

*проект*

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ  
РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ**

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

**ГОСТ Р**

**ТЕХНОЛОГИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ. ОБЩИЕ  
ПОЛОЖЕНИЯ.**

**Издание официальное**

**МОСКВА**

**ИПК Издательство стандартов**

**2 0 0 6**

## ПРЕДИСЛОВИЕ

1 РАЗРАБОТАН Общероссийской общественной организацией «Российская ассоциация трансфузиологов» совместно с Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации и сертификации в машиностроении»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК \_\_\_\_\_

3 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от “ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2005 г. № \_\_\_\_\_

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Ростехрегулирования

**Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р \_\_\_\_\_  
Технология приготовления компонентов крови. Общие положения.**

Дата введения \_\_\_\_\_

## **1. Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на компоненты крови (гемотрансфузионные среды), приготовленные организациями службы крови, и устанавливает общие требования к технологии приготовления компонентов крови, направленные на обеспечение безопасности, биологической полноценности и клинической эффективности компонентов крови в течение всего срока годности с какой бы целью они не использовались.

Требования к технологии приготовления компонентов осуществляются в соответствии с принципом единства требований к крови и ее компонентам, произведенным в Российской Федерации, с целью обеспечения защиты жизни и здоровья граждан, а также охраны окружающей среды от опасностей, источником которых может стать донорская кровь и ее компоненты в процессе их заготовки, обследования, хранения, транспортировки, применения и утилизации.

## **2. Общие положения.**

2.1 Для компонентов крови (гемотрансфузионных сред), получаемых из крови или плазмы человека, исходным материалом являются клетки и жидкая часть крови - плазма. Гемотрансфузионные среды, получаемые из крови или плазмы человека, обладают рядом особенностей в силу своей индивидуальности и сохранения иммунологической характеристики донора, а также риска передачи патогенов, содержащихся в крови конкретного донора.

2.2 Поскольку качество готовой гемотрансфузионной среды определяется всеми этапами производства, включая отбор и обследование доноров, все операции по заготовке крови и ее компонентов, приготовлению, хранению и транспортировке гемотрансфузионных сред должны выполняться в соответствии с принятой системой обеспечения качества, и не создавать риска для получателей из-за нарушения условий безопасности, качества или эффективности. Ответственность за выполнение этих требований несут руководители и все работники организации службы крови

2.3 Для достижения этой цели в организации службы крови должна быть создана система обеспечения качества, включающая в себя организацию контроля качества.

Следует документально оформить в полном объеме требования к системе обеспечения качества и организовать контроль эффективности ее функционирования. Все звенья этой системы следует укомплектовать квалифицированным персоналом, обеспечить необходимыми помещениями, оборудованием и пр. Ответственность за функционирование системы возлагается, в первую очередь, на руководителей

2.4 Все операции и процедуры должны быть четко регламентированы и периодически пересматриваться с учетом накопленного опыта. Следует контролировать технологию приготовления компонентов крови с заданным качеством в соответствии с национальными стандартами.

2.5 Следует обеспечить все необходимые условия для выполнения требований настоящего стандарта, в т.ч. включая наличие:

- а) обученного и аттестованного персонала;
- б) необходимых помещений и площадей;
- в) соответствующего оборудования и системы обслуживания;
- г) материалов, средств упаковки и маркировки, удовлетворяющих заданным требованиям;
- д) утвержденных инструкций и методик;
- е) требуемых условий хранения и транспортировки.

2.6 Инструкции и методики должны быть конкретными, изложены ясно и однозначно в письменной форме.

2.7 Персонал должен быть обучен правильному выполнению инструкций.

2.8 В процессе производства следует составлять протоколы (заполняемые в рукописной форме и/или с использованием технических средств), документально подтверждающие фактическое проведение предусмотренных инструкциями технологических стадий и получение гемотрансфузионных сред требуемого качества в количестве, соответствующем установленным нормам. Все отклонения необходимо расследовать и протоколировать в полном объеме.

2.9 По возможности организации службы крови следует сохранять индивидуальные образцы крови для облегчения проведения в случае необходимости ретроспективного анализа.

2.10 Должна быть организована система, позволяющая проследить движение каждой единицы гемотрансфузионной среды на всех этапах ее прохождения, начиная от донора и до применения.

2.11 Рекламации на качество гемотрансфузионных сред следует тщательно рассматривать, а причины ухудшения качества расследовать с принятием соответствующих мер по их предотвращению.

