ФМБА РОССИИ
Федеральное медико-биологическое агентство

Медико-биологический университет
инноваций и непрерывного образования
ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Адрес: г. Москва, ул. Живописная, д. 46, стр. 8
Тел.: 8 (499) 190-96-92
Сайт: www.mbufmbc.ru

Высочин И.В., Астрелина Т.А.,
Саркисов А.И., Саркисов И.Ю.

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ

Учебное пособие

Москва, 2024

Федеральное медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр
имени А.И.Бурназяна»
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИННОВАЦИЙ И НЕПРЕРЫВНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

**Высочин И.В., Астрелина Т.А., Саркисов А.И.,
Саркисов И.Ю.**

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

**Москва
2024**

УДК 612.111;616.155
ББК 54.11
К82

Высочин И.В., Астрелина Т.А., Саркисов А.И., Саркисов И.Ю. Криоконсервирование эритроцитов. Учебное пособие / Под ред. Высочина И.В. М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2024. 62 с.

Авторы:
Высочин И.В. – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры регенеративной медицины, трансфузиологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии МБУ ИНО ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России.
Астрелина Т.А. – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии МБУ ИНО ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, руководитель Центра биомедицинских и аддитивных технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России.
Саркисов А.И. – кандидат технических наук, заместитель генерального директора научно-производственного предприятия «Биотех-М».
Саркисов И.Ю. – кандидат биологических наук, генеральный директор научно-производственного предприятия «Биотех-М».

Рецензенты:
Ганапиев Абдулбасыр Абдурахманович – доктор медицинских наук, заведующий отделением трансфузиологии ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, профессор кафедры хирургии и инновационных методов института дополнительного профессионального образования «Экстремальная медицина».
Галстян Геннадий Мартынович – доктор медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, врач анестезиолог-реаниматолог.

Учебное пособие посвящено современным представлениям криоконсервирования компонентов крови – эритроцитов. В настоящем пособии изложены принципы криоконсервации эритроцитов.
Пособие предназначено для специалистов трансфузиологов, гематологов, врачей клинической лабораторной диагностики, а также ординаторов и аспирантов по этим специальностям. Составлено в соответствии с примерной программой по гематологии, трансфузиологии и педиатрии для постдипломной подготовки. Пособие может использоваться для проведения занятий для облегчения процесса обучения.
Рекомендовано к изданию Учёным советом МБУ ИНО ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России, протокол № 3 от 28.09.2023 г.

ISBN 978-5-93064-265-0

© ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Актуальность 4
Современные технологии криоконсервирования эритроцитов 5
Производство и клиническое применение криоконсервированных эритроцитов в Российской Федерации.....10
Карантинизация криоконсервированных эритроцитов для обеспечения инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии 16
Организация группы долгосрочного хранения клеток крови (криобанк) в структуре СПК и ОПК 18
Технологии криоконсервирования эритроцитов 23
Аппаратная технология криоконсервирования эритроцитов на haemonetics ACP 215 25
Стандартная операционная процедура 25
«Порядок криоконсервирования эритроцитов» 25
Полуавтоматическая технология «Криоэритех®» криоконсервирования эритроцитов с использованием устройства «Криоэрисет®» 49
Перспективы развития технологий криоконсервирования эритроцитоов 57
Список источников 60

АКТУАЛЬНОСТЬ

Эритроцитные компоненты (ЭК) востребованы для лечения больных с анемией, развивающейся на фоне массивной кровопотери при политравме, а также после химио- и лучевой терапии. В 2012 г., а в 2019 г. РФ заготовлено около 2 млн и 2,2 млн доз ЭК соответственно. Дефицит составил порядка 1,4 млн доз [1, 2]. В РФ наблюдается динамика заготовки криоконсервированных эритроцитов с 43139 доз в 2002 г. до 39289 доз в 2014 г. и до 40315 доз в 2019 г. [2, 3].

Заготовка ЭК требует тщательного подбора по антигенам эритроцитов, что не всегда доступно. Несмотря на тщательность обследования донора, сохраняется риск передачи опасных инфекций с компонентом крови от донора реципиенту. Исключение этого риска достигается проведением карантинизации, внедрённой предусматривает повторный анализ крови донора через 120 суток после заготовки крови для выявления маркеров инфекции (HIV, HBV, HCV), которые из-за «серонегативного окна» не могли быть выявлены ранее [4]. Эта технология может быть реализована при условии замораживания и длительного хранения компонента. В настоящее время только СЗП проходит карантинизацию, так как замораживается. Из-за короткого хранения, до 42–49 суток, ЭК не могут быть карантинизированы, а значит, заведомо несут риск передачи инфекции.

Технология криоконсервирования позволяет:

• создать банки аутологичных ЭК длительного хранения;

• продлить срок хранения ЭК до 10–30 лет [5];

• транспортировать замороженные ЭК на большие расстояния;

• проводить дополнительное обследование на наличие возбудителей инфекционных заболеваний;

• карантинизировать ЭК по аналогии с СЗП для обеспечения инфекционной безопасности трансфузионной терапии;

• создать стратегический резерв ЭК с различной антигенной принадлежностью по системе АВО и Резус-фактору для проведения индивидуального подбора ЭК и обеспечения иммунологической безопасности трансфузионной терапии;

• формировать запас ЭК редких групп крови;

• заготавливать и длительно хранить аутологичные ЭК больных, включённых в лист ожидания органной трансплантации;

• хранить замороженные ЭК для производства реагентов для иммуногематологических исследований;

• обеспечить ЭК длительного хранения военно-медицинские учреждения и учреждения МЧС России на случай чрезвычайных ситуаций и массовых поступлений пострадавших при выполнении миротворческих или военных операций.

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Криогенные технологии прочно вошли в современную практическую медицину. Криоконсервирование клеток крови активно развивается с 50–60-х годов прошлого века и нашло клиническое применение во всем мире. Основой криоконсервирования клеток крови является криозащитное средство (криопротектор, криофилактик) – химическое соединение, способствующее сохранению живых клеток [6]. Все криопротекторы делят на эндоцеллюлярные – проникающие в клетку, связывающие воду внутри клетки [глицерин, диметилсульфоксид, диметилацетамид], и экстрацеллюлярные – непроникающие, связывающие воду вне клетки (поливинилпирролидон, полиэтиленоксид, гидроксиэтилкрахмал). Классическим криофилактиком является глицерин. Исследования криопротективных свойств глицерина при замораживании эритроцитов описаны в журнале Lancet доктором Smith в 1950 г. [7]. Первая успешная трансфузия размороженных эритроцитов проведена Mollison и Sloviter в Hammersmith Hospital в Лондоне в 1951 г. больному с хронической лейкемией [8, 9]. Отечественная технология долгосрочного хранения ЭК в замороженном состоянии разработана в 1967 г. доктором Ф.А.Бурдыгой (рис. 1) под руководством профессора Ф.Р.Виноград-Финкель (рис. 2) в лаборатории консервирования крови Центрального Ордена Ленина Института гематологии и переливания крови Минздрава СССР (ныне ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России) [10].

Первые технологии криоконсервирования эритроцитов предусматривали использование низких концентраций глицерина (14–18%) и быстрое замораживание [11, 12].

Huggins в 1963 г. и Ф.А.Бурдыга в 1967 г. использовали криопротектор на основе диметилсульфоксида для замораживания эритроцитов [13, 14]. Доктор Sputtek (рис. 3) через 30 лет разработал способ криоконсервирования эритроцитов с использованием гидроксиэтилкрахмала [15]. Тем не менее глицерин до сих пор остается основным криопротектором для криоконсервирования

Рис. 1. Федор Андреевич Бурдыга – советский врач, учѐный, кандидат медицинских наук, разработчик технологии криоконсервирования эритроцитов в СССР

Рис. 2. Фрида Робертовна Виноград-Финкель – руководитель лаборатории консервирования крови, доктор медицинских наук, профессор, руководитель программы по разработке технологий криоконсервирования клеток крови в СССР

эритроцитов. Он позволяет дегидратировать клетки за счет активного проникновения внутрь них. Замещение воды криофилактиком исключает осмос и концентрирование солей по обе стороны мембраны клетки при замораживании. При последующем замораживании клеток важна скорость охлаждения. Чем медленнее кинетика замораживания (оптимальная 1 °С/мин), тем меньше свободной воды остаётся в клеточной суспензии. Медленное замораживание требует высоких концентраций глицерина в клеточной суспензии. В 1970-х годах Meryman (рис. 4) в США и Ф.Р.Виноград-Финкель в СССР независимо друг от друга модифицировали технологию долгосрочного хранения эритроцитов с высокими концентрациями глицерина, которая ранее была предложена и описана Tullis [16–18].

Данная технология предусматривала:

• высокую концентрацию глицерина в суспензии эритроцитов перед замораживанием от 40 до 50%;

• центрифугирование и удаление избытка глицерина перед замораживанием эритроцитов;

Рис. 3. Андреас Шпутек – доктор медицины, специалист трансфузионной медицины, разработчик технологии криоконсервирования клеток крови с использованием гидроксиэтилкрахмала

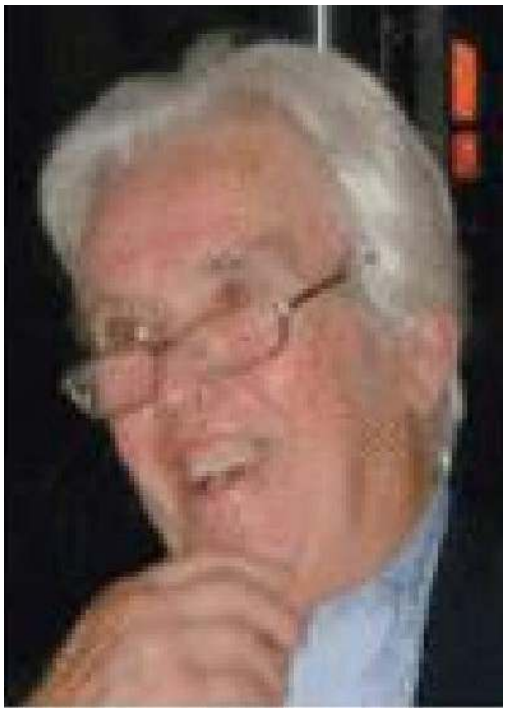


Рис. 4. Харольд Т. Мэриман – руководитель лаборатории исследования крови ВМФ США, разработчик технологии криоконсервирования эритроцитов

• медленное замораживание эритроцитов с глицерином со скоростью 1 °С/ мин до температуры минус 80–85 °С;

• хранение замороженных эритроцитов при температуре минус 80–85 °С.

Важным шагом в направлении автоматизации процесса криоконсервирования эритроцитов явилось использование аппаратов, первоначально созданных для разделения крови на компоненты. Автоматизированная технология криоконсервирования эритроцитов разработана на основе фундаментальных исследований и технической проработки, начатой еще в 50-х годах XX в. В 1950 г. в лаборатории Гарвардской медицинской школы Edwin J. Cohn разработал и изготовил проточную центрифужную камеру для разделения крови на компоненты. Совместная работа Dr. Cohn (Гарвардская медицинская школа) и Arthur D.Little, Inc по созданию аппарата, позволяющего производить глицеролизацию эритроцитов перед замораживанием, привела к созданию конструкции, получившей название колокол Лэйсэма (Latham bowl) (рис. 5).

В дальнейшем права на использование идеи сепарации компонентов крови в колоколе получила компания Abbott Laboratories.

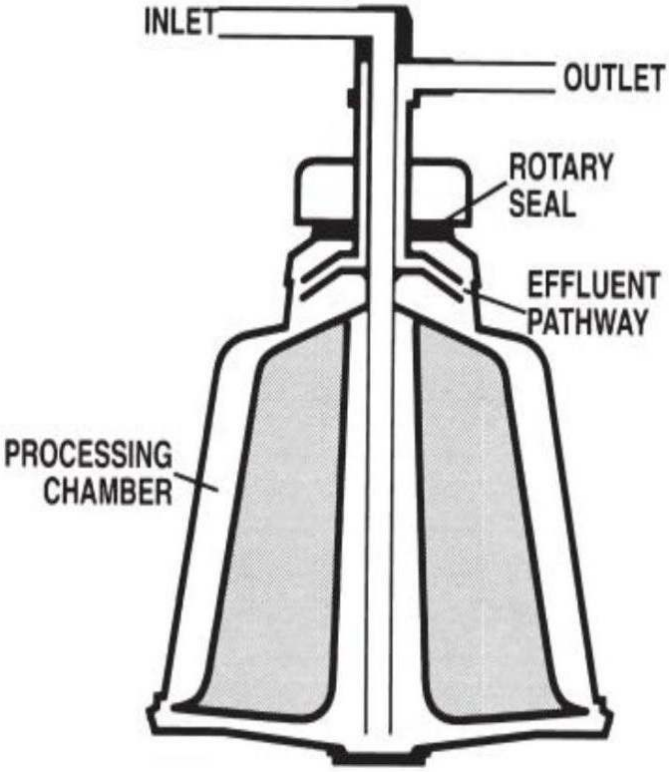


Рис. 5. Колокол Лэйсэма (Latham bowl)

Три года спустя компания Breck, McNeish, and Nagel при участии 35 инвесторов создала компанию Haemonetics Corporation и приобрела права на использование колокола у компании Abbott Laboratories. Эпоха автоматизированной технологии началась в 1970 г., когда Министерство обороны США (МО США) приняло первую программу замораживания крови с использованием устройства отмывания клеток 115, разработанной корпорацией Haemonetics (рис. 6).

Рис. 6. Первые устройства отмывания клеток 115, разработанные компанией Haemonetics для аппаратного криоконсервирования эритроцитов

Ввиду того, что устройство 115 было открытым и не позволяло хранить деглицеролизированные эритроциты более 24 ч, МО США в конце 90-х годов решило модернизировать прибор. Компания Haemonetics под контролем Министерства обороны США разработала новую версию системы обработки клеток ACP 215 (рис. 7).

После испытаний Haemonetics ACP 215 и одобрения FDA в 2005 г. МО США приняло новую Стратегическую программу замороженной крови [19]. Начиная с 2001 г. по настоящее время аппаратная технология криоконсервирования эритроцитов на Haemonetics ACP 215 является приоритетной как в гражданских, так и в военных подразделениях Службы крови большинства стран мира. В период с 2002 по 2014 гг. в лаборатории исследования крови МВФ США, возглавляемой R. Valeri (рис. 8), и Военном банке крови Нидерландов велась регулярная заготовка и обеспечение гемокомпонентами полевых военных госпиталей на протяжении 16 боевых операций США и стран НАТО в горячих точках (рис. 9, 10) [20–22].

В СССР также велась активная работа по разработке оборудования для автоматизации процесса криоконсервирования эритроцитов. В результате совместной работы отдела консервирования крови Центрального НИИ гематологии и переливания крови и Специализированного конструкторского бюро биофизической аппаратуры в 1982 г. был создан аппарат РК-05, предназначенный для отмывания размороженной ЭМ от криопротектора (рис. 11) [23]. Впоследствии этот прибор серийно не выпускали, и в новейшей истории РФ подобные работы не проводились.

