

" У Т В Е Р Ж Д А Ю "
Заместитель Министра
здравоохранения СССР
А.М.МОСКВИЧЕВ
11 июня 1987 года
N 06 - 14 / 24
С правом дополнитель-
ного тиражирования
* * * * *

ИНСТРУКЦИЯ

ПО ФРАКЦИОНИРОВАНИЮ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ
НА КЛЕТОЧНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И ПЛАЗМУ.

Введение.

Фракционирование консервированной крови на компоненты и дифференцированное применение их в лечебной практике позволяет рационально использовать ресурсы донорской крови, получать необходимый лечебный эффект и определенную экономическую выгоду, т.к. компоненты, выделенные из одной дозы крови, могут быть использованы для лечения нескольких больных.

Основной клеточный компонент крови - эритроцитная масса (ЭМ) по своему составу, функциональным свойствам и лечебной эффективности равноценна цельной донорской крови, а в ряду случаев превосходит ее. В меньшем объеме ЭМ содержится то же количество эритроцитов, но значительно меньше цитрата, продуктов распада клеток, белковых антигенов и антител. Трансфузии ЭМ должны занять ведущее место в гемотерапии, направленной на восполнение дефицита красных клеток при острой и хронической анемии различной этиологии.

Переливания концентратов тромбоцитов и лейкоцитов являются эффективным средством терапии тяжелых заболеваний, сопровождающихся дефицитом этих клеток.

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

В настоящей инструкции представлены 3 программы фракционирования дозы консервированной крови, предназначенные для оптимального ее использования.

1-я ПРОГРАММА предназначена для заготовки ЭМ и плазмы;

2-я ПРОГРАММА - для получения ЭМ, плазмы и концентрата тромбоцитов (КТ);

3-я ПРОГРАММА - для заготовки ЭМ, плазмы, КТ и концентрата лейкоцитов (КЛ). При необходимости выделения одного из компонентов консервированной крови возможно использовать наиболее удобный для этой цели метод, указанный в той или иной программе.

С помощью предлагаемых программ фракционирования из дозы консервированной крови (500 мл) может быть получено 200 +/- 15 мл нативной

2.

плазмы, 200+/-15 мл эритроцитной массы, 0,5 - 0,9 x 10 в степени 11 (в среднем 0,7 x 10 в степени 11) тромбоцитов и 0,8 - 1,3 x 10 в степени 9 (в среднем 1,1 x 10 в степени 9) лейкоцитов.

Все выделенные компоненты крови обладают функциональной полноценностью и лечебной эффективностью.

Инструкция подготовлена Центральным НИИ гематологии и переливания крови МЗ СССР (разделы 1.0 - 8.0) и Ленинградским НИИ гематологии и переливания крови МЗ РСФСР (раздел 3.3.0).

1.0.0. ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ НА КОМПОНЕНТЫ

Консервированная донорская кровь заготавливается в соответствии с инструкциями по заготовке крови (утв. МЗ СССР 03.08.84, N 06-14/10 и по медицинскому освидетельствованию доноров крови в стационарных и выездных условиях (утв. МЗ СССР 13.10.78, N 6 - 14/13).

1.0.1. Доноры, кровь которых предназначена для получения концентратов тромбоцитов, проходят медицинское освидетельствование с обращением специального внимания на отсутствие у них признаков кровотоочности (петехий, синяков и др) и исключения приема аспирина по крайней мере за сутки до кроводачи.

1.0.2. Донорскую кровь заготавливают в полимерные контейнеры ("Гемакон"-500, "Гемакон"-500/300, "Гемакон"-500/300/300) или стеклянные бутылки вместимостью 500 или 250 мл на одном из консервантов применяемых для фракционирования, хранят либо при температуре 4 +/- 2 градуса С (для последующего выделения плазмы, ЭМ), либо при температуре 22 +/- 2 градуса С (для выделения тромбоцитов, лейкоцитов).

1.0.4. Консервированная кровь, предназначенная для фракционирования на компоненты должна отвечать следующим требованиям:

- время хранения крови, отобранной для выделения тромбоцитов и лейкоцитов, должно быть ограничено 4-6 часами после заготовки от донора;

- для заготовки ЭМ - до 7 дней;

- для выделения плазмы - не более 2-6 часов с момента взятия от донора с целью получения криопреципитата и антигемофильной плазмы; до 24 часов - для получения замороженной плазмы и до 21 дня - для приготовления из плазмы белковых препаратов (в соответствии с регламентами их производства);

- хранившаяся кровь должна иметь четко выраженную границу разделения на плазму и глобулярную массу;

- плазма консервированной крови должна быть прозрачной, соломенно-желтого цвета без мути, хлопьев, нитей фибрина и признаков гемолиза, глобулярный слой крови должен быть равномерным, без неровностей на поверхности.

1.0.5. Фракционирование крови, заготовленной в стеклянные бутылки, производят с соблюдением правил асептики в специальной боксированной операционной, обработанной в соответствии с "Инструкцией по заготовке консервированной донорской крови".

3.