### **3. Преимущества клинического применения компонентов крови**

3.1 Компоненты крови получают в основном для двух главных целей:

- поддержка транспорта кислорода/углекислого газа;
- коррекция геморрагического синдрома и нарушений свертывания крови.

3.2 Пациент должен получать переливание компонента донорской крови с целью коррекции дефицита конкретной функции крови.

3.3 Для получения компонентов крови используют специальные пластиковые контейнеры.

3.4 Для сохранности различных компонентов крови используют следующие условия:

- эритроциты хранят при температуре от +2 °С до +6 °С;
- плазму и ее компоненты хранят в замороженном состоянии;
- тромбоциты хранят при температуре от +20 °С до +24 °С и постоянном помешивании;
- лейкоциты готовят для конкретного пациента и переливают незамедлительно; при неизбежности промежуточного хранения его проводят при температуре от +20 °С до +24 °С, без помешивания.

Для длительного (месяцы и годы) хранения эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов используют технологии криоконсервирования (хранения при отрицательной температуре).

#### **4. Процедура получения компонентов крови**

4.1 Компоненты крови (плазмы, тромбоциты, эритроциты, лейкоциты) могут быть получены при заготовке методом афереза.

4.2 Другим методом получения компонентов крови является разделение цельной крови донора.

4.3 Цельную кровь до разделения на компоненты хранят при положительной температуре. Поскольку качество компонентов крови при этом прогрессивно ухудшается, необходимо стремиться разделять цельную кровь на компоненты максимально быстро после заготовки.

4.4 Удаление лейкоцитов из компонентов крови способствует повышению их качества.

#### **4. Выбор гемоконсерванта и системы пластиковых контейнеров**

4.1 Цельную кровь заготавливают в контейнер, содержащий гемоконсервант, состоящий из антикоагулянта (цитрат) и клеточных нутриентов (глюкоза, аденин, фосфат и др.). При центрифугировании крови более половины клеточных нутриентов отделяется от эритроцитов. Поэтому следует отдавать предпочтение использованию взвешивающего раствора, добавляемого к эритроцитам после центрифугирования. При

этом клеточные нутриенты включаются в состав взвешивающего раствора, а не первичного гемоконсерванта.

4.2. Системы пластиковых контейнеров для заготовки крови, афереза и приготовления компонентов крови должны быть биосовместимы и позволять реализовать процесс получения и применения компонентов крови. Для хранения эритроцитов признан подходящим поливинилхлорид. При использовании пластификаторов должна быть гарантирована их биосовместимость. Для хранения тромбоцитов требуется пластик с повышенной проницаемостью кислорода. Для этого используются пластиковые материалы с альтернативными физическими и/или химическими характеристиками. Проникновение пластификаторов в кровь не должно наносить вред здоровью реципиента. Возможное проникновение материалов клея этикетки или других дополнительных материалов должно быть ограничено в безопасных пределах. Следует предусмотреть минимальный уровень остаточных токсических субстанций после стерилизации, например, оксида этилена.

При внедрении новых пластиков должно быть проведено адекватное исследование получения и хранения компонентов крови. При этом контролируются:

- эритроциты: глюкоза, рН, гематокрит, гемолиз, АТФ, лактат внеклеточный калий и 2,3-бифосфоглицерат;

- тромбоциты: рН, рО<sub>2</sub>, рСО<sub>2</sub>, ион бикарбоната, глюкоза, накопление лактата, АТФ, выход ЛДГ, выход бета-тромбоглобулина, ответ на гипотонический шок, феномен «метели».

- плазма: фактор VIII и признаки активации свертывания, например, комплексы тромбин – антитромбин.

Эти исследования должны быть выполнены производителями до внедрения новых пластиковых систем, а результаты исследования должны быть доступны персоналу службы крови.

Оценка новых пластиковых систем может быть дополнена изучением:

- переживаемости эритроцитов донора в организме реципиента в течение 24 часов,

- переживаемости аутологичных эритроцитов,

- переживаемости тромбоцитов.

Для поддержания закрытой системы в процессе получения компонентов крови используется система из нескольких контейнеров, готовых к использованию или соединяемых устройством для стерильного соединения трубок. Конфигурация системы контейнеров должна позволять стерильно получить необходимый компонент.

В ряде случаев может быть необходимым использование открытой системы получения компонентов крови. При этом создаются условия минимизации риска бактериального загрязнения. Полученные в открытой системе клетки должны быть перелиты:

- эритроциты – в течение 24 часов после получения,
- тромбоциты – в течение 6 часов после получения.