Рис. 7. Новые аппараты для криоконсервирования эритроцитов Haemonetics ACP 215

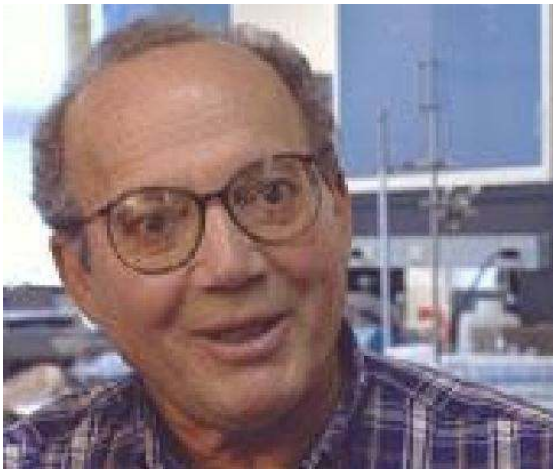


Рис. 8. Robert Valeri – директор лаборатории исследования крови ВМФ США

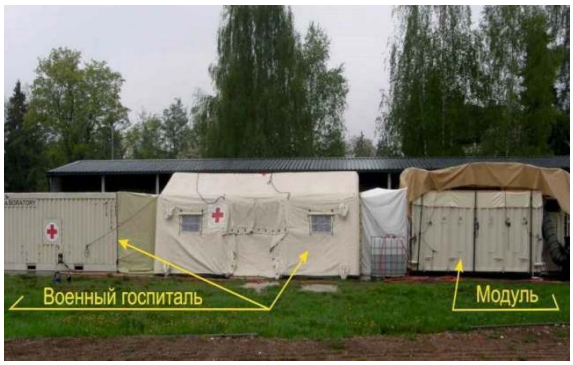


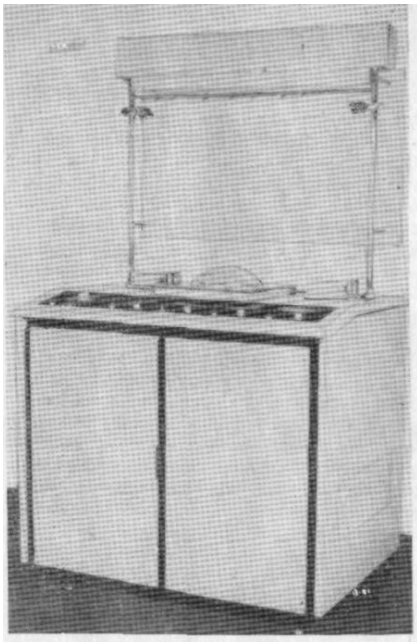
Рис. 9. Полевой госпиталь

Рис. 10. Технологии криоконсервирования применимы как на суше, так и на море

В настоящее время в медицинских учреждениях Службы крови РФ также внедрены аппаратные технологии криоконсервирования клеток крови в соответствии с мировыми стандартами.

ПРОИЗВОДСТВО И КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В соответствии с Постановлением Правительства от 22.06.2019 г. №797 трансфузии компонентов крови должны быть не только эффективными, но и безопасными. Для эритроцитных компонентов нет рутинных методов инактивации патогенов. В связи с этим единственным надёжным способом обеспечения безопасности является карантинизация. Для ее реализации следует замораживать



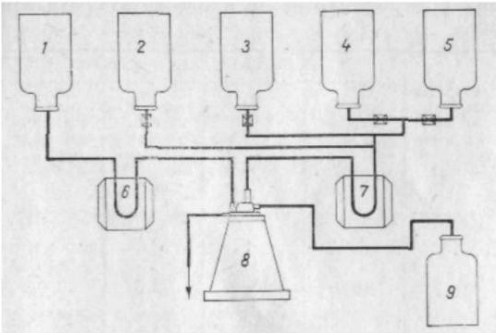


Рис. 11. Отечественный аппарат РК-05 и принципиальная схема отмывания размороженных эритроцитов от криопротектора

и длительно хранить эритроциты на время карантина. В связи с этим во многих центрах крови РФ внедрён и активно используется технология криоконсервации эритроцитов.

В Российской Федерации криоконсервирование эритроцитов активно внедрено в производственную практику как региональных центров крови, так и отделений переливания крови. Опыт производства КЭ описан на примере: ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского ДЗМ», Москва; ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии имени акад. Н.Н.Бурденко» Минздрава России, Москва; ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови»; ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови» (Уфа); ГБУЗ «Коми республиканский центр крови»; БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница»; ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови»; КУ ХМАО-Югры «Станция переливания крови»; Станция переливания крови ФМБА России, Екатеринбург; ГКУЗ «Кузбасский центр крови», Кемерово; ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови».

Например, начиная с 2008 г. в Криобанке отделения производственной и клинической трансфузиологии, гравитационной хирургии крови ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ внедрена современная аппаратная технология и ведётся производство криоконсервированных эритроцитов (рис. 12, 13).

За период с 2008 по 2020 гг. заморожено более 3000 лечебных доз, разморожено и деглицеролизировано более 1000 доз (рис. 14).

В 2015 г. Криобанк вышел на полную производственную мощность, что позволило в течение года постоянно поддерживать запас криоконсервированных эритроцитов на уровне свыше 1000 лечебных доз. За счёт проведения постоянной карантинизации

Рис. 12. Криозал с криохранилищами и морозильной камерой Криобанка отделения трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ

Рис. 13.. Производственный участок Криобанка отделения трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ

замороженных эритроцитов удалось выбраковать более 30 доз замороженных эритроцитов, полученных от кадровых доноров, оказавшихся носителями HCV, HBV, вирус иммунодефицита человека (Human immunodeficiency virus, HIV).

В отделении клинической и производственной трансфузиологии ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России за период с 2017 по 2021 гг. заготовлено 1727 доз КЭ. Все исходные ЭК были лейкоредуцированны методом фильтрации. Для клинического использования выданы только карантинизированные размороженные, отмытые эритроциты.

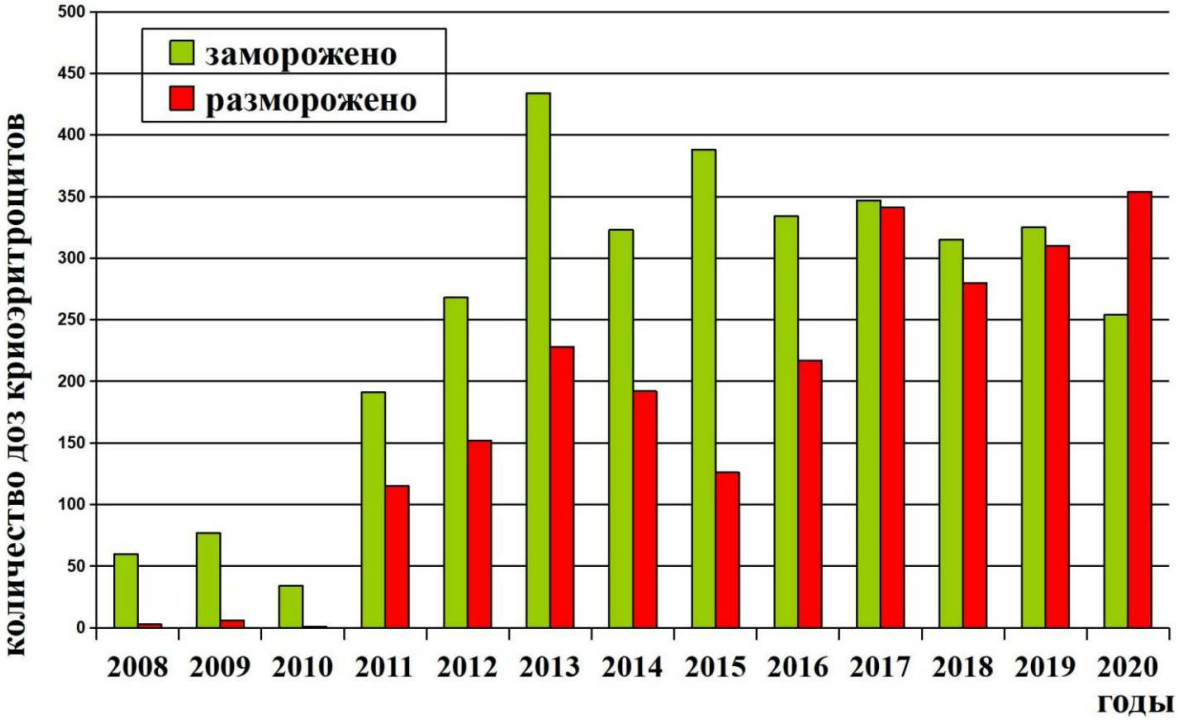


Рис. 14. Производство криоконсервированных эритроцитов в Криобанке отделения трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» с 2008 по 2020 гг.

Показанием для трансфузии была острая постгеморрагическая анемия (концентрация гемоглобина от 30 до 70 г/л). Трансфузии КЭ проведены 120 пациентам. Среди них больные с: глиальной опухолью (25%), сосудистой патологией – аневризмой (8%), нейроонкологией – дети (17%), нейротравмой (8%), нейроонкологией – взрослые (12%), кровотечениями, не связанными с нейрохирургической патологией (21%), криниофарингиальными (9%). В среднем один пациент получил за госпитальный период в ОРиИТ от 2 до 9 доз размороженных, отмытых, карантинизированных эритроцитов. Данная тактика была связана с подбором эритроцитов от одного донора, в некоторых случаях 1 реципиент – 3 донора, для снижения аллоимунизациии и сокращения расходов на индивидуальный подбор крови. Клинический эффект и оценка состояния пациента проведена врачом-трансфузиологом, в том числе и прослеживаемость донор-реципиент, подбор продукта был из Криобанка, резервирование эритроцитов на весь госпитальный период. Как показывает практика, размороженные, отмытые эритроциты рациональнее выдавать пациентам в ОРиИТ и клинические отделения, так как заявка всегда формируется на персональный клинический случай. По заявкам в операционную компонент не всегда может быть выдан, чаще всего основной причиной является отсутствие клинической потребности, время, необходимое на деглицеролизацию, проведение аппаратной реинфузии крови, заказ компонента хирургом «на всякий случай». Все дозы КЭ были проверены до замораживания, что позволило оценить качество после деглицеролизации. В среднем, технологические потери после проведения деглицеролизации составили до 10%.

В ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови» Криобанк был основан в феврале 2015 г. с целью создания запаса ЭК с редким иммунологическим профилем. Но в процессе работы с 2018 г. начали формировать запасы ЭК всех фенотипов. Для производства КЭ использована аппаратная технология. С 2015 по 2023 гг. заморожено 1129 доз КЭ. Разморожено и отмыто 699 дозы ЭК. Из них 561 доз – карантинизированных ЭК (80%), а 138 доз – некарантизированных (20%).

Интенсивное производство КЭ налажено в ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови» (Уфа). За период с 1997 по 2022 гг. заготовлена 21721 доза КЭ. С 2018 г. внедрена аппаратная технология криоконсервирования эритроцитов. Так за период с 2018 по 2022 гг. заморожено эритроцитов – 4144 единицы, разморожено

3159 доз КЭ. При этом наибольшая востребованность размороженных эритроцитов отмечена не в хирургической, а онкогематологической и педиатрической практике. Половина всех КЭ перелита гематологическим больным (49%). Для неонтологических больных и в акушерстве использовано 26% КЭ. В хирургической практике – 15%.

История Криобанка в Коми началась с 1996 г., когда была создана группа криоконсервирования. На первом этапе использовали методики с низкой концентрацией глицерола и ручным методом отмывания. В 2011 г. внедрена аппаратная технология. Основная стратегия Криобанка – это создание депозита КЭ любого иммуногематологического профиля для обеспечения ЭК в экстренных ситуациях. Для устойчивой работы Центра крови сформирован запас в количестве 300–400 доз ЭК. Все размороженные отмытые эритроциты выдаются в клинические отделения только по персональным заявкам при дефиците ЭК или для реализации принципа: один донор – один реципиент. Показанием для трансфузии была острая постгеморрагическая *тяжёлая* анемия (концентрация гемоглобина – от 40 до 70 г/л). За период с 2019 по 2022 гг. разморожено, отмыто и перелито 292 дозы КЭ. Наиболее востребованные трансфузии проведены больным: хирургическим (77 доз), реанимационным (67 доз), онкологическим (44 дозы), гематологическим (41 доза). Менее востребованы трансфузии в кардиологии (18 доз), акушерстве (19 доз), детской хирургии (10 доз), детской онкологии и гематологии (16 доз).

Криоконсервирование эритроцитов аппаратным методом внедрено и активно развивается в ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови» с 2016 по 2022 гг. За истекший период заморожено 358 доз ЭК. Разморожено, отмыто и перелито больным 205 доз КЭ.

ГКУЗ «Кузбасский центр крови» продолжает заготовку криоконсервированных эритроцитов с использованием технологии низкой концентрации глицерола и хранение замороженных эритроцитов при температуре минус 400 °С. За период с 2010 по 2021 гг. заморожено 14703 доз КЭ. Разморожено, отмыто и перелито больным 12425 доз, из них карантинизированных ЭК – всего 2366 доз (19%).

В КУ ХМАО-Югры «Станция переливания крови» (Сургут) внедрена аппаратная технология криоконсервирования эритроцитов в 2015 г. За период с 2015 по 2023 гг. заморожено 353 дозы ЭК, разморожено, отмыто и перелито больным 226 доз КЭ. Все дозы размороженных эритроцитов прошли входной и выходной контроль.

Концентрация свободного гемоглобина 0,1–0,2 г/л. Осмолярность 340–360 м/Осмоль. Показанием для трансфузии эритроцитной взвеси, размороженной и отмытой, у всех пациентов была анемия средней и *тяжёлой* степени. Один пациент получал одну дозу эритроцитной взвеси размороженной отмытой, в остальных случаях использованы нативные дозы. Профиль пациентов – гематологические и кардиохирургические, в равных долях. Посттрансфузионных реакций не выявлено.

В БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница» (Ханты-Мансийск) в 2017 г. внедрена аппаратная технология криоконсервирования эритроцитов. За период с 2017 по 2023 гг. заморожено 235 доз ЭК, разморожено, отмыто и перелито больным 78 доз КЭ. Все дозы размороженных эритроцитов прошли входной и выходной контроль.

В ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови» в 2016 г. внедрена аппаратная технология криоконсервации эритроцитов. За период с 2016 по 2022 гг. заморожено 803 дозы КЭ. Разморожено и отмыто 799 доз КЭ. Из них карантинизированных – 680 доз (85%). Выдача КЭ проводилась при дефиците ЭК в экспедиции редких групп и для заменного переливания новорожденным при ГБН и отсутствии эритроцитов до 5 дней от даты заготовки. У всех групп пациентов, которым проводилась трансфузия размороженных, отмытых эритроцитов, показанием была острая постгеморрагическая анемия. Концентрация гемоглобина от 30 до 70 г/л., у новорожденных 80–100г/л. За период с 2019 по 2022 гг. размороженные и отмытые эритроциты перелиты 577 больным. Наибольшая потребность КЭ была у кардиохирургических больных (295 человека) и онкогематологических больных (154 человек), в детской онкогематологии и при сочетанных травмах переливали значительно меньше (50 и 28 человек соответственно).

На Станции переливания крови ФМБА России (Екатеринбург) в 2016 г. также внедрена технология криоконсервирования эритроцитов аппаратным методом. За период 2016 по 2022 гг. заморожено 33 дозы ЭК, разморожено и отмыто – 3 дозы.

Таким образом, длительное хранение и карантинизация замороженных эритроцитов позволяют обеспечить стратегический запас инфекционно и иммунологически безопасных ЭК. Отличия в профиле больных, которые получили трансфузии КЭ, отражают особенности развития и доминирования высоких медицинских технологий в регионах РФ.

КАРАНТИНИЗАЦИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕМОКОМПОНЕНТНОЙ ТЕРАПИИ

ЭК ограничены коротким сроком хранения, до 42–49 суток, что не позволяет проводить повторное обследование донора по истечении серонегативного окна опасных гемотрансмиссивных инфекций. КК и длительное хранение ЭК, до 10 лет, обеспечивает карантинизацию КЭ и выбраковку гемокомпонентов по гепатиту В и С, ВИЧ и сифилису. Производство КЭ является предпочтительным в связи с возможностью карантинизации и обеспечения инфекционной безопасности трансфузии ЭК.

Карантинизацию КЭ проводят по аналогии с плазмой в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 22.06.2019 г. № 797 [29]. Карантинизация плазмы осуществляется при температуре ниже минус 25 °С в течение не менее 120 суток со дня заготовки. В случае выявления в образце крови донора маркеров гемотрансмиссивных инфекций, а также поступления в субъект обращения донорской крови и (или) ее компонентов, заготовленные от этого донора, идентифицируют и те, которые находятся на хранении в субъекте обращения донорской крови и (или) ее компонентов, незамедлительно изымаются и признаются непригодными для клинического использования [29].

