

- к перемещению ионов калия во внеклеточную среду,
- выход калия и поступление в эритроцит натрия обусловлены истощением ферментной системы мембраны, в частности АТФ-азы, регулирующей деятельность калий-натриевого насоса,
- в конце допустимого срока хранения уровень калия в плазме может увеличиться в 3-4 раза и более,
- далее в процессе хранения во внеклеточную среду перемещается гемоглобин.

Свободный гемоглобин

- Повышение уровня свободного гемоглобина в плазме и степени гемолиза является общепринятым критерием пригодности крови для переливания.
- По международным стандартам гемолиз в консервированных эритроцитных средах не должен превышать 0,8%.

Деформируемость эритроцитов

- является одним из важнейших показателей морфофункциональной сохранности эритроцитов при консервировании и хранении.
- Деформируемость эритроцитов в процессе хранения цельной крови снижается параллельно с уменьшением содержания в них АТФ.
- По мере увеличения сроков хранения уменьшается способность эритроцитов проходить через капилляры, диаметр которых меньше их собственного. В результате такие эритроциты выключаются из кровотока и переводятся в депо.

Изменения тромбоцитов и лейкоцитов при хранении цельной крови

- Дискоидные тромбоциты цельной крови, хранящейся при +4 °С, быстро трансформируются в сферические (их жизнеспособность утрачивается)
- . При кратковременном хранении эти изменения частично обратимы, но выживаемость в организме реципиента тромбоцитов цельной крови, хранящейся при +4 °С в течение 8 часов, сокращается до 2 суток.

Гранулоциты и моноциты

- Функциональная активность резко сокращается в течение 8 часов, независимо от температуры хранения, а через 24 часа наступает дезинтеграция этих клеток.
- Протеазы и другие продукты разрушения лейкоцитов активизируют гемолиз.

Изменения факторов свертывания при хранении цельной крови.

- Наиболее лабильны факторы свертывания, активность которых падает в крови, хранящейся при положительной температуре, - фVIII и фV.
- Так, к 7-м суткам хранения цельной крови активность фVIII составляет $0,32 \pm 0,09$ МЕ/мл (стандарт для свежезамороженной плазмы – не менее 0,7 МЕ/мл).

Основы консервирования крови и ее компонентов.

- Стабилизацию - сохранение жидкого состояния крови и ее компонентов вне организма,
- Обеспечение стерильности крови и ее компонентов,
- Сохранение биологических свойств крови и ее компонентов.

Цитрат натрия.

- **связывание ионов кальция, что делает невозможным запуск каскада ферментативного свертывания крови.**
- **Вскоре после открытия стабилизирующего действия цитрата в 1915 году Р. Льюисон определил его минимально необходимое количество, что снизило потенциальную токсичность и повысило безопасность гемотрансфузий. Добавление к консервированной крови декстрозы (глюкозы) П. Роусом и П. Турнером в 1916 году позволило повысить жизнеспособность хранящихся эритроцитов.**

ACD (acid – citrate – dextrose),

- В 1943 году Д. Лутит и П. Моллисон создали консервант, названный ACD (acid – citrate – dextrose), с которым консервированную кровь можно было хранить в течение 21 дня. В состав этого гемоконсервирующего раствора входили: трехзамещенная натриевая соль лимонной кислоты — средний цитрат, лимонная кислота и декстроза.

Citrate – phosphate – dextrose

- На смену ACD в конце 1950-х годов пришел раствор CPD (citrate – phosphate – dextrose), созданный Д. Гибсоном в 1957 году. Менее кислый CPD обеспечивал более высокий уровень 2,3-ДФГ в эритроцитах по сравнению с ACD в течение 21 дня.

Раствор CPDA-1

- Добавление аденина к CPD в 1978 году (раствор CPDA-1) позволило увеличить срок хранения консервированной крови приготовленного из нее концентрата эритроцитов до 35 дней.
- Аденин быстро диффундирует в эритроциты, связывается с фосфорибозилпирофосфатом и образует аденозинмонофосфат (АМФ).
- Последний фосфорилируется до АТФ, таким образом, в хранящихся клетках компенсируется необратимая потеря адениновых групп из распадающегося АМФ.

Но,

- при приготовлении концентрата эритроцитов половина аденина остается в плазме, а некоторое количество аденина выходит из эритроцитов.
- Таким образом, аденин попадает в организм реципиента, где может частично трансформироваться в 2,8-гидроксиаденин – плохо растворимый и в больших количествах потенциально нефротоксичный метаболит.
- Поэтому в настоящее время аденин добавляют не в раствор с антикоагулянтом для цельной крови, а в раствор, взвешивающий (ресуспендирующий) эритроциты

1983 год

- – создание систем с дополнительными взвешивающими растворами для эритроцитов.
- После разделения крови эритроцитная масса (концентрат) стерильно смешивается с дополнительным (ресуспендирующим) раствором, в результате чего образуется эритроцитная взвесь, которую можно хранить до 42 суток.

