МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

MINISTRY OF PUBLIC HEALTH OF UKRAINE
ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE

МЕТОДИКА
ПОВТОРНОГО ТЕСТУВАННЯ КРОВІ КАДРОВИХ ДОНОРІВ ПЛАЗМИ НА НАЯВНІСТЬ МАРКЕРІВ ГЕМОТРАНСМІСИВНИХ ІНФЕКЦІЙ

(ТИМЧАСОВА ІНСТРУКЦІЯ)

ПРОЕКТ

METHODS
OF REITERATIVE BLOOD TESTING OF REGULAR PLASMA DONORS ON AVAILABILITY OF MARKERS OF HAEMOTRANSMISSIBLE INFECTIONS

(TEMPORARY INSTRUCTION)

PROJECT

ЛЬВІВ – 2007
LVIV – 2007

Розробник:
ДУ "Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України"
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Список виконавців:

Директор ДУ ІПКТМ АМН України д-р мед. наук, проф., завідувач кафедри гематології та трансфузіології ЛНМУ ім. Данила Галицького	В.Л. Новак
Доцент кафедри гематології та трансфузіології ЛНМУ ім. Данила Галицького, канд. мед. наук	П.В. Гриза
Заступник директора ДУ ІПКТМ з поліклінічної роботи	В.І. Мосейчук
Лікар-лаборант Центру лабораторної діагностики та інфекційної безпеки крові	М.К. Полатайко

1. ВСТУП

Застосування компонентів донорської крові та виготовлених із них препаратів супроводжується потенційною небезпекою передачі реципієнтам ряду гемотрансмісивних інфекцій, зокрема таких, як ВІЛ/СНІД, вірусні гепатити, сифіліс, цитомегаловірусна інфекція, герпеси, пріонові захворювання тощо.

Сучасні методи імунологічної лабораторної діагностики, що застосовуються в службі крові для виявлення маркерів гемотрансмісивних інфекцій, на жаль, не гарантують їх досконалого виявлення через недостатню чутливість та специфічність використовуваних в Україні на даний час діагностикумів.

Результативність індикації маркерів гемотрансмісивних інфекцій значною мірою залежить від ступеня патогенності збудника та потенційної здатності організму донора на імунну відповідь, інформативності і якості діагностикумів, методів їх використання для скринінгу донорської крові.

Особливо утруднена, а подекуди неможлива, індикація маркерів у ранньому періоді інфекційного процесу, починаючи з моменту проникнення інфекційного агента в кров та на початковому етапі сероконверсії, коли кількість збудників трансмісивних інфекцій в крові донора незначна, а титр антитіл не досягає порога чутливості сучасних засобів діагностики імуноферментними методами.

Тому введення в практику методу обов'язкової карантинізації плазми донорів із наступним повторним тестуванням їх крові на наявність маркерів гемотрансмісивних інфекцій після закінчення встановленого терміну карантинізації плазми гарантуватиме, значно більшою мірою, інфекційну безпеку застосування донорської плазми та виготовлення з неї препаратів.

Вся донорська кров (плазма) підлягає обов'язковому тестуванню на наявність таких маркерів гемотрансмісивних інфекцій:

Антитіл до ВІЛ 1/2;

Антитіл до вірусу гепатиту С;

Антитіл до збудника сифілісу;

Поверхневого антигену (AbsAg) вірусу гепатиту В.

При розширенні обов'язкового об'єму первинного скринінгу донорської крові (плазми) відповідно буде змінюватись об'єм повторного тестування крові (плазми) кадрових донорів плазми.

2. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

2.1. Кадровий донор плазми в обов'язковому порядку підлягає повторному тестуванню крові на наявність маркерів ВІЛ / СНІДу, гепатитів В, С, сифілісу після закінчення встановленого терміну карантинізації його плазми.

2.2. Реалізація карантинізованої плазми без оцінки результатів повторного тестування крові кадрового донора категорично заборонена.

2.3. Повторне тестування проводиться в закладі служби крові, який здійснює карантинізацію його плазми.

2.4. Забезпечення повторного тестування проводиться з використанням одного з доступних способів, а саме:

– самостійним прибуттям донора у вказаний термін;

– активним викликом донора на момент закінчення терміну карантинізації його плазми;

– під час чергового плазмоздавання, якщо час його проведення збігається з закінченням терміну карантинізації його плазми.

2.5. Відповідальність за своєчасне повідомлення донора та його активний виклик покладається на завідувача донорським відділом закладу служби крові.

2.6. Повторне тестування крові донора на наявність маркерів гемотрансмісивних інфекцій, згідно з чинним законодавством, є добровільним актом і потребує обов'язкової його згоди.