Так, например, в ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В.Склифосовского ДЗМ» за период с 2012 по 2019 гг. было заготовлено и карантинизировано более 1000 доз КЭ в соответствии с предшествующими нормативными документами [34, 35, 36]. До 2019 г. карантинизация СЗП в РФ проводилась в течение 180 суток. Карантин с КЭ снимали после повторного обследования доноров на наличие вирусов: ВИЧ, гепатит В и С – через 180 суток после заготовки крови. Большая часть КЭ (70%), перелитых больным, прошла карантинизацию [7]. Остальная часть (30%) была условно карантинизирована – прошла карантинизацию уже после размораживания и выдачи компонента больным. Условная карантинизация обусловлена недостаточным количеством КЭ в Криобанке (800 доз КЭ) для индивидуального подбора «донор-реципиент» на момент размораживания компонентов. В результате проведённой карантинизации было изъято из хранения и утилизировано 39 доз (6%) КЭ. Структура брака КЭ следующая: превышение АЛТ в 2 раза

и более (6 доз), положительный тест на HbsAg (9 доз), положительный тест на HCV (7 доз), положительный тест на ВИЧ (17 доз).

В Отделении клинической и производственной трансфузиологии ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н.Бурденко» Минздрава России за период с 2017 по 2021 гг. заготовлено 1727 доз КЭ. По состоянию на 2021 г. карантинизировано 40% доз.

В Криобанке ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови» с 2015 по 2023 гг. карантинизировано 80% ЭК. В результате проведённой карантинизации было изъято из хранения и утилизировано 14 доз (1,3%).

Структура брака КЭ следующая: превышение АЛТ в 2 раза и более (1 доза), положительный тест на HbsAg (6 доз), положительный тест на HCV (3 дозы), положительный тест на ВИЧ (3 дозы) и сифилис (1 доза).

В ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови» с 2016 по 2022 гг. из 358 доз КЭ выбракована 1 доза по положительному тесту на HCV.

В ГКУЗ «Кузбасский центр крови» удалось перелить только 19% размороженных и отмытых ЭК. В результате проведённой карантинизации было изъято из хранения и утилизировано 10 доз КЭ. Структура брака КЭ следующая: положительный тест на HbsAg (2 дозы), положительный тест на HCV (3 дозы), положительный тест на ВИЧ (2 дозы) и сифилис (3 дозы).

В ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови» (Уфа) за весь период работы Криобанка изъято по причине инфекционного заболевания доноров 814 доз (3,7%).

В КУ ХМАО-Югры «Станция переливания крови» (Сургут) 70% КЭ прошли карантинизацию. Списаний по инфекционному браку не было.

В БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница» (Ханты-Мансийск) 100% КЭ прошли карантинизацию. Списаний по инфекционному браку не было.

В ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови» карантинизировано на долгосрочном хранении 61,87%.

На Станции переливания крови ФМБА России (Екатеринбург) карантинизировано 67% КЭ. Списана 1 доза по HBV. Трансфузия 3-х доз размороженных и отмытых эритроцитов проведена двум нейрохирургическим больным с опухолью мозга.

Замораживание и длительное хранение КЭ позволило проводить их карантинизацию в связи с длительным сроком хранения – до 2-х лет.

Карантинизация КЭ обеспечила безопасность трансфузионной терапии за счет выбраковки и утилизации образцов по гемотрансмиссивным инфекциям: HCV, HBV и HIV – а также по RW и АЛТ.

ОРГАНИЗАЦИЯ ГРУППЫ ДОЛГОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ КЛЕТОК КРОВИ (КРИОБАНК) В СТРУКТУРЕ СПК И ОПК

В соответствии с приказом МЗ РФ от 28.10.2020 г. №1167 «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения» в структуру центра крови, станции переливания крови и отделения переливания крови рекомендовано включать группу долгосрочного хранения клеток крови (Криобанк) либо в состав экспедиции, либо в отдел заготовки донорской крови и ее компонентов.

Нормативная документация

Организация и работа Криобанка проводится в соответствии с требованиями следующей нормативной документации.

1. Федеральный закон от 20.07.2012 №125-ФЗ (ред. от 04.06.2014, с изм. от 14.12.2015) «О донорстве крови и ее компонентов».
2. Федеральный закон от 21.11.2011 №323-ФЗ (ред. от 29.12.2015) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2016 г.).
3. Постановление Правительства Российской Федерации от 22 июня 2019 г. №797«Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации».
4. Приказ МЗ РФ от 28.10.2020 г. №1167 «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения».
5. Инструкция по криоконсервированию клеток крови. Утверждена первым заместителем министра здравоохранения РФ А.Д. Царегородцевым 29.05.1995 г.

6. ГОСТ Р 53420–2009 «Кровь донорская и ее компоненты. Общие требования к обеспечению качества при заготовке, переработке, хранении и использовании донорской крови и ее компонентов».

7. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови, издано Директоратом по качеству лекарственных средств и здравоохранения Совета Европы (ЕДКЛС). 16-е издание.

8. Техническое руководство AABB / Пер. с англ. Милан: Европейская школа трансфузионной медицины, 2000. 1056 с.

Штатные нормативы СПК и ОПК по Криобанку

Требования к штатным нормативам медицинского персонала группы долгосрочного хранения клеток крови (Криобанк) представлены в приказе МЗ РФ №1167 от 28.10.2020 г. «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения».

В штате Криобанка предусмотрены следующие должности:

1) врач-трансфузиолог (1 штат. ед.);
2) медицинская сестра (1 штат. ед.);
3) медицинский регистратор (2,0 штат. ед.);
4) инженер (1 штат. ед.);
5) техник (1 штат. ед.).

Стандарт оснащения Криобанка

Законодательством РФ не определён точный перечень оборудования, необходимого для работы Криобанка. В соответствии приказом МЗ РФ от 28.10.2020 г. №1167 «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения» рекомендовано оснастить Криобанк, оборудованием для замораживания и хранения клеток крови при сверхнизкой температуре, а также низкотемпературным (–80 °С) медицинским холодильником. Оснащение оборудованием осуществляется в соответствии с обоснованной потребностью организаций здравоохранения, осуществляющих заготовку, переработку, хранение и обеспечение безопасности донорской

крови и ее компонентов, и Программой государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи, утверждённой Постановлением Правительства РФ, в соответствии с ч.4 ст.80 Федерального закона «Об охране здоровья граждан в РФ». В связи с интенсивным развитием технологий и автоматизации процесса криоконсервирования комплектование отделения проводится исходя из доступности и наличия разрешения на медицинское использование оборудования и расходных материалов.

Так, например, для обеспечения оборота криоконсервированных эритроцитов до 500 доз в год используется оборудование (табл. 1).

Учётная документация

Одним из главных элементов организации работы Криобанка является ведение *учётной* документации, позволяющей регистрировать и контролировать движение и хранение гемокомпонентов, условия работы оборудования и соблюдение санитарно-эпидемиологического режима. Основные *учётные* документы (журналы) представлены ниже.

Таблица 1

Перечень оборудования для Криобанка

Перечень оборудования	Кол-во
1. Аппарат для автоматической глицеролизации, деглицеролизации и отмывания эритроцитов крови	2
2. Размораживатель	1
3. Аппарат стерильного соединения трубок	1
4. Запаиватель трубок	1
5. Центрифуга напольная с охлаждением	1
6. Плазмоэкстрактор	2
9. Морозильная камера (ларь) с температурой минус 80–85 °С (250 доз)	1
10. Холодильник для гемокомпонентов при температуре от +2 до +8 °С	1
12. Весы-миксер для крови	1
13. Гематологический анализатор	1
14. Осмометр Osmomat 030	1

* При использовании современных технологий криоконсервирования хранение замороженных эритроцитов и тромбоцитов допустимо осуществлять при температуре минус 80–85 °С в морозильных камерах (лярях), что исключает необходимость монтажа и обслуживания дорогостоящего криогенного оборудования

Журнал учета криоконсервированных эритроцитов

Начат: « » 20__г.
Окончен: « » 20__г.

№ п/п	Дата, время замораживания, бригада (ФИО, подпись)	Исходный компонент						Замораживание	
		Штрих-код (приклеить технологи-ческую марку)	Наимен ование компо-нента	ФИО, ID донора	Дата заготовки	Группа крови, фенотип	Масса, RBC, HGB, HCT	№ контейнера, место хранения	Конечная концентрация раствора глицерина, осмолярность до замораживания
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Замораживание				Размораживание		Выдача компонента			Приме-чание
Режим замораживания	Масса, HCT	Срок годности	Дата основания окончания карантина	Дата, время оттаивания ФИО, подпись сотрудника	Контроль качества	Реципиент (отделение, ФИО, и/б пациента)	Дата выдачи, № накладной (акта), куда выдано, ФИО и подпись выдавшего компонент	ФИО и подпись сотрудника, получившего компонент	
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20

Журнал записи процесса размораживания и согревания компонентов крови

Начат: « » 20__г.
Окончен: « » 20__г.

№ п/ п	Дата	Наименование	№контейнера	Объем	Время работы		Рабочая температура	Подпись
					начало	окончание		
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Журнал учета температурного режима холодильников

Начат: « » 20__г.
Окончен: « » 20__г.

Дата и время	Температура холодильника, °С			Подпись сотрудника
	Холодильник № 1	Холодильник № 2	Холодильник № 3	

Журнал регистрации и контроля работы бактерицидной установки

Начат: « » 20__г.
Окончен: « » 20__г.

Дата	Условия обеззараживания (в присутствии или отсутствии людей)	Помещение	Режим облучения (непрерывный или повторно кратковременный)	Время		Время работы лампы (длительность облучения), мин	Списани нагоревш часов
				вкл.	выкл.		
1	2	3	4	5	6	7	8

Журнал регистрации и контроля работы бактерицидной установки

Начат: « » 20__г.

Окончен: « » 20__г.

Дата	Условия обеззараживания (в присутствии или отсутствии людей)	Помещение	Режим облучения (непрерывный или повторно кратковременный)	Время		Время работы лампы (длительность облучения), мин	Списани нагоревш часов
				вкл.	выкл.		
1	2	3	4	5	6	7	8

ТЕХНОЛОГИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

В настоящее время для длительного хранения эритроцитов применяются аппаратные и «ручные» технологии криоконсервирования эритроцитов с использованием криопротектора на основе глицерина. Последующее замораживание и хранение проводится при температуре от минус 80–85 °С (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика современных технологий криоконсервирования эритроцитов

Технологические аспекты	Концентрация глицерина		HES (A. Sputtek)
	Высокая (R. Valeri, в модификации Высочина ИВ)	Низкая (РФ, Eu)	
Подготовка эритромассы перед криоконсервированием	Не требуется	Требуется	Требуется
Разведение криофилактика перед криоконсервированием	Не требуется	Не требуется	
Строгое соблюдение правил замораживания	Не критично	Критично	Критично
Температура хранения ниже	-80 °С	-150 – -196 °С	-130 °С
Удаление криофилактика перед трансфузией	Требуется	Требуется	Не требуется
Время подготовки эритромассы после размораживания перед трансфузией	60 минут	30 минут	75 минут
Строгое соблюдение правил размораживания	Менее критично	Критично	Критично
Время хранения после размораживания	24 часа	24 часа	Не критично
Кратковременное хранение (несколько суток) при -40 °С	Не критично	Критично	Критично
Аппаратное добавление и удаление криофилактика	Не требуется	Не требуется	Не требуется
Способ прошёл клинические испытания	Да	Да	Ограничен-ные

Аппаратные технологии в производстве размороженных ЭК позволяют проводить весь процессинг в закрытом контуре без вмешательства оператора. Это обеспечивает стерильность готового, отмытого от криопротектора гемокомпонента, и повышает производительность за счёт одновременного обслуживания до восьми приборов одним оператором. «Ручной» метод в производстве размороженных ЭК более трудоёмкий, однако он доступнее. В РФ разрешены следующие современные методы криоконсервирования эритроцитов:

• ***низкая концентрация глицерина 20%*** в клеточной суспензии, быстрое замораживание и хранение при температуре минус 196 °С (раздел 1.2 «Метод быстрого замораживания…», инструкция 1995 г.);

• ***концентрация глицерина 25%*** в клеточной суспензии, медленное замораживание и хранение при температуре минус 30 °С (раздел 2 «Метод медленного замораживания…», инструкция 1995 г.);

• ***Высокая концентрация глицерина 40%*** в клеточной суспензии, медленное замораживание и хранение при температуре минус 80 °С (аппаратная технология). Аппаратная технология на Haemonetics ACP 215 имеет значительные преимущества перед «ручным» методом. Глицеролизация и деглицеролизация проводятся в закрытом контуре, что обеспечивает стерильность гемокомпонентов. Автоматизация исключает влияние оператора (медицинского работника) на процессинг и позволяет одному сотруднику обслуживать до восьми приборов одновременно. Замкнутость контура не требует проведения всего процесса в «чистых помещениях». Все это снижает трудозатраты и себестоимость готового для клинического использования гемокомпонента. Несмотря на потери части эритроцитов после их размораживания, эритроцитный компонент сохраняет свои терапевтические свойства за счёт высокого содержания осмотически устойчивых эритроцитов, не содержит иммуногенных донорских лимфоцитов и тромбоцитов, остатков донорской плазмы, избытка калия и свободного гемоглобина, которые накапливаются во время длительного хранения при температуре +4 °С. Производство криоконсервированных эритроцитов позволяет создать необходимый стратегический запас гемокомпонентов.

АППАРАТНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ НА HAEMONETICS ACP 215 СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА

«ПОРЯДОК КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ»

1. Назначение

Настоящая СОП описывает процесс криоконсервирования эритроцитов с использованием автоматического клеточного процессора ACP-215 в закрытой системе и предназначена для сотрудников Криобанка отделения производственной трансфузиологии, осуществляющих хранение и приготовление компонентов крови. В данной процедуре используется высокая концентрация глицерина (40% вес/объём), позволяющую использовать медленный способ замораживания и хранения при температуре минус 85 °С. Процесс деглицеролизации должен занимать не более двух часов. После окончания деглицеролизации эритроцитную взвесь (ресуспендированную в SAGM) следует хранить при температуре от 2 до 80 °С в течение 24 часов.

2. Персонал

2.1. Исполнители:

2.1.1. Врач-трансфузиолог Криобанка несёт персональную ответственность за чёткое и своевременное выполнение данной СОП по криоконсервированию эритроцитов.

2.1.2. Операционная медицинская сестра несёт персональную ответственность за чёткое и своевременное выполнение СОП.

2.1.3. Старшая медицинская сестра осуществляет контроль и несёт персональную ответственность за выполнение СОП.

2.1.4. Заведующий отделением контролирует и несёт административную ответственность за выполнение СОП.

3. Оборудование и расходные материалы

3.1. Автоматический клеточный процессор Haemonetics® ACP-215.

3.2. Аппарат стерильного соединения трубок Terumo TSCD-II или CompoDock (Fresenius) или аналог.

3.3. Размораживатель Barkey Plasmatherm или аналог.

3.4. Запаиватель трубок Гекон Б или Fresenius HemoCare или аналог.

3.5. Центрифуга напольная с охлаждением Sorvall® RC 3C plus или аналог.

3.6. Плазмоэкстрактор Jouan или аналог.

3.7. Морозильная камера (ларь) Haier на минус 80–85 °С или аналог.

3.8. Глицерол 57% – 500 или 600 мл.

3.9. Магистраль для глицеролизации.

3.10. Магистраль для деглицеролизации.

3.11. Контейнер с раствором NaCl 12%, объёмом от 100 до 250 мл.

3.12. Контейнер с раствором натрия хлорид 0,9% и декстрозы 0,2%, объёмом от 2000 до 2500 мл.

3.13. Консервирующий раствор SAG-M объёмом от 350 до 500 мл.

3.14. Лезвия одноразовые для аппарата Terumo TSCD-II.

