

Оригинальное исследование / Research article

Контроль качества компонентов крови: выбор методов лабораторного исследования

Е.Н. Калинина, Н.С. Вильданова, Е.С. Кормщикова, Е.А. Коновалова, Н.В. Исаева, Т.В. Кривокорытова, М.Е. Ковтунова, К.А. Воробьев

Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

Резюме

Переливание гемокомпонентов – значимая составляющая терапии при кровопотере, анемии, хирургических операциях. Одна из основных задач учреждений службы крови – заготовка качественных трансфузионных сред, эффективность применения которых напрямую зависит от функционирования системы безопасности. Реализация данного направления работы невозможна без лабораторного обследования донорского биоматериала, обязательным условием которого является стандартизация процедур, обеспечивающая достоверность и воспроизводимость результатов. Цель настоящего исследования – провести анализ существующих методов определения гематологических показателей и оценить их пригодность для контроля качества компонентов крови. **Материал и методы.** Тестировали образцы эритроцитсодержащих компонентов крови, свежзамороженной плазмы, концентрата тромбоцитов, а также эталонные буферные растворы для рН-метрии. Для определения количества клеток крови использовали кондуктометрию с гидродинамическим фокусированием, подсчет в камере Горяева и лазерную проточную цитофлуориметрию. Величину рН измеряли потенциометрически. Содержание общего и свободного гемоглобина оценивали фотометрическим, гемиглобинцианидным и SLS-методом. Значение гематокрита определяли на гематологическом анализаторе и путем центрифугирования в гематокритных капиллярах. Проверку активности фактора VIII проводили клоттинговым методом. **Результаты и их обсуждение.** В статье приведены обобщенные результаты метрологической оценки и сравнительного анализа перечисленных лабораторных методов с учетом их чувствительности и прецизионности. **Заключение.** Сформирован перечень рекомендуемых методик контроля качества компонентов крови, для каждой из которых установлена приписанная характеристика сходимости.

Ключевые слова: контроль качества, компоненты крови, показатели безопасности, метрологическая оценка.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Калинина Е.Н., e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Для цитирования: Калинина Е.Н., Вильданова Н.С., Кормщикова Е.С., Коновалова Е.А., Исаева Н.В., Кривокорытова Т.В., Ковтунова М.Е., Воробьев К.А. Контроль качества компонентов крови: выбор методов лабораторного исследования. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(1):56–61. doi: 10.18699/SSMJ20220106

Quality control of blood components: selection of laboratory testing methods

E.N. Kalinina, N.S. Vildanova, E.S. Kormshchikova, E.A. Konovalova, N.V. Isaeva, T.V. Krivokorytova, M.E. Kovtunova, K.A. Vorobiev

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA of Russia
610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya str., 72

Abstract

The blood components transfusion is a significant component of therapy for blood loss, anemia, and surgical operations. One of the main tasks of blood service institutions is the procurement of high-quality transfusion media, the effectiveness of which directly depends on the functioning of the safety system. The implementation of this direction of work is impossible without laboratory testing of the donor biomaterial, a prerequisite for which is the standardization of procedures to ensure the reliability and reproducibility of the results. The aim of this study is to analyze the existing methods for determining hematological parameters and assess their suitability for quality control of blood components. **Material and methods.** The samples of erythrocyte-containing blood components, fresh frozen plasma, platelet concentrate, as well as reference buffer solutions for pH measurement have been tested. To determine the number of blood cells, conductometry with hydrodynamic focusing, counting in the Goryaev chamber and laser flow cytofluorimetry, were used. The pH indicator was measured by potentiometry. The content of general and free hemoglobin was assessed by photometric, hemiglobincyanide and SLS method. The hematocrit value was determined on a hematological analyzer and by centrifugation in hematocrit capillaries. The activity of factor VIII was checked by the clotting method. **Results and discussion.** The generalized results of the metrological assessment and a comparative analysis of the listed laboratory methods, taking into account their sensitivity and precision have been presented. **Conclusions.** A list of recommended methods for quality control of blood components is formed, for each of which an assigned convergence characteristic is established.