«Глюгидр».

- Наиболее распространенные отечественные пластиковые контейнеры для консервирования крови – «Гемакон» (АКО «Синтез», г. Курган) выпускаются с гемоконсервантом «Глюгидр».

- Глюкозоцитратный раствор глюгицир – это гемоконсервант ЦОЛИПК-7б без левомицетина. В его состав входят: цитрат натрия – 2 г; безводная глюкоза – 3 г; бидистиллированная вода до 100 мл. У глюгицира рН=5,0. Он стерилизуется в автоклаве при температуре +120°С в течение 30 мин. Срок хранения 2 года. Для достижения устойчивой стабилизации крови соотношение ее объема и объема консерванта должно составлять 4:1.

Гемоконсервант Л-6

- Гемоконсервант Л-6 – кислый глюкозоцитратный раствор с сульфацилом натрия, в состав которого входят: цитрат натрия кислый – 2,5 г; глюкоза – 3 г; сульфацил натрия – 0,5 г; трипафлавин нейтральный – 0,025 г; бидистиллированная вода до 100 мл. Гемоконсервант Л-6 имеет рН, равный 4,9. Этот раствор стерилизуется в автоклаве при температуре +120°С в течение 30 мин. Срок хранения 7 дней.
-

Раствор цитроглюкозофосфата

- Раствор цитроглюкозофосфата, в состав которого входят: лимонная кислота – 1 г; безводная глюкоза – 3 г; трехзамещенный фосфат натрия – 0,75; 4% раствор NaOH (до pH=5,5-5,9); бидистиллированная вода до 100 мл. pH данного раствора равен 5,7.
Цитроглюкозофосфат стерилизуется в автоклаве при температуре +106°C в течение 45 мин. Если раствор изготовлен в заводских условиях, то срок его хранения может быть до 2 лет.

Модежель"

- Отечественный ресуспендирующий и консервирующий раствор – "Модежель", в состав которого входит пищевой желатин пищевой. Считается, что коллоидные растворы и в частности, желатин, обволакивают эритроцитную мембрану и повышают ее стабильность при консервировании.

Антиоксиданты

- Антиоксиданты (токоферол, аскорбиновая кислота) используют для усиления защиты клеточных мембран от действия продуктов перекисного окисления липидов.
- Исследования по совершенствованию технологии консервирования крови продолжаются. Так, Sweeney J.D. et al. (2001) установили, что антиоксидант L-карнитин уменьшает гемолиз хранящихся эритроцитов.

Техника заготовки крови и ее компонентов

Группы доноров:

- доноры крови
- доноры плазмы и клеток крови
- аутодоноры

Основные этапы заготовки крови

- взятие крови у доноров;
- осаждение форменных элементов крови путем центрифугирования;
- фракционирование крови;
- выполнение лабораторных исследований;
- выбор забракованных образцов;
- паспортизация и выпуск компонентов, годных для переливания.

- Безопасность крови и ее компонентов обеспечивается строгим соблюдением условий маркировки консервированной крови и ее компонентов. Маркировка должна проводиться в соответствии с ГОСТ Р 52938-2008 «Кровь донорская и ее компоненты. Контейнеры с консервированной кровью и ее компонентами. Маркировка».

- Виды маркировки:
- технологическая (промежуточная) маркировка,
- маркировка готовой продукции,
- маркировка несоответствующей продукции,
- клиническая маркировка.

- Маркировка параметров донорской крови и ее компонентов должна сохраняться в течение всего срока годности данной продукции и оставаться легко читаемой.
- Этикетки должны прочно удерживаться на контейнерах при всех условиях обработки и хранения. Контейнер с поврежденной или утраченной этикеткой должен быть забракован.

- ◎ Фамилия донора должна быть удалена с этикетки контейнера с донорской кровью или ее компонентами при передаче этих компонентов в медицинские или иные организации.
- ◎ Если фамилия донора указана на технологической этикетке, эта этикетка должна быть удалена или заклеена этикеткой готовой продукции, так, чтобы фамилия донора не была видна.
- ◎ Технологическая маркировка применяется для обеспечения технологических процессов внутри учреждений службы крови. Технологическая маркировка должна содержать уникальный номер донации.