3.15. Контейнеры объёмом до 1000 мл.

3.16. Спиртовые тампоны (70%).

3.17. Перчатки латексные.

4. Медицинская документация и отчётность

4.1. Журнал учёта криоэритроцитов.

4.2. Паспорт качества размороженных эритроцитов.

5. Подготовка оборудования к работе

5.1. Автоматический клеточный процессор

5.1.1. Включите аппарат. По окончании тестирования на экране появится меню:

HAEMONETICS ACP215
PLEASE SELECT PROTOCOL WASH = =>GLYCEROLIZATION DEGLYCEROLIZATION

5.1.2. Используя кнопку "MODIFY PROGRAM" выберите протокол глицеролизации и нажмите кнопку – YES‖. На экране появится следующая информация:

GLYCEROLIZATION PROTOCOL
PLEASE LOAD DISPOSABLE SET PUMP TIME GLSOL BLOOD REAL: 0 00:00 0 240 TARGET: 70 10:00 435 675

5.2. Центрифуга напольная с охлаждением Sorvall® RC 3C plus

5.2.1. Переведите кнопку «сеть» в положение ON.

5.2.2. Введите параметры центрифугирования:

• температура от +20 до + 240 °С;

• скорость 2360 об/мин(1619g);
• время 10 мин 00 с;
• ротор код 24;
• переключатели «удержание» и «торможение» должны находиться в верхнем положении.

5.2.3. Убедитесь, что центрифуга пустая.

5.2.4. Установите крышку ротора и закройте центрифугу.

5.2.5. Переведите переключатель «СТАРТ» в нижнее положение и удерживайте его в течение 1 с.

5.2.6. По окончании центрифугирования убедитесь, что температура в камере находится в заданном диапазоне от +20 °С до +24 °С.

5.3. Аппарат стерильного соединения трубок Terumo TSCD-II

5.3.1. Переведите кнопку «сеть» в положение ON. На экране появится сообщение «HOLDER WARM UP» и прибор начнёт калибровку.

5.3.2. По окончании калибровки прибор подаст короткий звуковой сигнал и на экране появляется сообщение:

ALIGN CLAMP
OPEN CLAMP

6. Описание процедуры

6.1. Приготовление концентрата эритроцитов (при наличии глицерола объёмом 600 мл данную процедуру следует исключить)

6.1.1. Наденьте латексные перчатки.

6.1.2. Зарегистрируйте контейнер с криоконсервированными эритроцитами в электронной базе. Внесите данные в журнал. Промаркируйте криоконтейнер этикеткой.

6.1.3. Подсоедините к контейнеру с эритроцитной взвесью криоконтейнер, используя аппарат стерильного соединения трубок Terumo TSCD-II:

6.1.3. Переведите эритроцитную взвесь в криоконтейнер.

6.1.4. На магистраль между контейнерами наложите пластиковый зажим.

6.1.5. Поместите контейнер с заготовленной кровью в рефрижераторную центрифугу.

6.1.6. Центрифугируйте для отделения плазмы и получения концентрата эритроцитов с гематокритом 75+5 V%.

6.1.7. При помощи плазмоэкстрактора переместите всю видимую плазму в пустой контейнер и гомогенизируйте клеточную суспензию.

6.1.8. Заполните трубку эритроцитной массой, запаяйте и разъедините сегмент трубки (около 5 см) с эритроцитами для проведения тестов на RBC, HGB, HCT. Приклейте на сегмент технологическую марку с указанием ФИО или ID донора. Оставьте не менее 10 см трубки, подсоединённой к контейнеру с эритроцитами для стерильного подсоединения к магистрали во время процедуры глицеролизации.

6.2. Глицеролизация

6.2.1. Подогрейте эритроцитную массу по температуры 200 °С.

6.2.2. Нанесите на контейнер для глицерролизации эритроцитов этикетку.

6.2.3. Подсоедините стерильно контейнер и переведите в него эритроциты для последующей глицеролизации.

6.2.4. Взвесьте контейнер с эритроцитной массой и запишите её вес в протокол глицеролизации. Для получения веса нетто эритроцитов, из веса брутто вычтите вес пустого контейнера.

6.2.5. Извлеките магистраль для глицеролизации из упаковки и визуально убедитесь в отсутствии перегибов трубки, наличии всех элементов и целостности упаковки.

6.2.6. Загрузите насосный сегмент магистрали для глицеролизации с двумя голубыми фиксаторами в насос крови АСР-215. Убедитесь, что запаянная часть линии глицеролизации расположена в направлении передней стороны аппарата вблизи детектора воздуха насоса крови.

6.2.7. Загрузите трубку, выходящую из насоса, в детектор воздуха насоса крови. Антибактериальный фильтр будет висеть вертикально на трубке насоса впереди аппарата АСР-215.

6.2.8. Подсоедините 0,2-микронный фильтр к сенсору давления, расположенному слева на передней панели АСР-215. На экране появится сообщение:

ENTER OPERATOR INITIALS

что означает «ВВЕДИТЕ ИНИЦИАЛЫ ОПЕРАТОРА».

6.2.9. Для перебора букв нажимать "YES" до появления требуемой. Введите ваши инициалы при помощи кнопок со стрелками вверх/вниз. Для сохранения инициалов нажмите "SAVE".

6.2.10. После этого на экране появится сообщение:

PRESS YES TO CONTINUE PRESS NO TO REENTER

что означает «НАЖАТЬ ДА ДЛЯ ПРОДОЛЖЕНИЯ», «НАЖАТЬ НЕТ ДЛЯ ПОВТОРНОГО ВВОДА». Нажмите кнопку "YES".

6.2.11. На экране появится следующая информация:

GLYCEROLIZATION PROTOCOL
PRESS MODIFY TO SET PARAMETERS
PRESS START TO BEGIN
PUMP TIME GLYSOL BLOOD REAL: 0 00:00 240 TARGET: 70 10:00 435

что означает «НАЖАТЬ «MODIFY» ДЛЯ ВВОДА ПАРАМЕТРОВ», «НАЖАТЬ «START» ДЛЯ НАЧАЛА ПРОЦЕДУРЫ».

6.2.12. Снимите металлическую защиту с пробки бутылки с глицерином, протрите резиновую пробку дважды спиртовым тампоном (70%), а затем сухой салфеткой и вставьте пластиковую иглу магистрали с капельницей для глицеролизации во флакон или контейнер с глицерином. Убедитесь, что воздушный клапан открыт. Подвесьте бутылку или контейнер с глицерином на инфузионную стойку АСР-215.

6.2.13. Стерильно подсоедините магистраль для глицеролизации к свободной трубке контейнера с эритроцитами.

6.2.14. Установите контейнер с эритроцитами на шейкер, подсоединённый трансферный контейнер положите рядом с шейкером.

6.2.15. После установки магистрали запрограммируйте параметры процедуры: нажмите кнопку «MODIFY». Введите вес нетто концентрата эритроцитов при помощи кнопок со стрелками вверх/вниз. Нажмите кнопку «MODIFY». Введите гематокрит концентрата эритроцитов при помощи кнопок со стрелками вверх/вниз. Два раза нажмите кнопку «START».

6.2.16. Как только будет нажата кнопка «START», шейкер начнёт работать, и насос крови начнёт подачу глицерина. При возникновении сигнала тревоги для ее устранения обратитесь к инструкции пользователя на данный аппарат.

6.2.17. После добавления всего необходимого глицерина, появится сообщение "GLYCEROLIZATION COMPLETE‖ (Глицеролизация завершена).

6.2.18. Отсоедините контейнер с глицеролизированными эритроцитами от магистрали.

6.2.19. Поместите контейнер с глицеролизированными эритроцитами в центрифугу.

6.2.20. Введите параметры центрифугирования:

• температура от +20 °С до +24 °С;

• скорость вращения 2070 об/мин (1248g);

• время 10 мин 00 с;

• код ротора 24;

• переключатели «удержание» и «торможение» оставьте в верхнем положении.

6.2.21. Осторожно извлеките контейнер из центрифуги и установите его в плазмоэкстрактор.

6.2.22. Снимите зажим с трубки между контейнером с глицеролизованными эритроцитами и трансферным контейнером. Переведите видимый надосадочный глицерин из контейнера с эритроцитами в трансферный контейнер. Когда эритроциты появятся в трубке, пережмите и запаяйте трубку.

6.2.23. Удалите контейнер с эритроцитами из плазмоэкстрактора и ручным покачиванием гомогенизируйте глицеролизированные эритроциты.

Концентрат глицеролизованных эритроцитов перед замораживанием должен быть полностью во взвешенном состоянии для предотвращения гемолиза.

6.2.24. Утилизируйте трансферный мешок с надосадочным глицерином.

6.2.25. Оставьте не менее 10 см трубки, подсоединённой к контейнеру с эритроцитами для стерильного подсоединения к магистрали во время процедуры деглицеролизации.

6.2.26. Взвесьте дозу непосредственно перед замораживанием и запишите вес брутто глицеролизованных эритроцитов в протокол глицеролизации.

6.3. Замораживание глицеролизированных эритроцитов

6.3.1.1. Поместите контейнер с глицеролизованными эритроцитами в кассету для замораживания и хранения или в картонную коробку для хранения в морозильном ларе.

6.3.1.2. Поместите кассету или коробку с контейнером горизонтально в электрохолодильник с температурой минус 80 °С для замораживания. Чтобы исключить неполное замораживание, кассеты не должны ставиться друг на друга.

6.3.1.3. После начального 24-часового периода замораживания храните замороженные эритроциты в холодильнике при температуре минус 80 °С или перенесите в жидкий азот.

6.4. Порядок размораживания криоконсервированных эритроцитов

6.4.1. Включите размораживатель BarkeyPlasmatherm в электрическую сеть.

6.4.2. Нагрейте до 37 °С. Это займёт около 10 мин.

6.4.3. Извлеките контейнер с криоконсервированными эритроцитами из морозильного ларя.

6.4.4. Запишите в журнале время размещения контейнера с криоконсервированными эритроцитами в водяной бане для начала отсчёта процесса деглицеролизации.

6.4.5. Извлеките контейнер с криоконсервированными эритроцитами из металлической кассеты.

6.4.6. Заверните контейнер с криоконсервированными эритроцитами в защитный пластиковый пакет.

6.4.7. Разместите контейнер с криоконсервированными эритроцитами в размораживателе.

6.4.8. Контейнер с криоконсервированными эритроцитами нагрейте до температуры 20 °С. Это займёт не более 10–15 мин.

6.4.9. Извлеките контейнер с эритроцитами.

6.4.10. Контейнер с размороженными эритроцитами заверните в белую салфетку.

6.4.11. Проверьте контейнер на наличие повреждений, аккуратно надавливая на него салфеткой и осматривая ее на наличие пятен крови. Наличие пятен крови на салфетке свидетельствует о повреждении контейнера.

6.4.12. При наличии пятен крови на белой салфетке контейнер с эритроцитами должен быть признан контаминированным и утилизирован в соответствии с утверждённым порядком.

6.4.13. Размороженные таким образом эритроциты готовы для деглицеролизации.

6.5. Деглицеролизация размороженных эритроцитов

6.5.1. Установите магистраль 235 на аппарат ACP 215. Для этого подсоедините шейкер к аппарату ACP 215 и поставьте слева

от него. Подсоедините кабель принтера к разъёму на задней панели аппарата; вставьте кабель питания принтера в розетку и включите его. Подсоедините кабель питания ACP 215 и включите его. Сразу после включения аппарата ACP 215 выполняется серия внутренних тестов автоматической диагностики. После успешного завершения каждого теста рядом с ним отображается буква P.

215 SYSTEMS TESTS Rom P Air Sensors P Calibration P Analog P Config P Valves P Protocols P Watch Dog P

После завершения автоматических тестов убедитесь, что крышка центрифуги может нормально запираться. Серия сообщений инструктирует вас закрывать, открывать и снова закрывать крышку до тех пор, пока контроль безопасности не будет завершен.

6.5.2. После кратковременного отображения версии программного обеспечения ACP 215 появится меню выбора процедуры.

HAEMONETICS ACP 215
PLEASE SELECT PROTOCOL WASH GLYCEROLIZATION ===> DE-GLYCEROLIZATION

6.5.3. Используя кнопку «MODIFY PROGRAM» выберите положение стрелки напротив «DE-GLYCEROLIZATION» (см. рис. 2) и нажмите кнопку «YES». Все клапаны откроются и на дисплее появится картинка:

GLYCEROLIZATION PROTOCOL
PLEASE LOAD DISPOSABLE SET
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI REAL: 0 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.5.4. Наденьте латексные перчатки.

6.5.5. Вскройте контурную упаковку с магистралью для деглицеролизации LN 235. Убедитесь в целостности трубок.

6.5.6. Закройте все зажимы.

6.5.7. Установите открытую контурную упаковку так, чтобы головка колокола была обращена вниз.

6.5.8. Извлеките контейнер готового продукта из контурной упаковки и подвесьте его на небольших шпильках, расположенных с левой стороны передней панели.

6.5.9. Нанесите на контейнер готового продукта штрих-код донации, группу крови и фенотип, дату деглицеролизации.

6.5.10. Установите трубку с красной полоской контейнера эритроцитов в красный клапан. Установите трубку готового продукта в клапан, маркированный белым цветом. Извлеките смотанные в кольцо линии раствора и временно расположите слева от контурной упаковки.

6.5.11. Извлеките контейнер для отмывочного раствора и трубку с зелёной полоской из контурной упаковки. Подвесьте контейнер для отходов продукта на больших шпильках для мешков, расположенных с правой стороны передней панели. Установите трубку с зелёной полоской в зелёный клапан.

6.5.12. Поверните кнопку крышки центрифуги в положение «открыто» и нажмите на неё. Откройте крышку.

6.5.13. Установите колокол в центрифуге так, чтобы выходной порт (прозрачная линия) смотрел направо, а голубой порт налево (рис. 15). Нажмите на колокол и убедитесь, что он встал до упора.

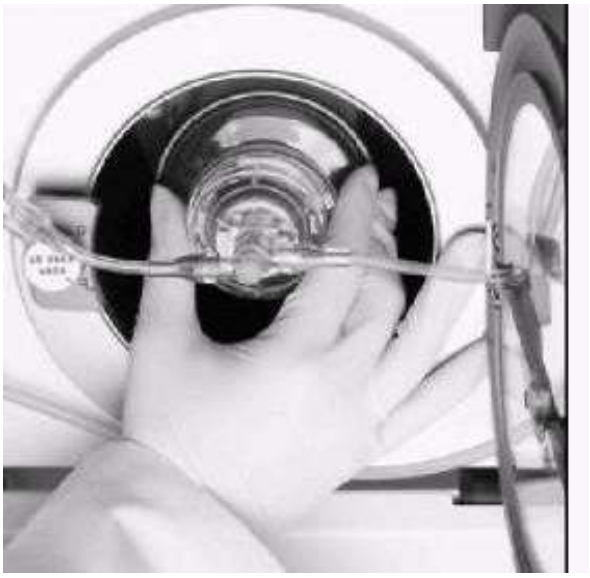


Рис. 15. Установка центрифужного колокола

6.5.14. Закройте крышку центрифуги, поверните кнопку в положение «закрыто».

6.5.15. Проложите сегмент трубки насоса между упорами насоса крови вокруг канавки ротора насоса крови (рис. 16).

6.5.16. Проложите сегмент трубки насоса между упорами насоса раствора вокруг канавки ротора насоса раствора (рис. 16).

6.5.17. Закрепите трубку в каждой направляющей трубки таким образом, чтобы каждый упор насоса был справа от направляющей трубки (рис. 16).

1. Детектор воздуха линии раствора
2. Упоры трубки насоса раствора
3. Насос раствора
4. Направляющие трубки насоса
5. Антибактериальный фильтр
6. Насос крови
7. Упоры трубки насоса крови
8. Детектор воздуха линии крови

6.5.18. Поворачивайте каждый насос по часовой стрелке до тех пор, пока паз в роторе насоса не захватит трубку и полностью не затянет ее в канавку насоса. Чтобы полностью установить трубку в канавку насоса, поворачивайте каждый насос по часовой стрелке еще на четверть оборота. Насос должен быть в состоянии свободно вращаться.