## **5. Принципы центрифугирования**

Осаждение клеток крови определяется их размером и отличием их плотности от окружающей жидкой среды (табл.1).

Таблица 1

Средние величины плотности и объема основных составляющих крови

Компонент	Плотность, г/мл	Объем, фл ( $10^{-15}$ л)
Плазма	1,026	
Тромбоциты	1,058	16
Моноциты	1,062	470
Лимфоциты	1,070	230
Нейтрофилы	1,082	450
Эритроциты	1,100	87

В зависимости от необходимости получения различных компонентов крови используют пять режимов начальной стадии разделения цельной крови (табл. 2).

## **6. Фильтрация**

Функциональные особенности тромбоцитов и гранулоцитов (адгезивные свойства) и низкая деформируемость лимфоцитов позволяют задерживать эти клетки в фильтрах, пропускающих эритроциты и плазму. Есть фильтры для удаления лейкоцитов из концентратов тромбоцитов.

Эффективность лейкоцитарных фильтров весьма вариабельна и зависит от параметров процесса (например, скорости потока, температуры, смачиваемости) и особенностей компонента крови (например, условий хранения, количества лейкоцитов и тромбоцитов). При внедрении стандартизированной процедуры фильтрации следует определить факторы, влияющие на ее эффективность и валидировать стандартные операционные процедуры (СОП) применительно к существующим конкретным условиям.

## **7. Компоненты крови, обедненные лейкоцитами**

Внедрение технологии обеднения лейкоцитами (лейкодеплеции) компонентов крови с использованием фильтрации или специальных технологий центрифугирования требует тщательной валидации. Должен использоваться соответствующий метод подсчета количества остаточных лейкоцитов. Этот метод также должен быть валидирован.

Должна быть разработана математическая модель для расчета объема образца, необходимого для валидации и контроля процесса лейкодеплеции.

После полной валидации процесса, с целью выявления отклонений процесса и/или процедур, организуют контроль процесса лейкодеплеции с

использованием статистического контроля процесса.

При выявлении неадекватного процесса лейкодеплеции (возможно, вследствие аномалии эритроцитов) необходимы более тщательные процедуры контроля (например, подсчет лейкоцитов при каждой донации). В этих случаях проводят оценку свойств эритроцитов.

### **7. Криопреципитация**

Выделение некоторых белков плазмы (фактор VIII, фибронектин, фибриноген) возможно с использованием их меньшей растворимости при низкой температуре. Практически для отделения криопреципитата замороженные дозы плазмы размораживают и центрифугируют при низкой температуре.

### **8. Замораживание и размораживание плазмы**

Замораживание – критический этап в сохранении фактора VIII. При недостаточной скорости замораживания дозы плазмы происходит концентрация растворенных веществ в центре контейнера. Высокая концентрация солей при этом может инактивировать фактор VIII. При высокой скорости замораживания формирование льда в контейнере происходит гомогенно, не создавая условий для продолжительного контакта высоко концентрированных солей и фактора VIII.

Для достижения максимальной сохранности фактора VIII плазма должна быть заморожена в течение часа до температуры  $-30^{\circ}\text{C}$  или ниже.

Размораживать плазму следует аккуратно, с тем, чтобы не повредить контейнер. До и после размораживания контейнер осматривают на наличие дефектов и протекания. Поврежденные контейнеры должны быть удалены.

Размораживание проводят сразу же после изъятия плазмы из хранилища при температуре  $+30^{\circ}\text{C}$ . Процедура размораживания должна быть валидирована. После размораживания плазму используют в течение 6 часов. Повторное замораживание не допускается за исключением случаев, когда размораживание – неотъемлемая составляющая процесса вирусинактивации.

### **9. Гамма-облучение компонентов крови**

Жизнеспособные лимфоциты донорской крови могут вызвать болезнь «трансплантат против хозяина» у иммунокомпрометированных реципиентов.

Жизнеспособность лимфоцитов угнетается, а сохранность других клеток не нарушается при воздействии ионизирующей радиации на компонент крови в дозе от 25 до 50 Грей. Время воздействия стандартизуется для каждого отдельного источника излучения и ревалидируется с учетом истощения изотопа.

Эритроциты могут быть облучены в течение 14 дней после заготовки и после облучения храниться до 28-го дня после заготовки. С учетом повышенного выхода калия из облученных эритроцитов, такие клетки при трансфузиях плоду или новорожденному должны быть перелиты в течение 48 часов после облучения.