Key words: quality control, blood components, safety indicators, metrological assessment.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Kalinina E.N., e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Citation: Kalinina E.N., Vildanova N.S., Kormshchikova E.S., Konovalova E.A., Isaeva N.V., Krivokorytova T.V., Kovtunova M.E., Vorobiev K.A. Quality control of blood components: selection of laboratory testing methods. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(1):56–61. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220106

Введение

Трансфузионная терапия – неотъемлемая часть лечения при кровотечениях, оперативных вмешательствах, гематологических заболеваниях. Один из ее важнейших принципов – это обеспечение безопасности донора и реципиента посредством неукоснительного соблюдения отечественного законодательства в сфере донорства крови и (или) ее компонентов, оказания медицинской помощи по профилю «трансфузиология» [1, 2].

В настоящее время в России законодательно регламентировано внедрение в учреждениях службы крови системы безопасности, включающей в себя лабораторные испытания заготовленного биоматериала [3]. Показатели безопасности трансфузионных сред и периодичность их контроля утверждены Постановлением Правительства Российской Федерации от 22.06.2019 № 797, однако методы их оценки не определены [4]. Поскольку обязательным направлением деятельности лаборатории является повышение качества исследований, актуален выбор таких аналитических процедур, которые позволяют получать результаты, соответствующие нормам точности. Следовательно, для стандартизации методик тестирования гемокомпонентов целесообразно установить их перечень и основные метрологические характеристики. В связи с этим необхо-

димо провести обзор известных на сегодняшний день методов измерения гематологических параметров и рассмотреть возможность их применения для контроля качества компонентов крови, что и послужило целью данного исследования.

Материал и методы

Методология работы заключалась в теоретическом изучении лабораторных методов, практикуемых в трансфузиологии, их метрологических испытаниях, сравнительном анализе и оценке пригодности для обеспечения безопасности донорского биоматериала на основании проверки соответствия установленным критериям приемлемости. Было исследовано 14 проб свежезамороженной плазмы (СЗП), 42 эритроцитсодержащих компонента крови, 14 образцов концентрата тромбоцитов (КТ), 2 эталонных буферных раствора для рН-метрии (рН 6,86 и 9,18). Анализ каждой пробы проводили от 2 до 12 раз.

Концентрацию гемоглобина (общего и свободного) контролировали гемиглобинцианидным методом с использованием спектрофотометра РВ 1251С (ЗАО «Солар», Беларусь) и набора реагентов ГЕМОГЛОБИН-200-«С-Пб» (ООО «Фирма Синтакон», Россия); фотометрически на портативном приборе НемоСие Нб 201+ (НемоСие АВ, Швеция), оснащенном совместимыми с ним ми-

кроковетами; SLS-методом с помощью аппарата Sysmex XT-4000i (Sysmex Corporation, Япония, далее – гематологический анализатор) и комплекта реагентов для него, в том числе контрольных материалов СВС-ХЕ (L, N, H).

Для установления содержания свободного гемоглобина тестировали надсадочную жидкость, полученную разделением биоматериала на центрифуге лабораторной ЦЛ 1/3 (ООО «БФА», Россия) при 3000 об/мин в течение 15 мин. Гематокритное число находили путем определения общего объема эритроцитов методом кондуктометрии с гидродинамическим фокусированием на гематологическом анализаторе; унифицированным методом посредством обработки проб, помещенных в гематокритные капилляры (ООО «МиниМед», Россия), на центрифуге медицинской МРВ-215 (MPW Med.Instruments, Польша) при 8000 об/мин в течение 5 мин с последующим считыванием показаний с ридера гематокритного круглого, поставляемого вместе с оборудованием. Степень гемолиза рассчитывали исходя из содержания общего и свободного гемоглобина, показателя гематокрита [5].

Количество клеток крови оценивали унифицированным методом подсчета в 2-сеточной камере Горяева с использованием светового микроскопа «Микмед-1» (АО «ЛМО», Россия); кондуктометрически с применением гематологического анализатора; методом лазерной проточной цитофлуориметрии на аппарате BD FACS Canto™ II (BD Biosciences, США) с программным обеспечением FACS Diva, используя тест-системы того же производства (BD Leuco Count – для определения числа лейкоцитов в эритроцитсодержащих компонентах крови и КТ после лейкоредукции, BD Plasma Count – для контроля СЗП по показателю «Остаточное содержание клеток»).