6.5.19. Установите антибактериальный фильтр между направляющей трубки насоса раствора и ведущим к колоколу тройником, как представлено на рис. 16.

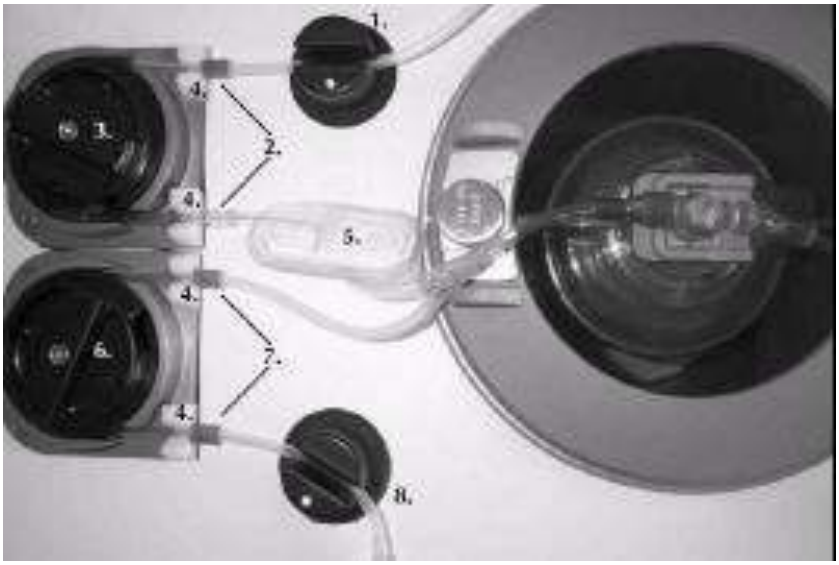


Рис.16. Ориентация упора насоса и антибактериального фильтра

6.5.20. Установите все три промаркированные цветом линии раствора в клапаны соответствующего цвета: желтый – для линии раствора Bio-Wash; оранжевый – для линии консервирующего раствора SAG-M; голубой – для линии раствора Bio-Deglyc.

6.5.21. Убедитесь, что линии раствора от тройника не зажаты и не имеют перегибов.

6.5.22. Установите прозрачную трубку сливной линии в датчик линии так, чтобы трубка полностью входила в канавку.

6.5.23. Закройте крышку датчика линии.

6.5.24. Подсоедините фильтр DPM к датчику давления забора крови слева.

6.5.25. Подсоедините фильтр SPM к датчику давления системы справа.

6.5.26. Прижмите каждый фильтр к DPM и SPM, одновременно поворачивая по часовой стрелке для создания плотного соединения.

6.5.27. Затем нажмите «YES». Клапаны автоматически закроются.

6.5.28. На мониторе появится следующее сообщение.

CALIBRATION OF LINE SENSOR
PRESS YES TO CALIBRATE Press NO TO
BYPASS CALIBRATION
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.5.29. Нажмите «YES» для инициирования последовательности теста.

6.6. Калибровка датчика линии

6.6.1. Появится следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE
SENSOR
OPEN COVER AND REMOVE TUBING PRESS
YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.2. Откройте крышку датчика линии и уберите трубку. Когда крышка открыта, нажмите кнопку «YES». Датчик линии автоматически выполняет самопроверку, используя в качестве фильтра стандартную атмосферу. Отобразится следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
FILTER IS IN RANGE PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.3. Нажмите кнопку «YES» для получения следующего сообщения:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
INSERT FILTER 2 PRESS YES
INTO LINE SENSOR TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.4. Установите в канавку датчика линии специальный фильтр №2 компании Haemonetics.

6.6.5. Нажмите кнопку «YES», следя за тем, чтобы фильтр блокировал оптический луч датчика линии, когда кнопка в нажатом состоянии.

6.6.6. Датчик линии автоматически выполнит вторую самопроверку и на дисплее появится следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
FILTER 2 IS IN RANGE
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.7. Нажмите кнопку «YES», и вы получите следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
INSERT FILTER 3 INTO LINE SENSOR
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.8. Установите в канавку датчика линии специальный фильтр №3 компании Haemonetics.

6.6.9. Нажмите кнопку «YES», следя за тем, чтобы фильтр блокировал оптический луч датчика линии, когда кнопка в нажатом состоянии.

6.6.10. Датчик линии автоматически выполнит третью самопроверку и на дисплее появится следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
LINE SENSOR TEST COMPLETE
YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.11. Нажмите кнопку «YES» и вы получите следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
INSTALL TUBING IN LINE SENSOR
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.12. Полностью вставьте трубку в датчик.

6.6.13. Закройте крышку датчика и для продолжения нажмите кнопку «YES».

6.6.14. В этот момент аппарат ACP 215 перейдёт к тесту установки колокола.

6.6.15. Однако, если в ходе любой из трёх самопроверок будет установлено, что датчик вне диапазона, то аппарат прервёт операцию и выведет на дисплей следующее сообщение:

CALIBRATION OF LINE SENSOR
FILTER IS NOT IN RANGE
CALL HAEMONETICS FIELD SERVICE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.6.16. Если отобразится такое сообщение, то необходимо обратиться в службу по работе с клиентами компании Haemonetics для калибровки датчика линии.

6.7. Проверка установки центрифужного колокола

6.7.1. После завершения или пропуска тест калибровки датчика линии, появится следующее сообщение:

BOWL SEATING TEST
IS CENTRIFUGE COVER LOCKED
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.7.2. Для проведения теста установки колокола нажмите кнопку «YES».

6.7.3. Центрифуга начнёт вращать колокол со скоростью 8000 оборотов в минуту в течение 30 секунд. Затем появится сообщение:

BOWL SEATING TEST
TESTING CENTRIFUGE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.7.4. После завершения теста установки колокола центрифуга автоматически остановится. На дисплее отобразится следующее сообщение:

BOWL SEATING TEST
DID BOWL PRODUCE UNUSUAL NOISE
PRESS YES OR NO TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.7.5. Нажмите кнопку «NO» для продолжения.

6.8. Подсоединение растворов и контейнера с размороженными эритроцитами

6.8.1. Взвесьте контейнер с размороженными эритроцитами на весах и рассчитайте вес (объем) эритровзвеси, учитывая вес контейнера.

6.8.2. Нанесите на контейнер дату деглицеролизации, вес эритровзвеси.

6.8.3. Выполните стерильное соединение трубки с красной полоской и трубки контейнера с размороженными эритроцитами. При использовании устройства стерильного соединения трубок необходимо соблюсти соответствие диаметра соединяемых трубок.

6.8.4. Если на контейнере два сегмента, то выберите сегмент, который не содержит переламывающегося клапана. Если длина этого сегмента трубки недостаточна для выполнения сварки, то используйте сегмент трубки с переламывающимся клапаном. Однако, прежде чем выполнять запаивание убедитесь, что клапан полностью отделён.

6.8.5. Убедитесь, что трубка в месте стерильного соединения не имеет окклюзии.

Сожмите сварной шов пальцами так, чтобы трубка стала проходимой.

6.8.6. Разместите контейнер с эритроцитами на шейкере и зафиксируйте его магнитами как показано на рис. 17.

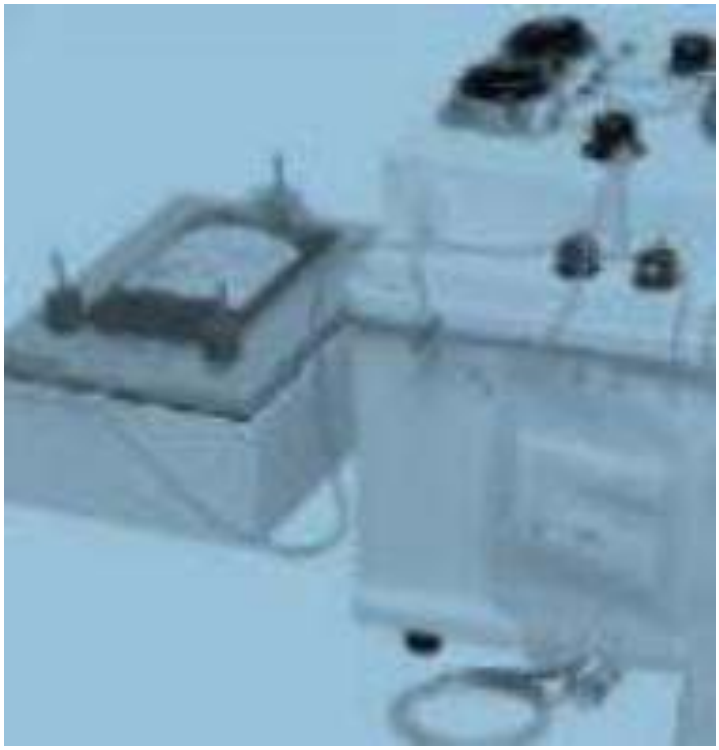


Рис. 17. Положение контейнера с размороженными эритроцитами на Шейкере

6.8.7. Подсоедините контейнер с раствором Bio-Wash к трубке с жёлтой полоской.

6.8.8. Подсоедините контейнер с раствором Bio-Deglyc к трубке с голубой полоской.

6.8.9. Подсоедините контейнер с консервирующим раствором SAG-M к соединителю трубки с оранжевой полоской и сломайте переламывающийся клапан, наклонив его дважды в противоположные стороны на 90 °.

6.9. Проведение процедуры контрольной проверки

6.9.1. После завершения теста установки колокола на дисплее появится сообщение:

DE-GLYCEROLIZATION PROTOCOL
START DISPOSABLE CHECK LIST
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.9.2. Нажмите кнопку «YES» для инициирования списка контрольных проверок.

6.9.3. В соответствии со списком, представленным в табл. 3, будут последовательно отображаться сообщения:

6.9.4. Нажимайте клавишу «YES», подтверждая правильную установку трубок.

Таблица 3.

Конфигурации списка контрольных проверок расходного комплекта: процедура деглицеролизации

Сообщение	Полный контрольный список	Минимальный контрольный список
Color-coded valve tubing (трубка клапана с цветовой кодировкой) (6)	X	
Line sensor tubing (трубка датчика линии)	X	X
Hypertonic solution bag (мешок гипертонического раствора)	X	
Wash solution bag (мешок промывочного раствора)	X	
Additive solution bag (мешок добавочного раствора)	X	
SLAD tubing (трубка детектора воздуха линии раствора)	X	
Solution pump tubing (трубка насоса раствора)	X	
Blood pump tubing (трубка насоса крови)	X	
BLAD tubing (трубка детектора воздуха линии крови)	X	
Centrifuge bowl position (позиция бака центрифуги)	X	X
Additive solution seal (сламываемый клапан добавочного раствора)	X	X
RBC bag tubing (трубка мешка эритроцитов)	X	X
RBC bag/shaker (мешок эритроцитов/миксер)	X	X

6.9.5. После контроля расходного комплекта введите инициалы оператора в поле, предусмотренное в верхней части сообщения.

ENTER OPERATOR INITIALS A A
PRESS YES TO SCROLL
PRESS SAVE PROGRAM TO SELECT
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 0 0 0 0 TARG: 55 50 1470 240

6.9.6. После подтверждения инициалов для текущей процедуры, отобразится следующее сообщение:

6.9.7. На этом этапе некоторые параметры доступны для оператора.

6.9.8. Введите на дисплее вес размороженных эритроцитов и гематокрит.

6.10. Процедура деглицеролизации

6.10.1. Нажмите кнопку «START» для начала процедуры.

6.10.2. Из контейнера готового продукта вытеснится воздух.

6.10.3. Аппарат ACP 215 добавляет 50 мл раствора Bio-Deglyc в контейнер с размороженными эритроцитами. Остановится на 150 секунд и добавит раствор Bio-Wash. Остановится на 60 секунд и затем переведёт эритроцитную взвесь из контейнера в колокол.

6.10.4. Затем на дисплее отобразится следующая информация:

DE-GLYCEROLIZATION PROTOCOL
STERILE CONNECTION CHECK
IN PROGRESS. PLEASE WAIT
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 17 50 340 0 TARG: 57 50 1470 240

6.10.5. Если отрицательное давление поддерживается, как требуется, то процедура будет нормально продолжаться.

6.10.6. Однако, если уровень давления не поддерживается в соответствии с заданными критериями, то появится следующая информация:

STERILE CONNECTION FAILURE
PLEASE CHECK BLOOD BAG FOR AIR
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI REAL: 17 50 340 0 TARG: 57 50 1470 240

6.10.7. Проверьте контейнер с эритроцитами на наличие течи или избыточного воздуха.

6.10.8. Если имеется избыточный воздух, измените положение мешка таким образом, чтобы воздух собрался сверху мешка.

6.10.9. Для продолжения процедуры нажмите кнопку «YES».

6.10.10. Аппарат ACP 215 повторит проверку на герметичность стерильного соединения трубки. В это время отобразится следующая информация:

DE-GLYCEROLIZATION PROTOCOL
STERILE CONNECTION CHECK
IN PROGRESS. PLEASE WAIT
PUMP TIME HYPE NACL ADDI REAL: 17 50 340 0 TARG: 57 50 1470 240

6.10.11. Если тест завершён успешно, то процедура будет продолжена.

6.10.12. Однако, если проверка на герметичность не пройдена, то отобразится следующая информация об утечки в системе:

DE-GLYCEROLIZATION PROTOCOL
STERILE CONNECTION FAILURE
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 17 50 340 0 TARG: 57 50 1470 240

6.10.13. Нажмите кнопку «YES», что приведёт к возникновению следующего сообщения:

STERILE CONNECTION FAILURE
PRODUCT LIMITED TO 24 HOURS
PRESS YES TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 17 50 340 0 TARG: 57 50 1470 240

6.10.14. Нажмите кнопку «YES», что приведёт к возникновению следующего сообщения:

PRODUCT LIMITED TO 24 HOURS
PRESS NO TO ABORT PROCEDURE
PRESS START TO CONTINUE
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 17 50 340 0 TARG: 57 50 1470 240

6.10.15. Если обнаружился дефект контейнера или магистрали, то следует нажать кнопку «NO» для завершения процедуры и утилизации контейнера в установленном порядке.

6.10.16. Для продолжения процедуры нажмите кнопку «START».

6.10.17. В печати отчета по процедуре будет содержаться предупреждение о том, что хранение продукта крови ограничено 24 часами следующим образом:

WARNING ********** ******* BLOOD PRODUCT SHELFLIFE LIMITED TO 24 HOURS. ********** **********

6.10.18. После окончания пяти циклов отмывания эритроцитов, примерно через 60 мин, аппарат прекращает работу, заблокировав надосадочную жидкость в выходной линии.

6.10.19. На экране появится сообщение:

CHECK HGB LEVEL IN EFFLUENT FLUID PRESS YES IF ACCEPTABLE. PRESS NO IF NOT

6.10.20. При допустимом уровне свободного гемоглобина (<150 мг/%) нажмите кнопку «YES».

6.10.21. При недопустимом уровне (>150 мг/%) нажмите кнопку «NOT».

6.10.22. После проверки центрифуга остановится и деглицеролизированные эритроциты в консерванте SAG-M будут переведены в контейнер для готового продукта.

6.10.23. Как только деглицеролизованные эритроциты будут полностью переведены в контейнер готовой продукции, все клапаны закроются, а насосы остановятся.

6.10.24. Аппарат ACP 215 подаст звуковой сигнал и появится следующее сообщение:

DE-GLYCEROLIZATION PROTOCOL			
IS PRINTER ONLINE			
PRESS YES TO CONTINUE			
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 57	50	1470	240
TARG: 57	50	1470	240

6.10.25. Нажмите кнопку «YES» для получения печатного отчета по процедуре.

6.10.26. По окончанию печати аппарат ACP 215 сообщит запрос.