1.0.6. Фракционирование крови, заготовленной в полимерные контейнеры, производят с соблюдением правил асептики в специальном (небоксеризованном) помещении, т.к. процесс разделения крови на компоненты в полимерных контейнерах происходит в закрытой системе.

2.0.0. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ ДЛЯ ЗАГОТОВКИ ЭРИТРОЦИТНОЙ МАССЫ И ПЛАЗМЫ (ПРОГРАММА 1)

2.1.0. Заготовка ЭМ и плазмы методом спонтанной седиментации крови в стеклянных бутылках

2.1.1. Бутылки с консервированной кровью хранят в покое в вертикальном положении в холодильниках при 4 ± 2 градуса С.

2.1.2. Отделение плазмы производят в специальной боксеризованной операционной с соблюдением всех правил асептики. Подготовка боксов для работы проводится в соответствии с "Инструкцией по контролю стерильности консервированной крови, ее компонентов, препаратов консервированного костного мозга, кровезаменителей и консервирующих растворов" (М. 1985 г.). Для предупреждения загрязнения воздуха продолжительность работы в боксе не должна превышать 3-х часов. Бутылки с кровью, предназначенные для отделения плазмы, и штативы протирают 3% раствором хлорамина. С тубусов бутылок снимают пергаментные колпачки, отгибают створки металлических колпачков и обжигают тубусы горячим ватным шариком со спиртом. После этого штатив с бутылками передают в бокс, где резиновые пробки бутылок обжигают второй раз.

2.1.2.1. Отделение плазмы из бутылки с кровью производят путем перемещения ее в другой сосуд (бутылку) с помощью создания вакуума в ней или повышенного давления в бутылке с кровью. Воздух поступающий в бутылку с кровью, должен пройти через фильтр (патрон с тканью Петрянова) и быть стерильным.

Резиновую пробку бутылки с кровью прокалывают двумя иглами: короткой иглой с надетой на нее резиновой трубкой длиной в 5 см и длинной иглой системы для отделения плазмы. Система состоит из двух игл (И-114) и соединительной резиновой трубки (длина 15 см). Второй иглой системы прокалывается пробка пустой стерильной бутылки, в которую будет перемещаться плазма. Для выхода воздуха из этой бутылки (или создания вакуума в ней) пробку прокалывают короткой иглой.

Аспирацию плазмы заканчивают, когда над слоем эритроцитов остается слой плазмы высотой около 1 см (15-20 мл в бутылках вместимостью 250 мл и 30-40 мл в бутылках вместимостью 450-500 мл).

2.1.2.2. Полученная ЭМ остается в основной бутылке и имеет гематокритное число 0,7 - 0,8.

2.1.3. По окончании фракционирования крови на плазму и эритроцитную массу (ЭМ) из бутылок удаляют иглы, смазывают поверхности 5% йодом и производят герметизацию пробок путем погружения тубуса бутылки в расплавленный стерильный парафин. Кроме того, тубус бутылки покрывают пергаментной бумагой и фиксируют ее резиновым кольцом.

4.

2.1.4. На бутылку с плазмой наклеивают этикетку, на которой

указывают учреждение-заготовитель, "нативная плазма", объем, дату заготовки, срок хранения, группу крови и резус-фактор донора, регистрационный номер, дату заготовки крови и фамилию врача. Плазму хранят при 4 ± 2 градуса С не более 3-х дней, используют для переливания больным или направляют на приготовление препаратов плазмы в соответствии с "Типовым комплексным регламентом производства белковых препаратов донорской крови", утвержденным МЗ СССР в 1979 году. Для длительного хранения нативную плазму замораживают при температуре $-25/-30$ градусов С непосредственно после заготовки, но не позднее 24 часов и хранят в таких же условиях до использования.

2.1.5. На бутылку с оставшейся ЭМ наклеивают дополнительную этикетку, на которой указывают учреждение-заготовитель, "эритроцитная масса", объем, дату заготовки, группу крови, название гемоконсерванта, фамилию врача. Хранят ЭМ при 4 ± 2 градуса С в течение 21 дня после заготовки крови. Изменение срока хранения ЭМ может быть предусмотрено новыми инструкциями в зависимости от рецептуры консервирующего раствора для цельной крови.

2.1.6. ЭМ может быть использована для трансфузий в клинике; для криоконсервирования в соответствии с методическими рекомендациями "Методы долгосрочного хранения в замороженном состоянии эритроцитов, предназначенных для трансфузий", 1980 г; для ресуспендирования в одном из плазмозамещающих растворов, утвержденных МЗ СССР. Срок хранения такой эритроцитной взвеси (ЭВ) определяется соответствующей инструкцией. Возможно ресуспендирование ЭМ в стерильном, апиrogenном 0,9% растворе хлорида натрия (в соотношении 1:1). Такую ЭВ используют для трансфузий; ее допускается хранить не более 24 часов при 4 градусах С.

2.1.7. Эtiquетирование ЭВ производят как в п.2.1.5., указывая в названии "эритроцитная взвесь"

2.2.0. ЗАГОТОВКА ЭМ И ПЛАЗМЫ МЕТОДОМ СПОНТАННОЙ СЕДИМЕНТАЦИИ КРОВИ В ПОЛИМЕРНЫХ КОНТЕЙНЕРАХ

2.2.1. Контейнеры с кровью хранят в покое в холодильниках при 4 ± 2 градуса С.