Активность фактора VIII определяли одностадийным клоттинговым методом с помощью автоматического анализатора гемостаза STA Compact MAX (DIAGNOSTICA STAGO S.A.S, Франция, далее – коагулометр) и соответствующих реагентов, включая системную универсальную калибровочную плазму STA-Unicalibrator и контрольные материалы System Control N+P. Величину pH измеряли потенциометрически на pH-метре-милливольтметре pH-150M (ООО «Измерительная техника», Россия) с электродом сравнения ЭСЛ-15-11 и ионселективным электродом ЭВЛ-1М4041. Рабочие эталоны pH готовили из стандарт-титров 3-го разряда СТ-pH-04.3 (АО «НПП «Уралхиминвест», Россия).

Обязательными условиями выполнения лабораторных исследований являлись соблюдение рекомендаций фирм-изготовителей в отношении

режимов хранения и сроков годности тест-систем и химических реактивов, наличие действующих свидетельств о поверке средств измерений. При работе на гематологическом анализаторе и коагулометре реализация методик включала в себя внутрилабораторный контроль качества. Определению активности фактора VIII предшествовала калибровка, pH-метрии – анализ стандартных буферных растворов. Экспериментальные данные учитывали только в случае получения удовлетворительных результатов тестирования калибраторов и контрольных материалов.

С целью проверки нормальности распределения рассчитывали критерий Шапиро–Уилка. Значимость различий между двумя выборками оценивали по t-критерию Стьюдента. Для сравнения результатов, полученных тремя различными методами, применяли дисперсионный анализ ANOVA, обоснованность которого доказывали в Leven-test. Проверку статистических гипотез осуществляли при доверительной вероятности 95 %. Сходимость аналитических методик характеризовали коэффициентом вариации (CV, %).

Результаты и их обсуждение

На базе ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА» проведены метрологическая оценка и сравнительный анализ методов лабораторного тестирования компонентов крови [6–8]. Пригодность большинства из них доказана по итогам проверки на соответствие заданным критериям приемлемости, сформулированным на основании обзора литературы и действующих нормативных актов в области клинической лабораторной диагностики, гематологии и трансфузиологии, а также изучения сопроводительной документации на оборудование, инструкций по применению наборов реагентов.

Показано, что не обладают достаточной точностью фотометрическое определение содержания свободного гемоглобина, подсчет количества остаточных лейкоцитов в камере Горяева и на гематологическом анализаторе. Оценка концентрации общего гемоглобина на портативном анализаторе признана нецелесообразной.

Лазерная проточная цитофлуориметрия позволяет наиболее точно установить количество остаточных клеток крови. Концентрацию тромбоцитов в КТ допустимо контролировать кондуктометрически и путем подсчета в камере Горяева. В ходе испытаний эритроцитсодержащих гемоконпонентов содержание общего и свободного гемоглобина можно определять гемиглобинцианидным и SLS-методом, величину гематокрита – центрифугированием в гематокритных капилля-

Наименование компонента крови	Наименование показателя	Методика выполнения исследования	Приписанная характеристика сходимости, CV %
СЗП	Содержание фактора VIII	Клоттинговый метод	7,8
	Остаточное содержание клеток	эритроциты	18,8
		лейкоциты	29,9
		тромбоциты	21,2
Тромбоцитные компоненты крови	Содержание тромбоцитов	Унифицированный метод подсчета в 2-сеточной камере Горяева	18,6
		Метод кондуктометрии с гидродинамическим фокусированием	2,8
	Остаточное содержание лейкоцитов	Лазерная проточная цитофлуориметрия	17,5
	pH (при +22 °C) в конце срока годности	Потенциометрический метод	0,4
Эритроцитсодержащие компоненты крови	Содержание гемоглобина	Гемиглобинцианидный метод	3,0
		SLS-метод	0,5
	Гематокрит	Унифицированный метод центрифугирования в гематокритных капиллярах	1,8
		Метод кондуктометрии с гидродинамическим фокусированием (расчетный показатель)	1,9
	Гемолиз в конце срока годности (по результатам определения содержания свободного гемоглобина, расчетный показатель)	Гемиглобинцианидный метод	20,7
		SLS-метод	23,3
Остаточное содержание лейкоцитов	Лазерная проточная цитофлуориметрия	19,8	

рах и на гематологическом анализаторе. Доказана применимость потенциометрического измерения pH для обследования КТ, клоттингового теста для проверки активности фактора VIII в СЗП.