IS THE PRINTOUT ACCEPTABLE?			
PRESS YES TO CONTINUE			
PRESS NO TO RETRY			
PUMP TIME HYPE NACL ADDI P 0 REAL: 57	50	1470	240
TARG: 57	50	1470	240

6.10.27. Нажмите кнопку «YES» и завершите процедуру.

6.10.28. Принтер выдаст стандартный отчёт и диаграмму деглицеролизации (рис. 18, 19).

6.10.29. В печатном отчёте заполните пустые позиции.

6.10.30. При документировании номера партии каждого используемого для процедуры изделия укажите наименование изготовителя.

HAEMONETICS ACP 215
SERIAL NUMBER: 95B072
THAWED BLOOD DEGLYCEROLIZATION
PROCEDURE SUMMARY

Date and Time:
Unit Number:
Hypertonic Volume: 50 ml
Shaker: ON
First Dilution Volume: 340 ml
Shaker: ON
Bowl Fill: 800 ml
RBC Spillage: NO
Second Dilution Volume: 400 ml
Shaker: ON
Bowl Fill: 900 ml
RBC Spillage: NO
1st Wash Volume: 60 ml
2nd Wash Volume: 70 ml
3rd Wash Volume: 100 ml
4th Wash Volume: 150 ml
5th Wash Volume: 300 ml
Additive Solution: 240 ml
Final Product: Estimated
Free Hemoglobin Level < : 50 mg%
Procedure Time: 56 Min.
Operator Initials A A
Thawed unit temperature:
12% NaCl Lot Num:
Exp. Date:
0.9% NaCl Lot Num:
Exp. Date:
Additive Solution:
Lot Num:
Exp. Date:

Wafer Lot Num:
Supt. Hemoglobin level in tubing is:
ACCEPTABLE
Operator Signature:

Рис. 18. Пример распечатки отчета по процедуре

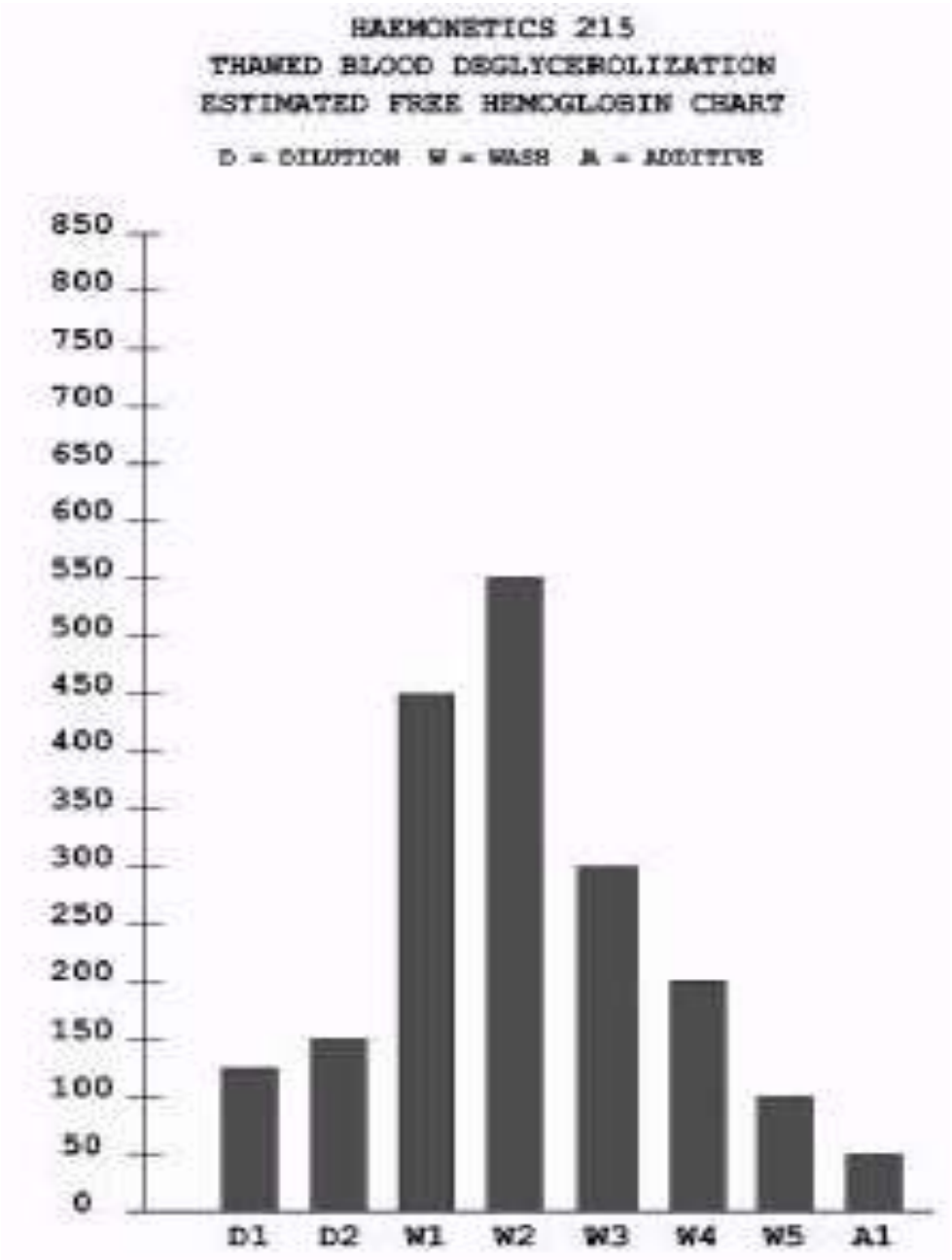


Рис. 19. Пример распечатки расчѐтного значения свободного гемоглобина

6.10.31. Как только будет напечатан отчёт по процедуре, аппарат АСР 215 выдаст сообщение означающее, что трубка контейнера готового продукта готова к сегментированию запаивателем.

DE-GLYCEROLIZATION PROTOCOL			
MAKING SEGMENTS			
PUMP TIME HYPE NACL ADDI			
P 0			
REAL: 57	50	1470	240
TARG: 57	50	1470	240

6.10.32. Затем появится сообщение «PROCEDURE COMPLETE».

6.10.33. Запаяйте трубку, содержащую эритроцитарную взвесь, на расстоянии 20 см от мешка готового продукта и сформируйте запаивателем 5 сегментом длиной по 4 см. На каждом сегменте должен остаться буквенно-цифровой код.

6.10.34. Отсоедините контейнер готового продукта от системы.

6.10.35. Взвесьте контейнер с полученной эритроцитарной взвесью на весах и рассчитайте вес (объем) эритровзвеси, учитывая вес контейнера.

6.10.36. Удалите один сегмент для анализа по следующим показателям: гематокрит, гемоглобин, осмолярность.

6.10.37. Занесите данные анализа в журнал учёта криоэритроцитов и сравните с регламентными значениями качества: объем не менее 185 мл, гематокрит от 0,37 до 0,7, гемоглобин надосадочной жидкости менее 0,2 г/дозе, гемоглобин не менее 36 г/дозе, осмолярность не более чем на 20 мОсм/л превышает осмолярность используемого взвешивающего раствора.

6.10.38. При соответствии полученных значений с параметрами качества, зарегистрируйте эритроцитарную взвесь в базе данных. Если результаты анализа не соответствуют, то эритроцитарную взвесь следует считать непригодной и необходимо утилизировать в установленном порядке.

6.10.39. Нанесите на контейнер с эритроцитной взвесью этикетку с указанием группы крови, резус-фактора, фенотипа, даты приготовления эрвзвеси.

6.10.40. Передайте контейнер с эритроцитной взвесью с сопроводительными документами в экспедицию.

6.10.41. Уберите использованный расходный комплект с аппарата ACP 215 и утилизируйте его в установленном порядке.

ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ «Криоэритех®» КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УСТРОЙСТВА «Криоэрисет®»

Настоящая инструкция описывает процесс криоконсервирования эритроцитов в 40%-ном (57,1%) глицероле с использованием устройства «Криоэрисет®» производства «Научно-производственного предприятия Биотех-М», Россия (рис. 20). Криоконсервирование эритроцитов проводят в устройстве путём глицеролизации, деглицеролизации и отмывания эритроцитов с использованием растворов криопротектора, гипертонического, изотонического и консервирующего (взвешивающего) растворов. Устройство в закрытом виде обеспечивает выполнение всех технологических операций, необходимых для криоконсервирования, размораживания и отмывания эритроцитов для последующей трансфузии реципиенту. Замораживание и хранение глицеролизированных эритроцитов проводят в морозильной камере при температуре минус 85 °С. Технология не требует наличия асептических условий и «чистых» производственных помещений, сложных автоматических клеточных процессоров, многократного аппаратного спаивания трубок и расходных материалов к ним. Для воспроизведения предложенного способа криоконсервирования эритроцитов достаточно стандартного трансфузиологического оборудования, включённого в табель оснащения организаций Службы крови РФ. Технология криоконсервирования эритроцитов состоит из четырёх этапов: глицеролизация, деглицеролизация, отмывание, ресуспендирование эритроцитов.

1. Оборудование и расходные материалы

1) Аппарат стерильного спаивания трубок.
2) Аппарат запаивания трубок.
3) Центрифуга рефрижераторная.
4) Плазмоэкстрактор.
5) Морозильная камера на минус 85 °С.
6) Размораживатель.
7) Весы-помешиватели.
8) Стойка трансфузионная.
9) Устройство «Криоэрисет®».
10) Шприц Луер-лок объемом 60 мл.
11) Контейнер с раствором криопротектора «Глицерол 57,1%», 500–600 мл – 1 шт.

12) Контейнер с гипертоническим раствором «натрия хлорид» 12%», 100 или 250 мл – 1 шт.

13) Контейнер с изотоническим раствором «натрия хлорид 0,9%», 500 мл – 4 шт.

14) Контейнер с консервирующим раствором SAG-M, 350 мл – 1 шт.

15) Защитная одежда, маска, очки, перчатки.

Возможно использовать аналогичное оборудование и расходные материалы с такими же характеристиками, разрешённые к применению Росздравнадзором.

2. Описание технологии

2.1. Глицеролизация

Устройство «Криоэрисет®» предназначено для криоконсервирования одной дозы эритроцитной взвеси или для получения одной дозы отмытых эритроцитов.

Закройте все зажимы 6–12. Технологическую трубку контейнера К2 спаяйте с трубкой устройства в месте «а» (рис. 21) или перфорируйте иглой 3 мембрану штуцера контейнера К» в случае отсутствия аппарата для спаивания трубок. Иглой 4 перфорируйте мембрану штуцера контейнера К3. Контейнеры К2 и К3 подвесьте на трансфузионной стойке. Контейнер К1 поместите на весы- помешиватель, расположенные на столе на расстоянии 70–100 см по высоте от точки подвески контейнеров К2 и К3.

Включите весы-помешиватель. Откройте зажимы 6 и 12. Переведите самотеком эритроцитную взвесь в контейнер К1. По завершении перетока откройте зажим 7 и переведите раствор криопротектора в контейнер К1. Закройте зажимы 6 и 12. Среднее время заполнения контейнера К1 – 20 +/– 5 минут.

Отпаяйте часть устройства в месте а1 линии В (рис. 21) и удалите совместно с пустым контейнером К3. Разместите без линии В устройство с контейнером К1, заполненным эритроцитами и раствором криопротектора, в центрифужном стакане, разделённом перегородкой. В одну часть стакана поместите контейнер К1, в другую – остальные элементы устройства. Центрифугируйте 10 минут при центробежном ускорении 1250 g. Среднее время с учетом размещения/извлечения из центрифуги и центрифугирования составляет 15 +/– 2 мин.

После центрифугирования осторожно разместите контейнер К1 в плазмоэкстракторе. Откройте зажимы 6 и 12. Переведите супернатант в контейнер К2. Закройте зажимы 6 и 12. Отпаяйте часть

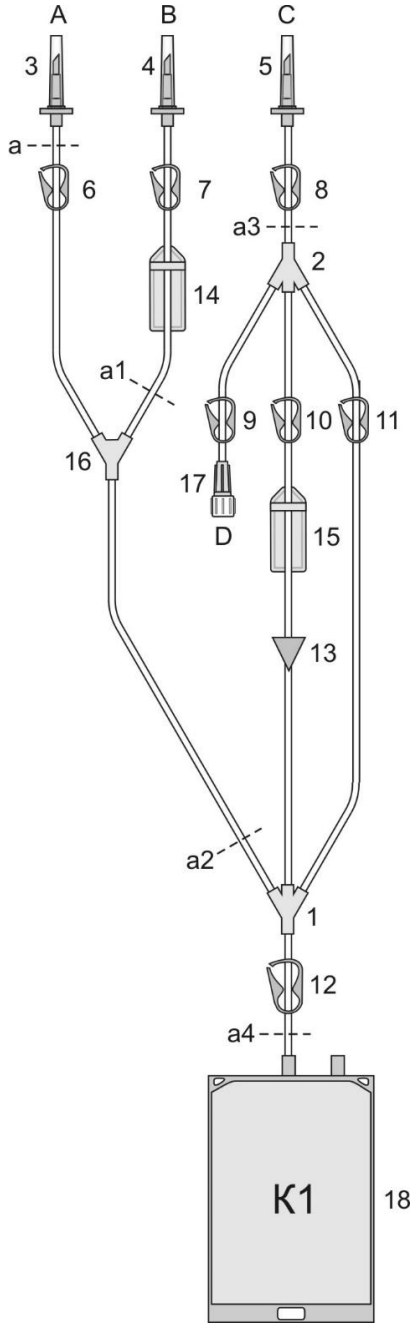


Рис. 20. Устройство «Криоэрисет®» для криоконсервирования эритроцитов

Устройство состоит из: четверников (разветвителей трубок) – 1, 2; полимерных игл со съёмными герметизирующими колпачками – 3–5; зажимов – 6–12; обратного клапана – 13; бактериальных стерилизующих фильтров с мембраной (0,2 мкм) – 14, 15; тройника (разветвителя трубок) – 16; коннектора Луер-Лок со съёмным герметизирующим колпачком – 17; контейнера К1 для криоконсервирования и отмывания эритроцитов – 18; элементы устройства (1–18) соединены трубками Øвн. / Øнаруж. – 3,0/4,1 мм, а место соединения технологической трубки контейнера с эритроцитами с трубкой устройства (а1–а4); места запаивания и отделения трубок вместе с прилежащими частями изделия (A, B, C, D) – соответственно линии донорских эритроцитов, раствора криопротектора, изотонического, гипертонического / ресуспендирующего растворов; (A+B) – часть изделия для глицеролизации эритроцитов; (C+D) – часть изделия для деглицеролизации, отмывания и ресуспендирования эритроцитов