2.2.2. Для заготовки плазмы и эритроцитной массы полимерный контейнер с осевшими форменными элементами крови осторожно помещают в плазмоекстрактор этикеткой к задней его пластине, прижимают передней подвижной пластиной, снимают зажим с трубки, ведущей к добавочному пустому контейнеру и дают возможность плазме перетечь в него (см. "Инструкцию по применению полимерных контейнеров "Гемакон" и "Компопласт", 1983 г). Когда граница раздела плазмы и эритроцитов окажется у выходного отверстия основного контейнера, на трубку накладывают зажим на расстоянии 2-5 см от контейнера с плазмой. При отсутствии плазмоексерактора полимерный контейнер с кровью подвешивают на штативе, пустой контейнер располагают на столе. Ослабив зажим на соединительной трубке, осторожно сжимают рукой

нижнюю часть основного контейнера и переводят плазму в пустой контейнер. Накладывают зажим на соединительную трубку в 2-5 см от ос-

нового контейнера. Контейнеры, содержащие плазму и эритроцитную массу, герметизируют путем запайки трубки с помощью "Гематрона" или другим доступным способом герметизации (наложение металлических колец, завязывание вручную двух пар тугих узлов).

2.2.3. Трубку посередине между участками герметизации разрезают. Контейнер с плазмой отсоединяют, этикетировывают и хранят как указано в п. 2.1.4.

2.2.4. Контейнер с ЭМ этикетировывают, хранят и используют как указано в п. 2.1.5. - 2.1.7.

2.3.0. ЗАГОТОВКА ЭМ И ПЛАЗМЫ МЕТОДОМ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ КРОВИ В СТЕКЛЯННЫХ БУТЫЛКАХ

2.3.1. Стеклянные бутылки с консервированной кровью проверяют на герметичность укупорки, отсутствие трещин в стекле.

2.3.2. Кровь тщательно медленно перемешивают для равномерного распределения клеток в объеме.

2.3.3. Бутылки с кровью, вместимостью 250 мл. [Стеклянные бутылки ГОСТ 10782-77 вместимостью 500 мл. использовать для фракционирования крови методом центрифугирования не представляется возможным ввиду значительного боя этих бутылок в процессе центрифугирования], помещают в центрифужные стаканы с резиновыми вкладышами, уравнивают попарно водой и центрифугируют при центробежном ускорении 2000 g в течение 20 минут (температура +5 градусов C) (см. таблицу режимов).

2.3.4. Обработку бутылок с кровью для заготовки ЭМ и плазмы, отделение плазмы, герметизацию, паспортизацию бутылок с этими компонентами, хранение и использование их производят как указано в п.п. 2.1.2 - 2.1.7.

2.3.5. ЭМ может быть использована для приготовления эритроконцентрата (ЭК) с гематокритом 0,8-0,9. Для этого иглу, вынутую из сосуда с плазмой (после ее отделения), вводят в пустую стерильную емкость, куда с помощью отсоса из бутылки с ЭМ переводят остаток плазмы с подлежащей лейкопленкой и эритроцитами общим объемом до 30+/-5 мл. (при фракционировании крови в бутылках вместимостью 250 мл.).

2.3.6. ЭК используют для получения ЭМ, обедненной лейкоцитами и тромбоцитами (ЭМОЛТ) в соответствии с "Инструкцией по заготовке эритроцитной массы, обедненной лейкоцитами и тромбоцитами", 1987 г или для получения эритроцитной взвеси, как указано в п. 2.1.6.

2.3.7. ЭК может быть также использован для получения "модифицированной крови" (МК). Для того во время заготовки ЭК в него

6.

возвращают по стерильной системе 20-30 мл или более аутоплазмы (после удаления из нее тромбоцитов и лейкоцитов). МК является средой, обладающей трансфузиологическими преимуществами перед цельной

консервированной кровью: хорошими реологическими и функциональными свойствами, лишена тромбоцитов и обеднена лейкоцитами, содержит значительно меньшее число микроагрегатов. Этикетирование МК производят как в п.2.1.5., указывают в названии "модифицированная кровь" Срок ее хранения при 4+/-2 градуса С зависит от рецептуры консервирующего раствора, на котором была заготовлена кровь от донора.

2.4.0. ЗАГОТОВКА ЭМ И ПЛАЗМЫ МЕТОДОМ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ КРОВИ В ПОЛИМЕРНЫХ КОНТЕЙНЕРАХ

2.4.1. Проверяют герметичность перекрытия соединительной трубки между основным и дополнительным контейнерами путем сжатия рукой контейнера с кровью.

2.4.2. Кровь тщательно медленно перемешивают для равномерного распределения клеток в объеме.

2.4.3. Контейнеры с кровью помещают в центрифужные стаканы, уравнивают попарно сухим материалом (резиновой крошкой и пр.), центрифугируют при центробежном ускорении 2000 g в течение 20 минут (температура +5 градусов С) (см. таблицу режимов).