Полученная информация систематизирована. Исходя из требуемой чувствительности и прецизионности, определены оптимальные методики анализа показателей безопасности, рекомендуемые для применения в рамках системы менеджмента качества трансфузионных сред (см. таблицу).

Сделанные выводы сопоставимы с данными ФГБУ «НМИЦ им. академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, которые свидетельствуют о допустимости определения содержания остаточных клеток в плазме крови на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США) с использованием набора реагентов LeucoSure того же производства и нецелесообразности применения

для этих целей гематологического анализатора [9]. Однако другие аналитические методики контроля качества гемокомпонентов, практикуемые в нашей стране, метрологически не изучены, что говорит о значимости проделанной работы.

В Европейском руководстве по заготовке, использованию и обеспечению качества компонентов крови представлены критерии оценки показателей безопасности трансфузионных сред с указанием периодичности контроля. Сведения о возможных методах тестирования и их метрологических характеристиках в указанном документе не приведены [10]. Это еще раз подтверждает актуальность и инновационность настоящего исследования.

На основании полученных данных ФМБА России утверждены методические рекомендации «Методы контроля качества тромбоцитных компонентов крови», «Методы контроля качества

плазмы свежемороженой», «Методы контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови», разработан проект приказа «Об утверждении норм аналитической точности показателей качества компонентов крови». Перечисленные документы рекомендуются к использованию в учреждениях службы крови для организации контроля качества гемокомпонентов.

Заключение

При оказании медицинской помощи по профилю «трансфузиология» должны соблюдаться требования системы безопасности крови и ее компонентов, контроль качества которых обязателен. При этом одним из важнейших условий является обеспечение достоверности и воспроизводимости результатов лабораторных тестов посредством стандартизации аналитических процедур. В данном исследовании впервые в Российской Федерации теоретически и экспериментально обоснован выбор методик анализа показателей безопасности гемокомпонентов и установлены их приписанные характеристики сходности.

Список литературы

1. Федеральный закон «О донорстве крови и ее компонентов» от 20.07.2012 № 125-ФЗ. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_132904/
2. Приказ Минздрава России от 20.10.2020 № 1170н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению по профилю «трансфузиология»». Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74865386/>
3. Приказ Минздрава России от 26.10.2020 № 1148н «Об утверждении требований к организации системы безопасности деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов при заготовке, хранении, транспортировке и клиническом использовании донорской крови и (или) ее компонентов». Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74845109/>
4. Постановление Правительства Российской Федерации от 22.06.2019 № 797 «Об утверждении правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_328029/
5. Лабораторные методы контроля качества гемотрансфузионных средств в службе крови: методическое пособие. СПб., 2006. 31 с.
6. Никулина Н.С., Кормщикова Е.С., Калинина Е.Н., Исаева Н.В., Кривокорытова Т.В. Метрологическая оценка методик контроля показателей безопасности свежемороженой плазмы. В кн.: *Актуальные вопросы транс-*

фузиологии, онкогематологии и клеточной терапии: к 60-летию Кировского научно-исследовательского института гематологии и переливания крови. Киров: ООО «Флат-Принт», 2020. 44–56.

7. Никулина Н.С., Калинина Е.Н., Ноздрина Е.В., Исаева Н.В., Кривокорытова Т.В., Кормщикова Е.С. Метрологическая оценка методик контроля показателей безопасности концентратов тромбоцитов лейкоредуцированных. *Сиб. науч. мед. ж.* 2020;40(3):28–33. doi: 10.15372/SSMJ20200304

8. Никулина Н.С., Калинина Е.Н. Метрологическая оценка методик контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019;39(1):136–141. doi: 10.15372/SSMJ20190119

9. Козырева В.С., Шилова А.Н., Шкода О.В. Использование метода проточной цитометрии для контроля содержания остаточных лейкоцитов в плазме крови. *Гематол. и трансфузиол.* 2019;64(1):66–72. doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-66-72

10. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation No. R (95) 15. 20th Edition. Available at: <https://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato8291904.pdf>