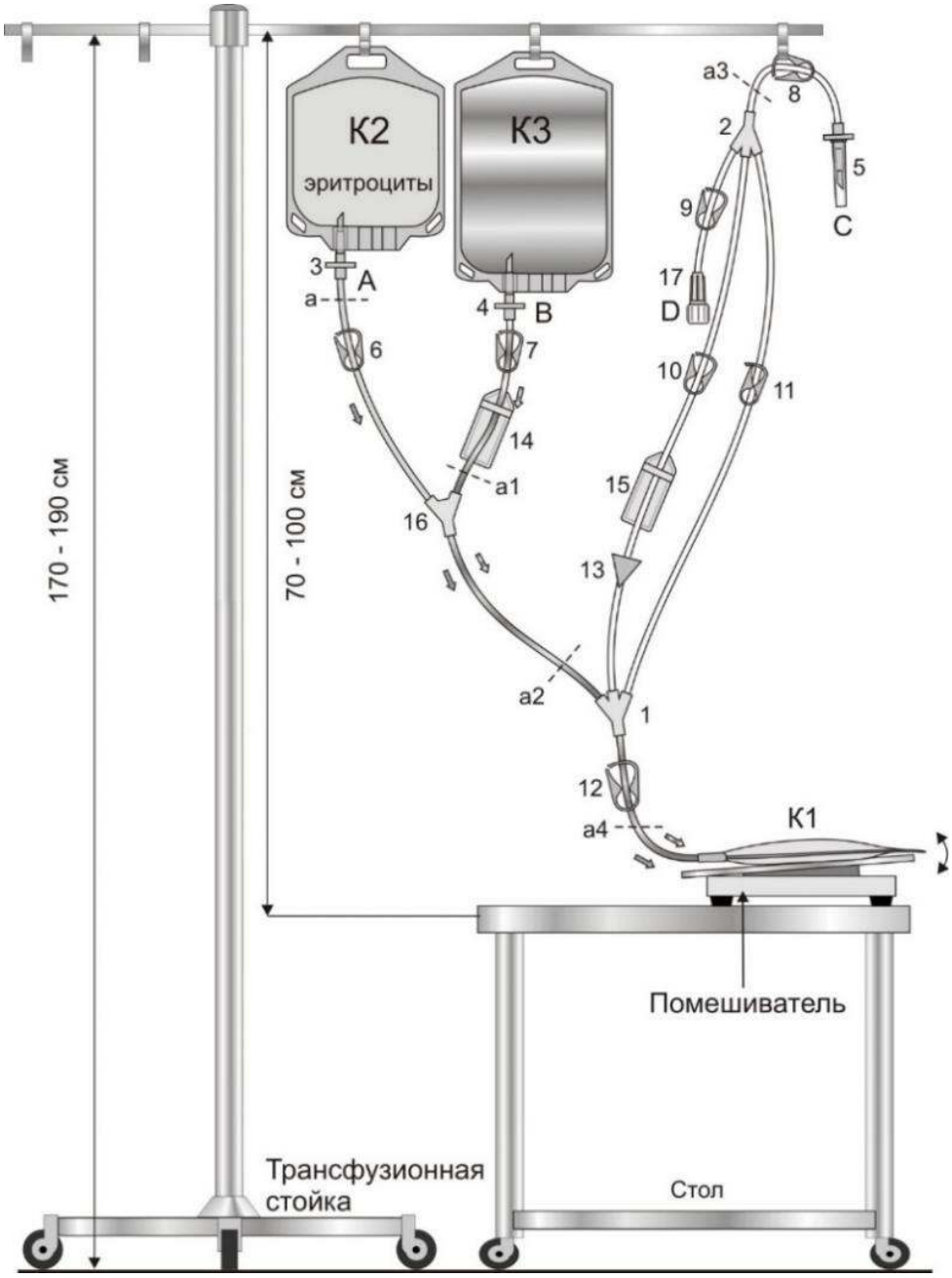


Рис. 21. Схема присоединения к устройству «Криоэрисет®» контейнера К2 (500 мл) с эритроцитной взвесью (300 мл) и контейнера К3 (600 мл) с раствором криопротектора (глицерол 57,1%). К1 – контейнер для криоконсервирования и отмывания эритроцитов. Стрелки указывают направления потоков

устройства с контейнером К2 в месте а2 (рис. 21) и удалите ее. Оставшуюся часть устройства поместите в полимерный пакет, размером 20х30 см, который вакуумируйте и запаяйте, используя, например, вакууматор для вакуумирования и запаивания пакетов «Fidget Go». Среднее время экстрации супернатанта и вакуумирования пакета составляет 10 +/– 1 мин. Общее время этапа 12.1 глицеролизации: 45–50 мин.

Вакуумированный пакет с устройством, содержащим концентрированные в растворе криопротектора эритроциты, поместите в картонные коробки и заморозьте в морозильной камере до температуры минус 80–85 °С со скоростью 1–3 °С /мин.

Устройство «Криоэрисет®», минуя стадию глицеролизации, можно использовать для деглицеролизации, отмывания и ресуспендирования (этапы 12.2–12.5 показанные на рис. 22-24) замороженной эритроцитной взвеси, хранящейся при низких температурах в организациях Службы крови. Также с помощью устройства «Криоэрисет» и растворов возможно получить отмытые эритроциты без криоконсервирования.

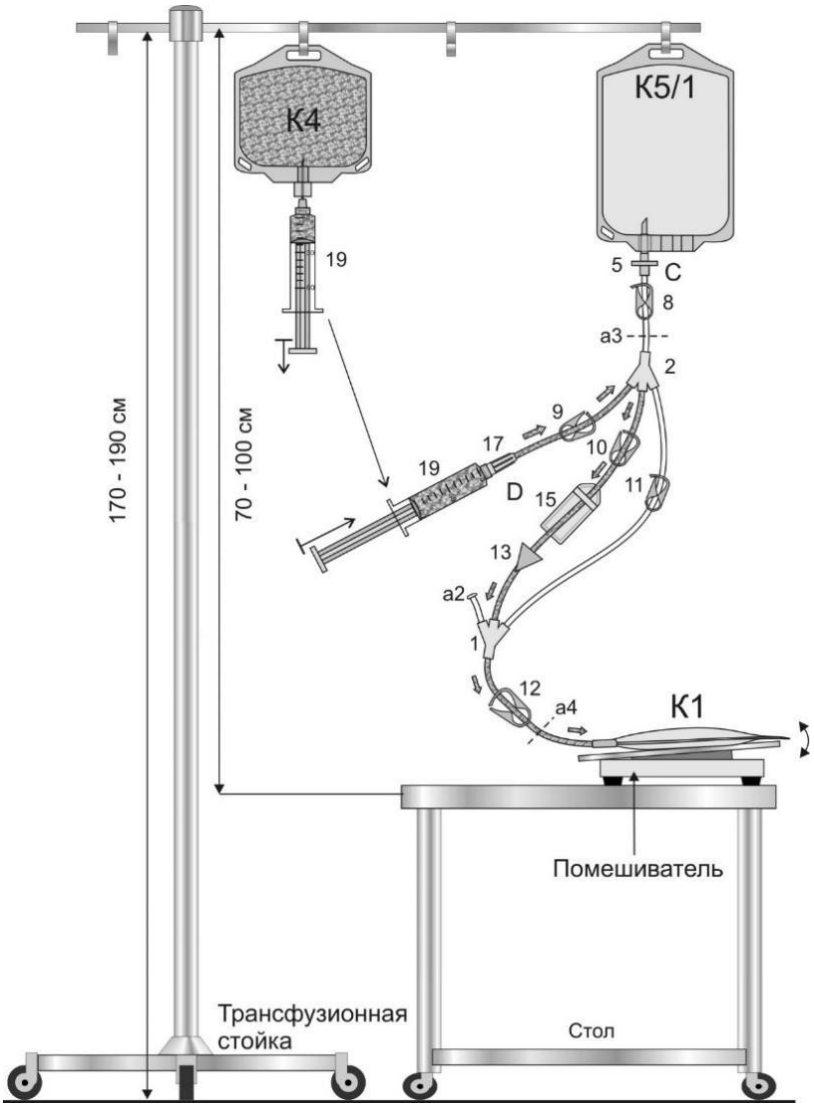


Рис. 22. Схема заполнения шприца 19 гипертоническим раствором (10–12 % NaCl), набранным в объеме 60 мл из контейнера К4 (100–250 мл), и его присоединение к устройству «Криоэрисет®», к которому присоединили контейнер К5/1 (500 мл) с изотоническим раствором (0,9 % NaCl)

2.2. Деглицеролизация

После размораживания криоконсервированных эритроцитов следует провести деглицеролизацию гипертоническим 12%-ным раствором натрия хлорид

Контейнер с криоконсервированными эритроцитами согрейте в размораживателе со скоростью 1–3 °С /мин до температуры 37 °С. Пакет удалите после размораживания. Перфорируйте иглой 5 линии С мембрану штуцера контейнера К5/1 (зажимы 8 и 11 закрыты). Присоедините заполненный гипертоническим раствором (50 мл) шприц 19 к коннектору 17 линии D. Откройте зажимы 9, 10, 12 Медленно переведите в контейнер К1 при помешивании гипертонический раствор. Закройте зажим 9. Отсоедините шприц. Герметизируйте винтовым колпачком коннектор 17. Подождите 3–5 мин. Присоедините устройство к контейнеру К5/1 введением иглы 5 в резиновый порт контейнера К5/1. Откройте зажимы 8, 10, 12. Переведите изотонический раствор из контейнера К5/1 в контейнер К1. Закройте зажимы 8, 10, 12. Центрифугируйте контейнер К5/1 с частью (С + D) устройства «Криоэрисет», как описано в пункте 12.1 «глицеролизация».

2.3. Отмывание

Перед отмыванием криоконсервированных эритроцитов в обязательном порядке необходимо провести деглицеролизацию гипертоническим 12%-ным раствором натрия хлорид после размораживания.

При получении отмытых эритроцитов следует использовать только изотонический 0,9% раствор натрия хлорид.

Для отмывания эритроцитов следует провести следующие операции.

Откройте зажимы 8, 11, 12 (рис. 23). Переведите обратным током супернатант по обводной трубке в пустой контейнер К5/1, используя плазмоэкстрактор. Закройте зажимы 8, 11, 12. Удалите контейнер К5/1 с отработанным раствором и вместо него присоедините контейнер К5/2 со свежим раствором. Откройте зажимы 8, 10, 12. Переведите раствор в контейнер К1. Трижды повторите центрифугирование и удаление супернатанта в пустые контейнеры К5/2 – К5/4 с заменой их на контейнеры К5/2 – К 5/4 со свежим раствором. На завершающем этапе отмывания эритроцитов запаяйте и отделите в месте а4. контейнер К5/4 совместно с частью линии С устройства. Закройте все зажимы.

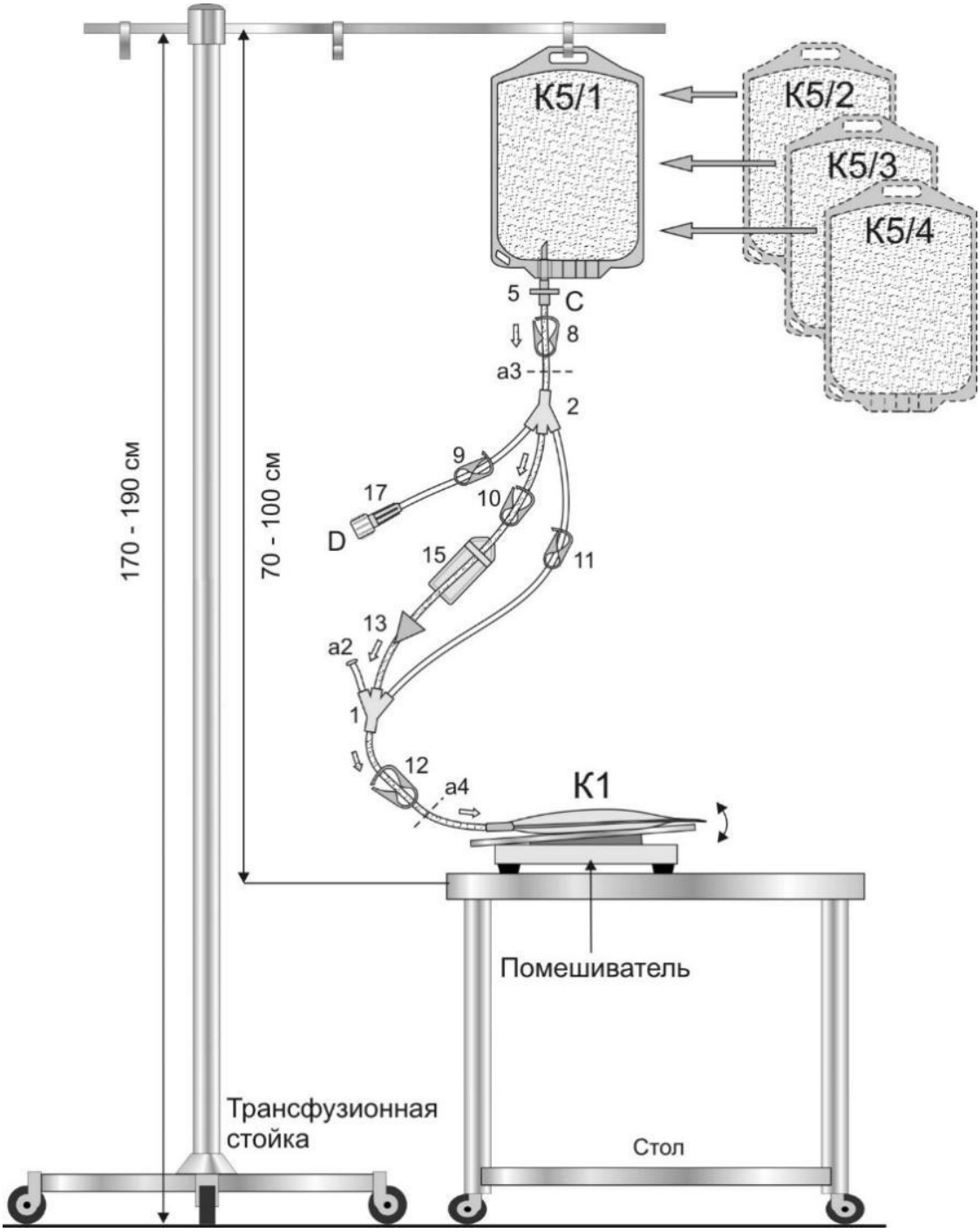


Рис. 23. Схема последовательного присоединения к устройству «Криоэрисет®» контейнеров К5/2 – К5/4 (500 мл) с изотоническим раствором (0,9% NaCl)

2.4. Ресуспендирование

После отмывания криоконсервированных эритроцитов или нативных эритроцитов допускается ресуспендирование эритроцитов в консервирующем растворе SAG-M.

Подвесьте контейнер К6 на трансфузионной стойке (рис. 24). Свинтите вместе коннекторы Луер-лок 17 устройства и контейнера К6.

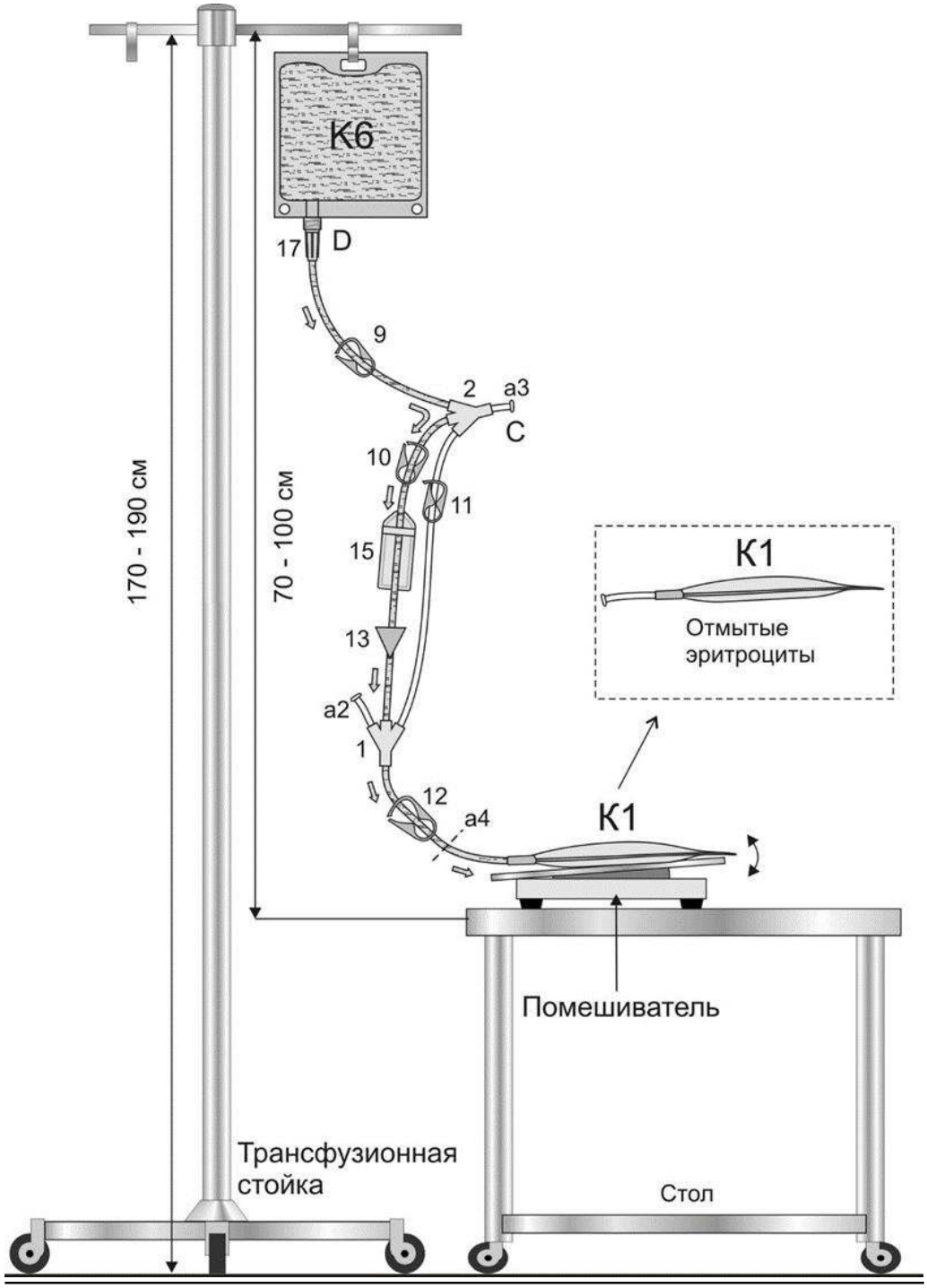


Рис. 24. Схема присоединения к устройству «Криоэрисет® контейнера К6 (350 мл) со взвешивающим (консервирующим) раствором SAG-M. В отделенном от устройства контейнере К1 содержатся отмытые и ресуспендированные эритроциты, готовые к трансфузии

Откройте зажимы 9, 10, 12. Переведите раствор SAG-M в контейнер К1 при помешивании. Закройте все зажимы. Центрифугируйте. Откройте зажимы 9, 11, 12. Переведите супернатант по обводной трубке в пустой контейнер К6, оставляя в контейнере К1 отмытые и ресуспендированные эритроциты в объеме 300 мл.