2.7. Методика повторного тестування крові кадрового донора плазми проводиться ідентично до вимог щодо первинного скринінгу крові потенційного донора.

3. МЕТОДИКА ЗАБОРУ ЗРАЗКА КРОВІ

3.1. Забір зразка крові у донора на повторне тестування може проводитись:
– під час цілеспрямованого відвідування ним закладу служби крові;
– під час чергового здавання крові (плазми) кадровим донором.

3.2. Матеріалом для дослідження на наявність маркерів гемотрансмісивних інфекцій є сироватка або плазма крові донора.

3.3. Забір зразка крові проводиться з дотриманням персоналом правил: як асептики й антисептики, так і біологічної безпеки.

3.4. Зразок крові вважається потенційно небезпечним біологічним середовищем.

3.5. Забір зразка крові методом "сухої краплі" заборонено.

3.6. Для забору крові необхідно мати:
– стерильні пробірки (скляні або пластикові) ємністю 10 мл із гумовими (пластиковими) корками;
– стерильні скляні флакони з-під вмісту антибіотиків із гумовими корками;
– одноразові стерильні шприци на 10 мл, голки;
– розчин антисептика (70^0 етиловий спирт);
– бікс зі стерильними марлевими і ватними тампонами, пастерівськими піпетками чи скляними паличками;
– кровоспинний джгут;
– штатив для пробірок, бікс для доставки зразка;
– ущільнювач та абсорбційний матеріал.

3.7. Забір проводиться в спеціально виділеній кімнаті, що відповідає вимогам процедурного кабінету.

3.8. При відсутності такої кімнати використовується штатне місце для здавання крові (плазми) донором відповідного підрозділу закладу служби крові.

3.9. Для приготування зразка для дослідження беруть одноразовим стерильним шприцом 7-10 мл крові і переливають її у скляну стерильну суху пробірку, закривають гумовим корком і розміщують у штатив для пробірок.

3.10. В такому стані кров може зберігатись до 3-х год.

3.11. Якщо на доставку крові в лабораторію потрібно понад 3 год часу, тоді пробірку зі зразком крові ставлять в термостат на 30 хв при температурі +37 ^{0}С.

3.12. Після цього відокремлюють згусток від стінок пробірки окремою для кожного зразка стерильною пастерівською піпеткою або скляною паличкою.

3.13. Зразок крові на 2 год поміщають у холодильник при температурі +4-6 ^{0}С.

3.14. У випадку, коли сироватка недостатньо відділилась, зразок крові центрифугують 10 хв при 650g.

3.15. Сироватку переносять у стерильний скляний флакон із гумовим корком або пластикову пробірку з пластиковим корком. Об'єм сироватки повинен бути не менше 3 мл. Сироватки на згустку крові, які гемолізовані, хельозні, а також такі, що мають бактеріальний проріст, відправленню в лабораторію не підлягають.

3.16. Флакони або пробірки маркують номером, який відповідає номеру в журналі реєстрації лабораторних досліджень крові донорів ф.464о та номеру в скеруваннях на дослідження у відповідну лабораторію.

3.17. Зразки сироваток зберігаються до відправлення в лабораторію в холодильниках при температурі +4-6 ^{0}С.

3.18. Термін зберігання сироватки в холодильнику повинен бути якомога коротшим, не більшим 3-х діб від моменту забору крові.

3.19. Доставка зразків сироваток повинна проводитись у біксах або в спеціальних контейнерах, що забезпечують герметичність на випадок проливання зразка та з достатньою кількістю абсорбційного матеріалу.

3.20. У тих випадках, коли сироватка не може бути доставлена в лабораторію у визначений термін (3 доби), вона повинна знаходитися в морозильній камері побутового холодильника і в замороженому стані доставлена в лабораторію в спеціальному контейнері з холодоагентом, але не пізніше 7 доби від дати забору крові.

3.21. Транспортування сироваток здійснюється відповідно до п. 2.7. наказу МОЗ України від 25.05.2000р. № 120 "Про вдосконалення організації медичної допомоги хворим на ВІЛ-інфекцію / СНІД".

3.22. Забір зразка крові при черговому кровоздаванні (плазмоздаванні) проводиться в ході процедури забору відповідно до вказаної методики.

3.23. Заново взята доза плазми від кадрового донора, що прибув на повторне тестування на наявність гемотрансмісивних інфекцій, підлягає обов'язковій карантинізації.

3.24. Зразки сироваток крові на місці їх забору реєструють у спеціальному журналі і разом з двома примірниками скерувань передають у лабораторію.

3.25. Знезараження і знищення розхідного матеріалу після забору зразків проводять відповідно до керівних документів.