- ◎ **Уникальный номер донации** состоит из шести арабских цифр, емкость кода обеспечивает уникальность номера донации в организации или подразделении службы крови в течение 5 лет. Номер донации присваивается непосредственно перед сдачей крови донором.
- ◎ Допускается использование одной цифры номера донации для обозначения группы крови по системе АВ0. При этом:
 - ◎ для доноров группы 0(I) выделяют номера донаций с 100 000 по 199 999;
 - ◎ для доноров группы A(II) – с 200 000 по 299 999
 - ◎ для доноров группы B(III) – с 300 000 по 399 999
 - ◎ для доноров группы АВ(IV) – 400 000 по 499 999.

Общая характеристика компонентов крови

- Эритроцитная масса** - продукт первичного фракционирования крови.
- ⊙ Может быть получена путем спонтанного оседания эритроцитов в течении 1-3 сут, с последующим удалением плазмы
 - ⊙ Эритроцитную массу также можно получить в результате центрифугирования крови в течении 20 мин со скоростью 2000 об/мин с последующим удалением плазмы.
 - ⊙ Гематокрит эритроцитной массы составляет 0,65-0,75 л/л, гемоглобина в 1 дозе не менее 45 г, гемолиз в конце хранения должен быть не более 0,8% эритроцитов.
 - ⊙ Содержание лейкоцитов в эритроцитной массе с неснятым лейкотромбоцитарным слоем такое же, как в цельной крови – $2,5-3,5 \cdot 10^9$ /л. Примесь тромбоцитов зависит от метода заготовки: максимальное количество тромбоцитов оседает при ее заготовке путем отстаивания. Содержание микросгустков в эритроцитной массе, которые концентрируются в основном в лейкотромбоцитарном слое, практически не отличается от такового в цельной консервированной крови.
 - ⊙ Эритроцитная масса имеет высокую вязкость, что затрудняет переливание этой гемотрансфузионной среды в интенсивном режиме.

Эритроцитная масса с удаленным лейкотромбоцитарным слоем.

- ◎ С целью снижения частоты посттрансфузионных реакций негемолитического типа и осложнений, зависящих от содержания в эритроцитной среде лейкоцитов и микросгустков, при заготовке эритроцитной массы удаляют лейкотромбоцитарный слой.
- ◎ После экстракции всей плазмы из оставшейся эритроцитной массы удаляют глобулярный слой на глубину 1 см (около 30-50 мл). Если ставшаяся эритроцитная масса имеет гематокрит выше 0,8 л/л, возвращают часть плазмы до гематокрита 0,65-0,75 л/л.
- ◎ Доза эритроцитной массы без лейкотромбоцитарного слоя составляет около 250 мл, содержание гемоглобина не менее 43 г, лейкоцитов в 2 – 2,5 раза меньше, примесь тромбоцитов незначительна.

Эритроцитная взвесь

При заготовке этой трансфузионной среды после центрифугирования удаляется плазма и к эритроцитам добавляется взвешивающий (ресуспендирующий) раствор, обеспечивающий лучшую сохранность клеток.

- ◎ Величина гематокрита в этом гемокомпоненте зависит от типа взвешивающего раствора, режима центрифугирования и количества оставшейся плазмы, но не должна превышать 0,70 л/л.
- ◎ Минимальное содержание гемоглобина в этом гемокомпоненте – 45 г. В дозе содержится большая часть лейкоцитов и тромбоцитов.

Эритроцитная взвесь с удаленным лейкотромбоцитарным слоем

- При приготовлении этой трансфузионной среды после центрифугирования удаляется плазма, лейкотромбоцитарный слой и к эритроцитам добавляется взвешивающий раствор.
- Содержание эритроцитов в этом гемокомпоненте на 10-30 мл меньше, чем в первичной дозе крови, а минимальное содержание гемоглобина – 43 г.
- В одной дозе содержится менее $1,2 \cdot 10^9$ лейкоцитов и менее $20 \cdot 10^9$ тромбоцитов.

Отмытые эритроциты

- ◎ Получают из цельной крови посредством центрифугирования, удаления плазмы и отмывания эритроцитов изотоническим раствором.
- ◎ Отмыванием эритроцитов достигается удаление основной части лейкоцитов, тромбоцитов и максимальное снижение содержания плазмы. Количество остаточной плазмы зависит от протокола отмывания.
- ◎ Процедуру отмывания повторяют 2-3 раза, примесь лейкоцитов при этом снижается до 20-30 % от исходного количества.
- ◎ Гематокрит отмытых эритроцитов может быть различным, минимальное содержание гемоглобина в конечном продукте - 40г.
- ◎ Максимальное время хранения: при температуре от 2 до 6 °С – 24 ч, при комнатной температуре – 6 ч.