2.4.4. Последующее отделение плазмы и ЭМ, герметизацию и этикетирование контейнеров с этими компонентами, хранение и использование их производят как указано в п.п. 2.2.2. - 2.2.5; 2.3.5.-

** - 2.3.7.

3.0.0. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ ДЛЯ ЗАГОТОВКИ КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ, ЭРИТРОЦИТНОЙ МАССЫ И ПЛАЗМЫ (ПРОГРАММА П)

3.1.0. Заготовка концентратов тромбоцитов (КТ), ЭМ и плазмы из консервированной крови в полимерных контейнерах.

3.1.1. Консервированную кровь, предназначенную для КТ, хранят при комнатной температуре не более 4-6 часов с момента заготовки.

3.1.2. Перед центрифугированием крови проверяют герметичность перекрытия соединительной трубки между основным и дополнительным контейнерами путем сжатия рукой контейнера с кровью.

3.1.3. Кровь в контейнерах тщательно перемешивают, помещают в центрифужные стаканы, уравнивают попарно сухим материалом и центрифугируют при центробежном ускорении 680 g в течение 13 минут температура 22+/-2 градуса С (см. таблицу режимов). В результате кровь разделяется на обогащенную тромбоцитами плазмы (ОТП) и ЭМ.

3.1.4. Полимерный контейнер с кровью осторожно помещают в плазмозекстрактор и ОТП переводят в добавочный контейнер, как указано в п. 2.2.2.

7.

3.1.5. Контейнер с ЭМ удаляют из плазмозекстрактора. Из контейнера с ОТП путем сжатия его стенок полностью удаляют воздух в соединительную трубку, предварительно ослабив на ней зажим, или в контейнер с ЭМ; контейнеры герметизируют и разъединяют.

3.1.6. Контейнер с ЭМ этикетируют и помещают в холодильник при 4 градусах С. Дальнейшее использование ЭМ производят как указано в п.п. 2.1.5. - 2.1.7.; 2.3.5. - 2.3.7.

3.1.7. Полимерные контейнеры с ОТП помещают по два в центрифужный стакан в вертикальном положении. При отсутствии второго контейнера с ОТП пустое пространство стакана заполняют полимерным контейнером с водой. Уравновешивание парных центрифужных стаканов производят сухим материалом в виде резиновой крошки.

3.1.8. Контейнеры с ОТП центрифугируют при центробежном ускорении 2400 g в течение 20 минут (см. таблицу режимов). При указанном режиме тромбоциты из плазмы осаждаются на дно контейнера, а над ними располагается бедная клетками плазма (БКП).

3.1.9. После остановки центрифуги контейнеры осторожно извлекают из центрифужных стаканов и помещают между пластинами плазмаэкстрактора или подвешивают на штатив в вертикальном положении; добавочный пустой контейнер располагают на столе.

3.1.10. Открывают зажим на соединительной трубке между контейнерами, давлением пластины плазмаэкстрактора на контейнер большую часть БКП переводят в пустой контейнер. Когда над тромбоцитами остается 45-65 мл плазмы, необходимой для дальнейшего их ресуспендирования, соединительную трубку перекрывают зажимом на расстоянии 2-5 см от контейнера с концентратом тромбоцитов (КТ).

3.1.11. Контейнер с КТ удаляют из плазмаэкстрактора и, ослабив зажим на трубке, переводят из него воздух в соединительную трубку или контейнер с БКП. Наличие воздуха в контейнере с КТ может привести к их агрегации. Контейнеры герметизируют.

3.1.12. Контейнер с плазмой после этикетирования хранят и используют, как указано в п. 2.1.4.

3.1.13. Контейнер с КТ оставляют без перемешивания в спокойном состоянии на 1 час при температуре 22+/-2 градуса С. При этом происходит спонтанная дезагрегация тромбоцитов. Попытки ресуспендировать тромбоциты сразу же после отделения бедной клетками плазмы могут привести к необратимой агрегации клеток, в результате чего тромбоконцентрат окажется непригодным для переливания.

3.1.14. Через час тромбоциты ресуспендируют в оставшейся плазме осторожными размешиваниями до тех пор, пока концентрат клеток приобретает вид гомогенной взвеси без видимых агрегатов.

3.1.15. Контейнер с КТ этикетируют (на этикетке указывают учреждение-заготовитель, объем и количество тромбоцитов (не менее

0,5x10 в степени 9), дату и час его заготовки, срок хранения, группу крови и резус-фактор донора, регистрационный номер, дату и час заготовки крови). Для определения объема КТ контейнер с клетками взвешивают и из полученной массы вычитают массу пустого контейнера вес которого равен 23 г.

3.2.0. ЗАГОТОВКА КТ, ЭМ И ПЛАЗМЫ ИЗ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ, ЗАГОТОВЛЕННОЙ В СТЕКЛЯННЫЕ БУТЫЛКИ (С ПРИМЕНЕНИЕМ ПОЛИМЕРНЫХ КОНТЕЙНЕРОВ) .

3.2.1. Буылки с кровью, предназначенной для выделения КТ, проверяют на герметичность упаковки и целостность стекла. Кровь тщательно перемешивают перед центрифугированием.