References

1. Federal Law of the Russian Federation of July 20, 2012 No. 125-FZ «On the donation of blood and its components». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_132904/ [In Russian].
2. Order of the Minzdrav of Russia of October 20, 2020 No. 1170n «On approval of the procedure for providing medical care to the population on the profile «transfusiology»». Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74865386/> [In Russian].
3. Order of the Minzdrav of Russia of October 26, 2020 No. 1148n «On approval of the requirements for the organization of a safety system for the activities of subjects of circulation of donor blood and (or) its components during the procurement, storage, transportation and clinical use of donor blood and (or) its components». Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74845109/> [In Russian].
4. Resolution of the Government of the Russian Federation of June 22, 2019 No. 797 «On approval of the rules for the procurement, storage, transportation and clinical use of donor blood and its components». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_328029/ [In Russian].
5. Laboratory methods of quality control of hemotransfusion media in the blood service: Methodological guide. Saint-Petersburg, 2006. 31 p. [In Russian].
6. Nikulina N.S., Kormshchikova E.S., Kalinina E.N., Isaeva N.V., Krivokorytova T.V. Metrological assessment of control the safety of fresh frozen plasma. In: *Topical issues of transfusiology, hematology*

oncology and cell therapy: to the 60th anniversary of the Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion. Kirov: ООО «Flat-Print», 2020. 44–56. [In Russian].

7. Nikulina N.S., Kalinina E.N., Nozdrina E.V., Isaeva N.V., Krivokorytova T.V., Kormshchikova E.S. Metrological evaluation of methods for control the safety indicators of leukoreduced platelet concentrates. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020;40(3):28–33. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200304

8. Nikulina N.S., Kalinina E.N. Metrological evaluation of quality control methods of erythrocyte-containing blood components. *Sibirskiy nauchnyy me-*

ditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal. 2019;39(1):136–141. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190119

9. Kozyreva V.S., Shilova A.N., Shkoda O.S. Flow cytometry for measuring residual leukocytes in blood plasma. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2019;64(1):66–72. [In Russian]. doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-66-72

10. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation No. R (95) 15. 20th Edition. Available at: <https://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato8291904.pdf>

Сведения об авторах:

Елена Николаевна Калинина, ORCID: 0000-0001-9754-5522, e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Наталья Сергеевна Вильданова, ORCID: 0000-0002-0791-0571, e-mail: vildanova@niigpk.ru

Елена Сергеевна Кормщикова, ORCID: 0000-0002-8158-8445, e-mail: kormschikova@niigpk.ru

Екатерина Анатольевна Коновалова, ORCID: 0000-0001-8508-6365, e-mail: konovalovaea@niigpk.ru

Наталья Васильевна Исаева, к.б.н., ORCID: 0000-0001-9766-5137, e-mail: isaeva@niigpk.ru

Татьяна Валериевна Кривокорытова, ORCID: 0000-0002-6126-7337, e-mail: krivokorytova@niigpk.ru

Марина Евгеньевна Ковтунова, к.м.н., ORCID: 0000-0003-1065-9709, e-mail: kovtunova@niigpk.ru

Константин Анатольевич Воробьев, д.б.н., ORCID: 0000-0002-4386-5835, e-mail: vorobiev@niigpk.ru

Information about the authors:

Elena N. Kalinina, ORCID: 0000-0001-9754-5522, e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Nataliya S. Vildanova, ORCID: 0000-0002-0791-0571, e-mail: vildanova@niigpk.ru

Elena S. Kormshchikova, ORCID: 0000-0002-8158-8445, e-mail: kormschikova@niigpk.ru

Ekaterina A. Konovalova, ORCID: 0000-0001-8508-6365, e-mail: konovalovaea@niigpk.ru

Natalia V. Isaeva, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-9766-5137, e-mail: isaeva@niigpk.ru

Tatiana V. Krivokorytova, ORCID: 0000-0002-6126-7337, e-mail: krivokorytova@niigpk.ru

Marina E. Kovtunova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-1065-9709, e-mail: kovtunova@niigpk.ru

Konstantin A. Vorobiev, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0002-4386-5835, e-mail: vorobiev@niigpk.ru

Поступила в редакцию 29.09.2021

После доработки 14.12.2021

Принята к публикации 29.12.2021

Received 29.09.2021

Revision received 14.12.2021

Accepted 29.12.2021