Запаяйте в месте а4 трубку линии С и отделите контейнер К1 с отмытыми и ресуспендированными эритроцитами, готовыми к трансфузии. Оставшуюся часть устройства утилизируйте.

Продолжительность этапов деглицеролизации, отмывания и ресуспендирования эритроцитов составляет 90 +/– 10 мин.

Полученный эритроцитных гемокомпонент в контейнере К1 должен быть использован в течение 24 часов после заготовки.

3. Оценка качества криоконсервированных и отмытых эритроцитов

Полученный гемокомпонент должен соответствовать нормативным требованиям Приложения 1 ПП РФ от 22.06.2019 г. №797 «Правила заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов».

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИЙ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Учитывая высокую технологичность криоконсервирования и длительность хранения клеток крови, а также высокую себестоимость процесса, к используемому оборудованию предъявляются повышенные требования. Так, в настоящее время практически все Криобанки в РФ укомплектованы дорогостоящим импортным оборудованием (аппаратами для криоконсервирования, морозильными камерами и программными замораживателями). Помимо европейского и американского, появились и китайские образцы, отличающиеся конкурентоспособной ценой.

В связи с этим в настоящее время специалисты ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России и производственные предприятия, такие как,

«Научно-производственное предприятие Биотех-М» разрабатывают аппаратные технологии криоконсервирования эритроцитов на отечественном оборудовании, а именно автоматический клеточный процессор «Гемос-АКП» в комплекте с полимерными расходными материалами и растворами. При этом планируется использовать недавно введённые в медицинскую практику отечественные растворы. Глицеролизация и деглицеролизация эритроцитов планируется с помощью фильтрационных технологий, которые обеспечивает аппарат «Гемос- АКП» с новым высокотехнологичным спиральным фильтром «Гемос-ПФС». Фильтр создан на основе современной композитной микрофильтрационной мембраны с высокой гидрофильностью и пористостью и обеспечивает фильтрацию и удаление отмывочных растворов (рис. 25).

Преимущества: портативность, компактность, мобильность. Возможность применения в экстремальных условиях вне стационарных источников тока.

Импортозамещение: в настоящий момент на рынке представлены аппараты импортного производства (США).

В чрезвычайных и экстремальных ситуациях при массовой потребности в переливании крови (эритроцитов), когда доставка или сбор донорских эритроцитов невозможна, используют отмытые от криопротектора (глицерола) предварительно заготовленные и хранящиеся в замороженном виде эритроциты. При подготовке к хранению проводят глицеролизацию эритроцитов, а к переливанию – деглицеролизацию (отмывание) криоконсервированных эритроцитов. Используемое для этих целей оборудование – громоздкое, тяжёлое и энергозатратное. Прежде всего это центрифуги, которые используют для дискретного метода отмывания эритроцитов с помощью отечественных растворов. Наиболее часто используют переносной импортный аппарат «Haemonetics-ACP 215» (26 кг), США, представляющий собой автоматический клеточный процессор. Контур крови аппарата – замкнутый, одноразовый и является расходным материалом. Аппарат выполнен в виде переносной центрифуги, в одноразовом коническом колоколе которого проводят отмывку эритроцитов. Этот аппарат широко используют в военно-медицинских целях.

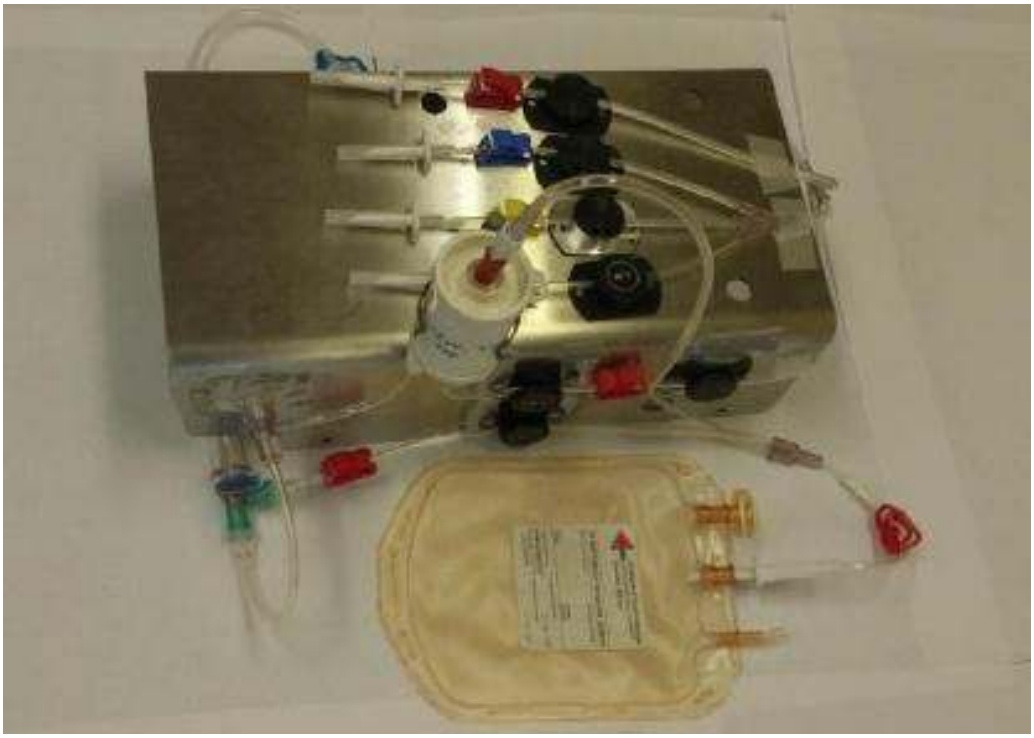


Рис. 25. Макет аппарата и опытный образец расходных материалов для фильтрационного отмывания криоконсервированных эритроцитов

В составе отечественного аппарата не используются травмирующие кровь центрифуги и роликовые насосы.

Принцип действия аппарата основан на фильтрационной мембранной технологии отмывания с помощью отечественных растворов криоконсервированных эритроцитов с использованием не имеющих аналогов:

- атравматичный для клеток крови одноразовый пульсовой насос со встроенными клапанами, создающий ламинарный поток крови. Насос работает подобно левому желудочку сердца и, в отличие от роликовых насосов, не требует обязательной окклюзии насосного сегмента трубки, травмирующей кровь;
- спиральный мембранный фильтр новой конструкции с высокой гемосовместимостью, пористостью и производительностью фильтрации растворов для отмывания эритроцитов. Фильтр создан на основе серийно выпускаемой отечественной микрофильтрационной мембраны. Объем заполнения фильтра кровью – не более 7 мл.

Перечисленные преимущества позволяют использовать отечественный аппарат с расходными материалами однократного применения, который обеспечивает отмывание эритроцитов в замкнутом экстракорпоральном контуре минимального объёма (50 мл) с высоким выходом морфологически и функционально полноценных эритроцитов и их минимальной потерей. По сравнению с используемой центрифужной технологией, массогабаритные характеристики аппарата уменьшены в 10 раз и доведены до: вес – 5 кг, габариты: 31x17x12 см. Энергопотребление уменьшено в 30 раз (20 Вт), есть возможность работы в автономных условиях от маломощных источников постоянного тока (батареек).

Мобильность и портативность отечественного аппарата создаёт дополнительные преимущества при использовании в условиях медицины катастроф и в военно-медицинских целях.

Технологии длительного хранения клеток крови не ограничиваются использованием в традиционных мирных и военных целях. Переливание эритроцитов может быть востребовано в процессе подготовки космонавтов к полёту, для переливания в космосе при кровопотере (особенно при длительном пребывании в невесомости – программа «Марс-500»).

Внедрение же программы заготовки аутокомпонентов крови позволит космонавтам заготовить клетки крови в молодом возрасте, а воспользоваться ими для лечения острых или хронических заболеваний позднее, по возвращении из космоса.

Список источников:

1. Жибурт Е.Б., Белоусов Д.Ю., Шестаков Е.А., Белоусов Ю.Б. Фармакоэкономический анализ применения Гемопюра® в условиях плановых ортопедических операций // Качественная клиническая практика. 2012. № 1. С. 44–55.
2. Чечеткин А.В., Данильченко В.В., Григорьян М.Ш., Воробей Л.Г. Анализ показателей деятельности службы крови Российской Федерации в 2019 году // Трансфузиология. 2020. Т.21, № 3. С. 200–210.
3. Чечеткин А.В., Данильченко В.В., Григорьян М.Ш., Воробей Л.Г., Плоцкий Р.А. Служба крови Российской Федерации в 2014 году: итоги деятельности // Трансфузиология. 2015. Т.16, № 3. С. 4–13.
4. «Правила заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования компонентов крови…», утвержденные Постановлением Правительства РФ № 797 от 22.06.2019 г.
5. Valeri C.R., Ragno G. The survival and function of baboon red blood cells, platelets, and plasma proteins: a review of the experience from 1972 to 2002 at the Naval Blood Research Laboratory // Transfusion. 2006. V.46, No. 8. P. 1S- 42S.
6. Аграненко В.А., Федорова Л.И. Замороженная кровь и ее клиническое применение. М.: Медицина, 1983. 96 с.
7. Smith A.U. Prevention of haemolysis during freezing and thawing of red bloodcells // Lancet. 1950. No. 259. P. 910–911.
8. Sloviter H.A. Recovery of human red blood-cells after freezing // Lancet. 1951. No. 261. P. 823–824.
9. Mollison P.L., Sloviter H.A. Successful transfusion of previously frozen human red cells // Lancet. 1951. No. 261. P. 862–864.
10. Бурдыга Ф.А. Долгосрочное хранение крови и эритроцитной массы в замороженном состоянии при ультранизких температурах и ее клиническое изучение: Автореф. дис. … канд. мед. наук. М., 1965. 16 с.
11. Krijnen H.W., et al. The preservation of blood cells in the frozen state. Experiences and current methods in the Netherlands // Cryobiology. 1968. No. 5. P. 136–143.
12. Rowe A.W., et al. Liquid nitrogen preservation of red blood cells for transfusion: a low glycerol-rapid freeze procedure // Cryobiology. 1968. No. 5. P. 119–128.
13. Huggins H.E. Preservation of blood for transfusion with dimethysulfoxide and a novel washing technique // Sugery. 1963. No. 54. P. 191.
14. Бурдыга М.А. Разработка длительного консервирования эритроцитов методом медленного замораживания их при умереннонизких температурах (от -25° до -60°С) с применением глицерина и диметилсульфоксида: Автореф. дис. … канд. мед. наук. М., 1967. 18 с.

15. Sputtek A. Cryopreservation of human red blood cells (RBC) using hydroxyethyl starch (HES) and liquid nitrogen: autologous retransfusion in healthy volunteers / Ed. Sputtek A., Singbartl G., Schleinzer W. // Abstr. Of 23 Congr. ISBT. 19 Amsterdam, 1994. P. 32.

16. Tullis J. L., Haynes L., Pyle H., Wallach S., Pennell R., Sproul M., Khoubesserian A. Clinical use of frozen blood // Arch. Surg. 1960. No. 1. P. 169.

17. Meryman H.T., Hornblower M.A. A method for freezing and washing RBCs using a high glycerol concentration // Transfusion. 1972. No. 12. P. 145–156.

18. Воробьева Г.С., Виноград-Финкель Ф.Р. Метод замораживания и отмывания эритроцитов для клинической практики, долгосрочно сохраняемых с высокими концентрациями глицерина при — 70 °С в воздушном рефрижераторе // Проблемы гематологии и переливания крови. 1973. № 9. С. 21–25.

19. URL: http://www.haemonetics.com/en/Products/Devices/Blood-and-Plasma- Center- Devices/ACP-215.aspx.

20. Valeri C.R., Ragno G., Pivacek L.E., Srey R., Hess J.R., Lippert L.E., Mettille F., Fahie R., O'Neill E.M., Szymanski I.O. A multicenter study of in vitro and in vivo values in human RBCs frozen with 40-percent (wt/vol) glycerol and stored after deglycerolization for 15 days at 4 C in AS-3: assessment of RBC processing in the ACP 215 // Transfusion. 2001. No. 41. P. 933–939.

21. Valeri C.R., Ragno G. Automation of the glycerolization of the RBC using the 275 ml high separation bowl in the Haemonetics ACP 215 instrument // Transfusion. 2005. V.45, No. 10. P. 1621–1627.

22. Femke Noorman AABB Oct 2012, Transfusion Practice // Clinical Case Studies. P. S53-030H; Poster presentation.

23. Аграненко В.А., Виноградов В.Л., Королев В.М., Цимаркина Г.Е., Семенова Н.В. Деглицеролизация размороженных эритроцитов на аппарате РК- 05 // Гематология и трансфузиология. 1983. № 1. С. 53–57.

24. Высочин И.В., Кобзева Е.Н., Макаров М.С., Глухов А.С., Тюрин И.А., Клюев А.Е., Хватов В.Б. Заготовка и клиническое применение криоконсервированных эритроцитов и тромбоцитов // Альманах клинической медицины. 2014. № 30. С. 70–75.

25. Высочин И.В., Кобзева Е.Н., Хватов В.Б. Организация обеспечения безопасными гемокомпонентами НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского планово и в условиях чрезвычайных ситуаций // Оказание скорой медицинской и неотложной медицинской помощи раненым и пострадавшим при массовом поступлении: Тезисы доклада на 3-м съезде врачей неотложной медицины (в 125-летию С.С. Юдина). г. Москва, 6–7 октября 2016. М., 2016. С. 15–16.

Формат 60х90/16, объём 4 усл. печ. л.
Бумага 80 г/м^2 офсетная.
Гарнитура Times New Roman.
Тираж 100 экз. Заказ № М198.

Отпечатано в типографии
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России.
123098 Москва, ул. Живописная, 46.
Тел.: (499) 190-93-90, 190-94-09.
rcdm@mail.ru, lochin59@mail.ru
www.fmbafmbc.ru