3.2.2. Буылки с кровью центрифугируют при центробежном ускорении 1380 g в течение 6 минут или при 680 g в течение 20 минут (см. таблицу режимов). В результате кровь разделяется на ОТП и ЭМ.

3.2.3. Отделение плазмы производят как указано в п. 2.1.2. Выделение ОТП заканчивают, когда над слоем эритроцитов останется слой плазмы высотой около 1 см (15-20 мл). Аспирацию плазмы из двух буылок вместимостью 250 мл (от одного донора или однoгруппную) производят в одну емкость. В тех случаях, когда отделение плазмы от эритроцитов производят путем подачи в буылку с кровью стерильного воздуха под давлением, ОТП переводят сразу в контейнер "Компопласт" 300/300. Для этой цели длинную иглу, введенную в буылку с кровью и погруженную в плазму, соединяют с помощью резиновой трубки с полимерной иглой контейнера "Компопласт" 300/300 (полимерную иглу вводят в просвет трубки). Под давлением стерильного воздуха ОТП поступает по трубке в контейнер. При этом на трубке, ведущей ко второму добавочному контейнеру, должен быть наложен зажим. После перевода всей плазмы из буылки в контейнер, последний герметизируют.

3.2.4. Буылки с ЭМ герметизируют и этикетируют как указано в п.п. 2.1.3. и 2.1.5.

3.2.5. Дальнейшее использование ЭМ производят как указано в п.п. 2.1.6.-2.1.7; 2.3.5.-2.3.7.

3.2.6. ОТП, собранную в стеклянную буылку, немедленно переводят в полимерный контейнер "Компопласт" 300/300. Для этой цели пробку буылки с ОТП обжигают горящим ватным шариком со спиртом и прокалывают ее длинной иглой - воздухопроводом и короткой иглой с надетой на нее резиновой трубкой длиной 5-7 см. В просвет резиновой трубки вводится полимерная игла контейнера "Компопласт" 300/300. Буылку с плазмой переворачивают вверх дном и переводят плазму в контейнер. Из него удаляют воздух в соединительную трубку или буылку, освободившуюся от плазмы. Производят герметизацию контейнера, как указано в п. 2.2.2.

3.2.7. Последующее выделение КТ из ОТП в полимерных контейнерах производят, как указано в п.п. 3.1.7.-3.1.15.

9.

3.3.0. ЗАГОТОВКА КТ, ЭМ И ПЛАЗМЫ ИЗ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ, ЗАГОТОВЛЕННОЙ В СТЕКЛЯННЫЕ БУТЫЛКИ (МЕТОД ЛЕНИНГРАДСКОГО НИИГПК) .

3.3.1. При отсутствии полимерных контейнеров типа "Гемакон" и "Компопласт" выделение КТ возможно проводить в стеклянных буылках

вместимостью 250 мл.

3.3.2. Кровь заготавливают от донора в 2 бутылки вместимостью 250 мл в количестве 500 мл на растворе Глюгицир. Бутылки проверяют на герметичность укупорки, целостность стекла. Кровь тщательно перемешивают и центрифугируют при центробежном ускорении 780 g в течение 10 минут, температура 22+/-2 градуса С (см.таблицу режимов) или любым режимом, указанным в п. 3.2.2.

3.3.3. В боксе, обогащенную тромбоцитами плазму с подлежащим слоем глобулярной массы высотой 1 см (около 15-20 мл) переводят в пустые стерильные бутылки вместимостью 250 мл. При этом из дозы консервированной крови выделяют до 200 мл ОТП.

3.3.4. По окончании отделения ОТП на трубку, соединяющую бутылки с ЭМ и ОТП с глобулярной массой, накладывают зажим, из пробок удаляют иглы, смазывают пробку бутылки с ЭМ 5% йодной настойкой и герметизируют заливкой стерильным расплавленным парафином.

3.3.5. Этикирование и дальнейшее использование ЭМ производят как указано в п.п. 2.1.5.-2.1.7.

3.3.6. Тубусы бутылок с ОТП закрывают стерильным материалом, закрепляют резинкой. Бутылки с ОТП помещают в центрифужные стаканы уравнивают и центрифугируют для получения КТ при 1320g в течение 20 минут (см. таблицу режимов).

3.3.7. После остановки центрифуги бутылки осторожно переносят в бокс и в соответствии с п.2.1.2. переводят надстой - бедную клетками плазму (БКП) в количестве 75-80мл из каждой бутылки в 1 пустую емкость, герметизируют, этикетируют и используют в качестве нативной, как указано в п.п. 2.1.4.

3.3.8. Оставшийся в бутылках КТ с примесью эритроцитов ресуспендируют в 40-50 мл оставленной плазмы путем покачивания бутылки с частотой 20-30 раз в минуту в течение 3 мин, смазывают пробки 5% йодной настойкой, герметизируют заливкой стерильным расплавленным парафином, этикируют. Срок годности КТ в стеклянных бутылках - 24 часа при комнатной температуре.