Обедненные лейкоцитами эритроциты.

- В одной дозе такого компонента не должно быть более 1×10^6 лейкоцитов при содержании гемоглобина на менее 40 г.
- Возможно получение путем сочетания удаления лейкотромбоцитарного слоя и фильтрации.

Концентрат тромбоцитов

- ◎ – это суспензия жизнеспособных и гемостатически активных тромбоцитов в плазме, приготовленная методом серийного центрифугирования консервированной крови или методом тромбоцитафереза от одного донора.
- ◎ Под стандартной терапевтической дозой тромбоцитов для взрослого пациента понимают количество тромбоцитов, эквивалентное выделенному из 4-6 доз цельной крови.
- ◎ Концентрат тромбоцитов должен содержать в объеме 50-75 мл плазмы не менее $60 \cdot 10^9$ тромбоцитов. Допускается примесь эритроцитов (до $1,0 \cdot 10^9$) и лейкоцитов (до $0,2 \cdot 10^9$).
- ◎ Концентрат тромбоцитов должен отвечать следующим требованиям:
- ◎ должен иметь сохранную упаковку, без нарушений герметизации и правильную маркировку;
- ◎ не должен содержать макроскопических агрегатов, видимых сгустков, нитей фибрина,
- ◎ в конце разрешенного срока хранения рН не должен быть ниже 6,0;

Свежезамороженная плазма –

- ⦿ это плазма, полученная от одного донора методом плазмафереза или консервирования крови посредством ее центрифугирования и замороженная при температуре - 45 °С в течении первых 4 часов с момента венепункции.
- ⦿ Применение гепарина при получении свежезамороженной плазмы недопустимо. Замораживание плазмы проводят в спиртовой ванне замораживателя при температуре - 45 °С и ниже или в холодильнике с принудительным обдувом рабочей камеры воздухом при той же температуре.
- ⦿ Свежезамороженная плазма может храниться в холодильнике при температуре -30 °С и ниже в течение 12 месяцев с момента пункции вены при условии сохранения герметичности упаковки.
- ⦿ Перед переливанием свежезамороженную плазму оттаивают на водяной бане или под струей теплой воды при температуре 35—37 °С (не выше) при периодическом покачивании контейнера.
- ⦿ Оттаявшая плазма должны быть и перелита немедленно или не позднее 24 часов при условии ее хранения при температуре 2-6° С.

Показания к назначению СЗП

- При продолжающемся кровотечении, операции

при показателях

МНО > 1,5, АЧТВ > 45 сек



Приказ МЗ РФ № 193 от 7.05.2003
«О внедрении в практику работы службы крови в
Российской Федерации метода карантинизации
свежезамороженной плазмы»

- **обеспечить:**

приоритетное использование
карантинизованной свежезамороженной
плазмы в педиатрической и акушерской
практике, реципиентам органов и тканей

Методические рекомендации по лабораторному предупреждению передачи ВИЧ при переливании крови и ее компонентов (утв. Минздравсоцразвития России 24 сентября 2007 г. № 7067-РХ)

- При неявке донора для повторного обследования за три месяца до истечения срока хранения СЗП снимается с карантинизации и *уничтожается* в установленном порядке.



Криопреципитат (криопреципитированный антигемофильный фактор)

представляет собой нерастворимую при охлаждении часть плазмы, полученной из свежзамороженной плазмы.

- ⊙ Перед получением криопреципитата производится оттаивание свежзамороженной плазмы при температуре от 0 до +4 °С до консистенции подтаявшего снега, после чего проводится центрифугирование оттаявшей плазмы в рефрижераторной центрифуге при температуре 0 +2 °С
- ⊙ .Отделение плазмы от осадка криопреципитата производят немедленно после окончания центрифугирования, оставляя в контейнере или бутылке 20-25 мл жидкости
- ⊙ .Замораживание криопреципитата проводят немедленно после его получения при температуре -45 °С и ниже.
- ⊙ Срок годности криопреципитата, при условии его хранения при температуре -30 °С и ниже, составляет три месяца.

Криопреципитат (криопреципитированный антигемофильный фактор)

- Активность фактора VIII в одной дозе криопреципитата должна быть не менее 90 международных единиц (МЕ), содержание фибриногена должен быть не менее 140 мг в одной дозе.
- Перед переливанием криопреципитат оттаивают на водяной бане или под струёй теплой воды при температуре 35—37 °С (не выше!!).