Для демонстрации состоявшегося процесса облучения компонента крови рекомендуется использование этикеток, чувствительных к радиации.

### **9. Редукция патогенов**

Существуют системы редукции или инактивации микробных патогенов в компонентах крови.

### **10. Определения и минимальные требования**

Поскольку компоненты крови применяют для коррекции дефицита функции крови реципиента, приготовление каждого компонента крови должно проходить под строгим контролем. Получение компонентов, максимально очищенных от балластных субстанций, может быть затруднительно, затратно и не всегда необходимо. Однако необходимо декларировать качество компонента крови и дать лечащему врачу возможность обоснованного выбора компонента крови по показаниям для конкретного реципиента.

### **11. Внедрение метода получения компонента крови**

До внедрения метода получения компонента крови проводится обучение персонала, по возможности – на рабочем месте в центре крови, имеющем опыт получения данного компонента крови.

Все этапы процедуры должны быть ясно объяснены в инструкции, доступной на рабочем месте.

До внедрения метода получения компонента в повседневную практику надлежит разработать и полностью валидировать соответствующую СОП. Должна быть уверенность, что каждый компонент соответствует параметрам надлежащего качества. Компоненты,готавливаемые ежедневно должны быть субъектом регулярного контроля качества.

### **12. Контроль компонентов крови – гарантия качества**

Получение компонентов крови должно следовать принципам Надлежащей Производственной практики (GMP), включая внедрение статистического контроля процесса.

Процедуры контроля качества компонентов крови выполняются в соответствии с письменными СОП.

Методы лабораторной оценки качества компонентов крови должны быть валидированы.

Результаты контроля должны периодически оцениваться для исправления дефектных процедур или оснащения.

### **13. Хранение компонентов крови**

Условия хранения компонентов крови должны позволять сохранить оптимальное качество компонентов крови в течение всего периода хранения.

Условия хранения компонентов крови должны контролироваться.

Компоненты крови хранятся при температуре от +20 °С до +24 °С, от +2 °С до +6 °С и при различных температурах ниже 0 °С. Вне зависимости от типа оборудования для хранения крови должны соблюдаться

следующие общие условия:

1) Холодильники и морозильники должны иметь свободную емкость. Это свободное пространство должно быть доступно для оценки.

2) Распределение температуры внутри устройства для хранения компонентов крови должно быть равномерным.

3) Оборудование должно быть оснащено устройствами для записи температуры и сигнала тревоги.

4) Оборудование должно быть доступно для легкой очистки и устойчиво к сильным детергентам.

### **13.1. Хранение при +2 °С до +6 °С**

В холодильниках для хранения компонентов крови должны храниться только цельная кровь, компоненты крови и образцы для исследования. Лабораторные реагенты и наборы должны храниться в отдельных холодильниках.

Отдельные зоны хранения должны быть выделены для:

- доз для выдачи;
- доз, отобранных для отдельных пациентов, включая аутологичные донации;
- доз, содержащихся в карантине до завершения обследования;
- доз с истекшим сроком хранения и удаленных доз.

Емкость для каждого из этих типов компонентов должна быть ясно маркирована. Датчик контроля температуры должен быть помещен в гемоконтейнер, заполненный 250 мл 10 % раствором глицерина (возможен объем контейнера, равный объему хранящихся компонентов). Этот гемоконтейнер размещается в верхней части холодильника. В больших холодильных комнатах должно использоваться два таких датчика.

### **13.2. Хранение замороженной плазмы и ее компонентов**

Эутектическая точка для плазмы - 23 °С. Во избежание флюктуации температур морозильник для хранения плазмы устанавливается на температуру - 30 °С или ниже.

В этих морозильниках не должны содержаться продукты, не предназначенные для лечебного применения. Во избежание ошибок для каждого типа продуктов выделяется отдельное, четко маркированное пространство.

Морозильники с автоматическим размораживанием можно использовать только при гарантии поддержания низкой температуры в течение размораживания.

Свежезамороженную плазму, криопреципитат и криосупернатантную плазму хранят:

- 36 месяцев при температуре - 25 °С и ниже;
- 3 месяца при температуре от - 18 °С до - 25 °С.

Указанные режимы базируются на практике эксплуатации морозильников (например, изменения температуры при открывании двери) и обеспечении температуры на поверхности контейнера с плазмой ниже

эутектической точки.