4.0.0. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ ДЛЯ ЗАГОТОВКИ ПЛАЗМЫ, ЭРИТРОЦИТНОЙ МАССЫ, КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ И КОНЦЕНТРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ (ПРОГРАММА Ш)

4.0.1. Кровь заготавливают в полимерные контейнеры "Гемакон" 500/300 или "Гемакон" 500/300/300.

10.

4.0.2. Контейнеры с консервированной кровью после проверки на герметичность и тщательного перемешивания в них крови помещают в центрифужные стаканы, уравнивают попарно сухим материалом и центрифугируют при центробежном ускорении 2150 g в течение 20 мин, температура 22+/-2 градуса С (см. таблицу режимов). При указанном режиме эритроциты оседают на дно контейнера, над ними располагается лейкотромбоцитарный слой (ЛТС) серовато-белого цвета, поверх

которого находится БКП.

4.0.3. Контейнер с кровью (N 1), соединенный с другими пустыми контейнерами, осторожно вынимают из центрифужного стакана, не нарушая границу между слоями, и помещают в плазмоекстрактор этикеткой к задней его пластине.

4.0.4. Переводят плазму в контейнер N 2, как указано в п.2.2.2. Когда в контейнере N 1 над эритроцитами остается слой плазмы высотой 4-5см (объемом около 65-70 мл) на соединительную трубку накладывают зажим на расстоянии 2-5 см от контейнера. Объем контролируем взвешиванием.

4.0.5. Для выделения ЛТС на соединительной трубке между контейнерами N1 и N3 (при использовании "Гемакон" 500/300/300) ослабляют зажим и переводят весь ЛТС вместе с оставшейся плазмой и небольшим слоем подлежащих эритроцитов (объем около 50 мл) в контейнер N3. Объем переведенной массы составляет приблизительно 115-125 мл. На соединительную трубку в 3-5см от контейнерам N1 и на таком же расстоянии от контейнера N 3 накладывают зажимы. При использовании контейнера "Гемакон" 500/300 для выделения ЛТС к контейнеру N 1 присоединяют "Компопласт" 300/300.

4.0.6. В контейнер N 1, содержащий концентрат эритроцитов (ЭК) с гематокритным числом 0.8-0.9, частично обедненный лейкоцитами и тромбоцитами, возвращают около 40 мл или более БКП из контейнера N2, предварительно ослабив зажим между N 1 и N 2. Получают "модифицированную кровь". Контейнеры герметизируют и разъединяют. Контейнер с МК этикеткируют, хранят как указано в п. 2.3.7. и используют для трансфузий. Возможно использование ЭК, как указано в п. 2.3.6.

4.0.7. Контейнер N2, содержащий БКП, этикеткируют, хранят и используют в соответствии с п. 2.1.4.

4.0.8. Контейнер N 3, содержащий ЛТС с примесью плазмы и эритроцитов в паре с другим контейнером с ЛТС или с водой помещают в центрифужные стаканы в вертикальном положении, уравнивают сухим материалом, и центрифугируют при центробежном ускорении 190g в течение 10 мин. при температуре 22 градуса. При этом режиме эритроциты и лейкоциты оседают на дно контейнера, а концентрированные тромбоциты, взвешенные в плазме, располагаются над ними.

11.

4.0.9. После остановки центрифуги контейнер N 3 осторожно вынимают и помещают в плазмоекстрактор в вертикальном положении, присоединяют к нему контейнер N 4 ("Компопласт" 300), который располагают ниже на столе. Ослабляют зажим на соединительной трубке между контейнерами и медленно переводят КТ из контейнера N 3 в контейнер N 4. Когда у выходного отверстия трубки контейнера N 3 покажется слой лейкоцитов, накладывают зажимы на расстоянии 2-5 см от контейнеров. Производят герметизацию и разделение контейнеров.

4.0.10. Контейнер N 3, содержащий концентрат лейкоцитов (КЛ) с примесью эритроцитов, соединяют и этикетируют (на этикетке указывают учреждение-заготовитель, объем КЛ и количество лейкоцитов (не менее $0,8 \times 10^9$ в степени 9), дату и час его заготовки, срок хранения, группу крови и резус-фактор донора, регистрационный номер, дату и час заготовки крови).

4.0.11. Контейнер N 4, содержащий концентрат тромбоцитов, этикетируют как указано в п. 3.1.15.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для получения КЛ, содержащего в 1 ед. в среднем $1,8 \times 10^9$ лейкоцитов (из них 80% гранулоцитов) может быть рекомендован метод заготовки КЛ с помощью желатина (см. методические рекомендации "Заготовка концентратов лейкоцитов из консервированной крови с добавлением желатина", 1985г.)

5.0. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И ХРАНЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

5.1. Бактериологический контроль компонентов крови.

Контроль стерильности компонентов крови производят согласно "Инструкции по контролю стерильности консервированной крови, ее компонентов, препаратов, консервированного костного мозга, крове-заменителей и консервирующих растворов", М., 1985 г.

5.2. Оценка полученных компонентов крови.

Перед выдачей компонентов крови для трансфузии производится оценка их качества ответственным лицом. Критерием годности для нативной плазмы, концентрата тромбоцитов и лейкоцитов при визуальном осмотре служит прозрачность плазмы (отсутствие мути, хлопьев, нитей фибрина), гомогенность взвеси клеток, отсутствие агрегатов; для эритроцитной массы, эритроцитной взвеси, модифицированной крови - прозрачность надстоя, равномерность эритроцитного слоя, отсутствие видимых сгустков; для всех компонентов - целостность и герметичность полимерных контейнеров и стеклянных бутылок, наличие на них оформленных этикеток с указанием срока годности. Оценка количества заготовленных тромбоцитов и лейкоцитов в концентратах, полученных из 500 мл консервированной крови, проводится выборочно - по одной пробе от каждых 20 единиц концентрата клеток, но не менее одной от каждого дня заготовки. Подсчет клеток осуществляется в день заготовки КТ и КЛ. Концентрат клеток в пластикатном контейнере, отобранный для контроля, тщательно перемешивают, путем сжатия стенок контейнера перед

герметизацией заполняют одну из его свободных трубок. Герметизацию контейнера осуществляют наложением 2-х тугих узлов на трубку на расстоянии 2-3 см от контейнера. От второго узла оставляется сегмент трубки длиной 3-4 см, содержащий пробу для контроля концентрата клеток. На конец трубки накладывают один узел. Контейнер, предназначенный для контроля, взвешивают, на этикетке указывают вес концентрата и передают в лабораторию для подсчета клеток, взятых из сегмента трубки. Контейнер используют для трансфузий. Подсчет клеток осуществляют общепринятыми методами.

При заготовке КТ в стеклянных бутылках концентрат клеток после взятия пробы для подсчета тромбоцитов для трансфузии не используют.

В КТ, полученном из дозы консервированной крови, должно содержаться не менее $0,5 \times 10^{11}$ в степени 11 тромбоцитов в объеме плазмы не менее 45 мл и не более 75 мл, рН должен быть выше 6,0. В КЛ должно содержаться не менее $0,8 \times 10^9$ в степени 9 лейкоцитов в тех же объемах плазмы. Объем концентрата клеток определяют взвешиванием контейнера с КТ и КЛ, из массы которого вычитают массу пустого контейнера, равную 23 г. Объем концентратов тромбоцитов, заготовленных в стеклянных бутылках, измеряют градуированным цилиндром. При оценке качества ЭМ, хранившейся 21 день, свободный гемоглобин плазмы не должен превышать 2,0 г/л (бензидиновым методом).

5.3. Хранение и учет компонентов крови.

Хранение КТ, выделенного из свежезаготовленной крови в полимерных контейнерах, производится при комнатной температуре (22 ± 2 градуса С) в течение 24 часов или при постоянном перемешивании на автоматических мешалках в течение 72 часов при той же температуре. Возможно также хранение КТ на протяжении 24 часов в электрохолодильнике при температуре 4 ± 2 градуса С, особенно в тех случаях, когда по местным условиям не представляется возможным обеспечить указанный режим комнатной температуры. Вынутый из холодильника полимерный контейнер с КТ может содержать видимые агрегаты тромбоцитов, которые исчезают после их выдерживания при 22 ± 2 градусах С в течение одного часа в покое и последующего осторожного перемешивания.

КТ, выделенный из свежезаготовленной крови в стеклянных бутылках, хранят при температуре 22 ± 2 градуса С в течение 24 часов. Хранение КЛ производят при температуре 22 ± 2 градуса С или в условиях холодильника при 4 ± 2 градуса С в течение 24 часов. Эритроцитную массу, модифицированную кровь и эритроцитную взвесь хранят при температуре 4 ± 2 градуса С в холодильнике в течение срока, определяемого рецептурой консервирующего, ресуспендирующего растворов для крови и ЭМ. Нативную плазму хранят при 4 ± 2 градусах С в течение 3 дней с момента заготовки или в замороженном состоянии при температуре $-25-30$ градусов С до 3-х месяцев.

13.

Концентраты тромбоцитов, лейкоцитов, эритроцитную массу, "модифицированную кровь" и нативную плазму регистрируют в специальном журнале) в соответствии с приказом МЗ СССР N 1055 от 07.08.85 г.).

6.0. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ КРОВИ К ТРАНСФУЗИИ

В зависимости от показателей используют для трансфузий терапевтическую дозу - 4-6 или более единиц КТ или 8-10 и более единиц КЛ совместимых по АВО и резус-фактору (в необходимых случаях по антигенам системы HL). Терапевтическая доза КТ или КЛ может быть

получена во время заготовки концентратов клеток путем сливания отдельных единиц в один контейнер или путем последовательного присоединения во время трансфузий отдельных единиц к стандартной системе.

Переливание компонентов должно производиться через "Системы для переливания крови и ее компонентов", выпускаемые промышленностью по ОСТ 64-2-168-83.

Перед трансфузией компонентов крови врач обязан: проверить сохранность герметичности контейнера; произвести макроскопическую (визуальную) оценку качества КТ, КЛ и ЭМ; производить трансфузию с учетом групповой и резус-принадлежности донора и реципиента, в соответствии с "Инструкцией по технике переливания крови и ее компонентов" (М.1988 г), а в необходимых случаях использовать концентраты клеток с учетом антигенной гистосовместимости.