Плазму, предназначенную для фракционирования, хранят в соответствии с требованиями фармакопеи.

### **13.3. Хранение при +20 °С до +24 °С**

Тромбоциты хранятся при температуре от +20 °С до +24 °С. Рекомендуется использовать закрытое устройство, поддерживающее такую температуру. При недоступности такого устройства в окружающей среде надлежит поддерживать постоянную требуемую температуру.

Тромбоциты следует хранить на помешивателях, которые должны:

- обеспечивать как удовлетворительное помешивание контейнера, так и газообмен через стенку контейнера;
- избегать перегибов контейнеров;
- иметь заданную скорость, не допускающую пенообразования.

Закрытое устройство должно быть оснащено контролем температуры и сигналом тревоги. В отсутствие закрытого устройства в месте хранения устанавливают термометр, который контролируют несколько раз в день. Скорость помешивания надлежит регулярно проверять в соответствии с рекомендациями производителя, а также организовать мониторинг повреждений при помешивании.

## **14. Выпуск и транспортировка**

Компоненты крови должны транспортироваться в системе, которая валидирована для поддержания рекомендованной температуры хранения с учетом максимального времени транспортировки и крайних параметров температуры транспортного средства. Контейнеры для транспортировки должны быть надежно изолированы, доступны для очистки и просты в обращении. Если для транспортировки используется автомобиль-рефрижератор, то к нему применяются принципы контроля работы морозильников. При использовании автомобильного и железнодорожного транспорта с охлаждающими элементами, последние не должны непосредственно соприкасаться с гемоконтейнерами.

Эритроциты должны храниться при температуре от +2 °С до +6 °С. Валидированная система транспортировки должна гарантировать, что в последние 24 часа транспортировки температура не превышала +10 °С. Тромбоциты должны храниться при температуре от +20 °С до +24 °С, а замороженная плазма – в замороженном состоянии, при рекомендованной температуре хранения.

Рекомендуется использовать индикатор температуры для мониторинга температуры при транспортировке. При получении, если компонент не предназначен для немедленного переливания, его надлежит поместить в рекомендованные условия хранения.

Температура при получении может быть отслежена следующим образом:

Взять из транспортного контейнера два гемоконтейнера, поместить

между ними термометр и скрепить гемоконтейнеры резиновыми полосками. Быстро вернуть их в транспортный контейнер и закрыть крышку. Оценить температуру спустя 5 минут. Температура контейнеров с эритроцитами не должна быть менее +1 °С и более +10 °С. Также для контроля может использоваться электронный термометр, позволяющий немедленно измерить температуру поверхности гемоконтейнера.

Возвращенные компоненты крови не выдаются для переливания повторно, если гемоконтейнер поврежден или вскрыт, продукт содержался при несоответствующей температуре или есть признаки протекания, аномальный цвет или признаки гемолиза. Точная идентификация, время выдачи и сведения о транспортировке должны быть полностью документированы.

Таблица 2

Пять различных методов первичного разделения цельной крови и примерные составляющие (для стандартной дозы крови  $450 \pm 45$  мл с 60 – 70 мл гемоконсерванта)

Метод	I	II	III	IV	V
Начальная фильтрация	нет	нет	нет	нет	есть
Скорость центрифугирования	низкая	низкая	высокая	высокая	высокая
Разделение на	плазма + ЛТС + эритроциты	плазма + эритроциты	плазма + ЛТС + эритроциты	плазма + эритроциты	плазма + эритроциты, обедненные лейкоцитами
Надосадочные фракции:					
- плазма, мл	200 - 280	200 - 280	270 - 320	270 - 320	240 - 290
- тромбоциты, %	70 - 80	70 - 80	10 - 20	10 - 20	<1
- лейкоциты, %	5 - 10	5 - 10	2 - 5	2 - 5	< 0,01
Эритроциты					
- гематокрит	0,75 – 0,80	0,65 – 0,75	0,85 – 0,90	0,80 – 0,90	0,80 – 0,90
- тромбоциты, %	5 - 15	20 - 30	10 - 20	80 - 90	<1
- лейкоциты, %	25 - 45	90 - 95	25 - 45	95 - 98	< 0,01
ЛТС («buffy coat»)					
- гематокрит	0,50 - 0,70		0,40 - 0,60		
- эритроциты, %	10 – 15		10 – 15		
- тромбоциты, %	10 - 25		80 - 90		
- лейкоциты, %	60 - 70		50 - 70		