Концентраты тромбоцитов и лейкоцитов желательно применять в оптимальные сроки - в день их заготовки, т.к. при этом обеспечивается максимальная функциональная полноценность клеток и их лечебная эффективность. Наряду с этим оправданно и эффективно применение и хранившихся КТ и КЛ в течение указанных сроков.

7.0. ТЕХНИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАБОТЫ ЦЕНТРИФУГ

Проверка работы центрифуг должна производиться инженерным составом СПК при их вводе в эксплуатацию, а также периодически - один раз в 6 месяцев и в случаях каких-либо нарушений в работе. Проверка датчика времени производится с помощью секундомера, отсчет времени продолжается в течение 5 минут.

Правильность шкалы частоты вращения ротора центрифуги осуществляют по строботажомеру (например, СТ-5, "Тбилприбор"). Температуру контролируют с помощью термомпары.

Считать утратившими силу:

- Инструкцию по заготовке нативной плазмы, утв. МЗ СССР 23.10.1968 г.;

- Методические указания об увеличении выхода плазмы из цельной крови, заготовленной во флаконы, утв. МЗ СССР 05.02.1969 г.;

- Инструкцию по заготовке антигемофильной плазмы в замкнутой стерильной системе, создающейся с помощью сдвоенных пластикатных мешков, утв. МЗ СССР 05.02.1969 г.;

14.

- Инструкцию по заготовке и фракционированию крови на компоненты в выездных условиях с использованием пластикатных мешков, утв. МЗ СССР 23.10.1968 г.;

- Инструкцию по заготовке и хранению эритроцитной массы, утв. МЗ СССР 15.02.1982 г.;

- Инструкцию по выделению, консервированию и применению лейкоцитной массы, утв. МЗ СССР 05.02.1969 г.;

- Инструкцию по заготовке консервированной тромбоцитной массы по методу, разработанному в ЦОЛИПК, утв. МЗ СССР 05.05.1968 г.;

- Методические указания "Заготовка и хранение концентрата тромбоцитов из консервированной крови", утв. МЗ СССР 08.01.1982 г.;

- Методические рекомендации "Заготовка в полимерных контейнерах концентрата тромбоцитов и концентрата лейкоцитов из лейкоцитарного слоя консервированной крови, утв. МЗ СССР 07.05.1984г
- Инструкцию по заготовке и консервированию эритроцитной массы и эритроцитной взвеси, утв. МЗ СССР 307.09.1968 г.

К настоящей Инструкции авторы прилагают в виде приложения таблицу "Режиму центрифугирования консервированной крови на центрифугах различных марок для получения компонентов крови", которая воспроизводится на листе 15 и номограмму для расчета этих же режимов, которая не может быть воспроизведена возможностями текстового редактора РЕ-2.

Номограмма имеется в оригинале инструкции в отделе заготовки крови Донецкой ОСПК тлф.93-68-02.

15.

РЕЖИМЫ

центрифугирования консервированной крови на центрифугах различных марок для получения компонентов крови.

| | | | | |
|------------------|--------------|----------------------------|---|------------|
| | :Центроб. | : Марка центрифуги, | : | |
| Этапы | :ускорен. | : радиус ротора, см. | : | Примечание |
| фракционирования | : (g) и вре | | : | |
| | :мя центри: | ЦЛ 4000: ЦР 3 :К 70Д | : | |
| | :фугирова | : 27 см.: 28 см.: 25 см.: | : | |
| | :ния, мин. ' | :.....:.....:.....: | : | |
| | : | :Скор.вращ.ротора, об/мин: | : | |
| | :.....: | :.....:.....:.....: | : | |

| | | | | | | |
|---------------------------------|-------|-----|------|------|------|--------------------|
| Разделение крови на ЭМ и плазму | 2150г | 20' | 2630 | 2630 | 2800 | 1.Радиус ротора из |
|---------------------------------|-------|-----|------|------|------|--------------------|

| | | | | | | |
|----------------|-------|-----|------|------|------|------------|
| Выделение ОТП | | | | | | мерен от |
| -в контейнерах | 680g | 30' | 1500 | 1500 | 1600 | центра ро |
| -в стеклотаре | 1380g | 6' | 2150 | 2100 | 2300 | тора до |
| | 680g | 20' | 1500 | 1500 | 1600 | дна цент- |
| | 780g | 10' | 1600 | 1600 | 1750 | рифужного |
| | | | | | | стакана. |
| Выделение К Т | | | | | | 2.Для дру- |
| из О Т П | | | | | | гих цен- |
| -в контейнерах | 2400g | 20' | 2800 | 2800 | 3000 | трифуг |
| -в стеклотаре | 1320g | 20' | 2100 | 2050 | 2250 | обороты |
| | | | | | | считать |
| Выделение ЛТС | 2150g | 20' | 2680 | 2630 | 2800 | по номог- |
| | | | | | | рамме. |
| Выделение К Т | | | | | | |
| и КЛ из Л Т С | 190g | 10' | 800 | 780 | 800 | |

.....

.

□