3.26. Контроль за організацією забору та підготовкою зразків сироваток для досліджень покладається на керівника закладу служби крові, де проводиться забір крові.

4. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ЗРАЗКА СИРОВАТКИ

4.1. Дослідження проводиться у відповідних акредитованих лабораторіях закладів служби крові.

4.2. Для проведення повторного тестування крові кадрових донорів плазми застосовується метод імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням наборів імуноферментних тест-систем на твердофазній основі. При проведенні досліджень на наявність маркерів ВІЛ-інфекції використовуються імуноферментні тест-системи, які одночасно виявляють антиген і сумарні антитіла до ВІЛ 1/2.

4.3. Імуноферментні тест-системи повинні бути зареєстровані і дозволені до використання в Україні.

4.4. Використання діагностикумів допускається в межах терміну їх придатності за умови правильного транспортування та зберігання.

4.5. Застосування імуноферментних "швидких тестів" для проведення визначення маркерів гемотрансмісивних інфекцій при повторному тестуванні кадрових донорів плазми заборонено.

4.6. Дослідження проводяться згідно з інструкцією виробника до відповідного набору імуноферментної тест-системи.

4.7. Засоби вимірювальної техніки, що використовуються для досліджень, повинні бути вчасно перевірені та атестовані.

4.8. Кожна аналітична серія досліджень повинна включати внутрішній контроль за якістю проведеного аналізу.

4.9. Дослідженню не підлягають зразки таких сироваток крові:

– гемолізовані;
– хельозні;
– на згустку крові;
– з бактерійним проростом;
– які перевищили встановлені терміни й умови зберігання та транспортування.

5. ОЦІНКА ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

5.1. Спочатку оцінюються результати вимірів контрольних матеріалів, що використовувалися в даній аналітичній серії досліджень.

5.2. Показники їх оптичної щільності повинні відповідати параметрам, що вказані в інструкції з використання тест-системи, чи паспортам на застосовані контрольні матеріали.

5.3. Розраховують середнє арифметичне значення оптичної щільності (ОЩ) для лунок серонегативного контролю (ОЩ сер. К-) та для серопозитивного контролю (ОЩ сер. К+), залежно від використовуваної тест-системи та автоматизації процесу вимірювання фізичних величин.

5.4. Проведення аналізу вважають коректним, якщо вказані величини відповідають вимогам інструкцій з використання тест-систем.

5.5. Оцінка показників дослідження контрольних матеріалів, які були застосовані для внутрішнього лабораторного контролю за якістю, проводиться згідно з інструкцією до використання контрольних матеріалів.

5.6. Граничне значення оптичної щільності (ГЗ) розраховують, задаючи константну величину, визначену інструкцією з використання тест-системи, до значення ОЩ сер. К - , або обчислюється автоматично, згідно із заданою програмою відповідного фотометра.

5.7. “Сіра зона” – зона значень ОЩ, яка простягається від ГЗ до значень, менших від неї на 10 % включно.

5.8. Результати аналізу вважають негативними, якщо значення ОЩ досліджуваного зразка менше значення рівня ОЩ “сірої зони”.

5.9. Результати аналізу вважають позитивними, якщо значення ОЩ досліджуваного зразка більше ГЗ.

5.10. Зразки, які мають значення ОЩ в межах “сірої зони”, вважають не визначеними.

5.11. Зразки, що дали позитивний або не визначений результат, необхідно досліджувати повторно не менше ніж у двох лунках на тій же серії тест-системи.

5.12. Зразки, позитивні при повторному дослідженні в одній або більше лунках, вважаються умовно позитивними.

5.13. Зразки, негативні в двох або в усіх лунках при повторному аналізі, слід вважати негативними.

5.14. Всі зразки сироваток, що при повторному аналізі виявили себе як умовно позитивні на наявність антитіл до ВІЛ / СНІДу, вірусу гепатиту С, збудника сифілісу, поверхневого антигену вірусу гепатиту В, підлягають перевірці підтверджувальними тестами (методами). Про направлення зразка сироватки на верифікаційні дослідження роблять відповідний запис у журналі лабораторії. У скеруванні на дослідження робиться такий запис: “Кадровий донор плазми”. Донору повідомляють, що зразок його крові підлягає досконалішому дослідженню іншими методами. До отримання підтверджувальних результатів кадровий донор тимчасово відсторонюється від здавання крові або її компонентів.

5.15. Проведення підтверджувальних (верифікаційних) досліджень на наявність маркерів вірусних гепатитів В і С покладається на лабораторію закладу служби крові з обов’язковим використанням спеціальних підтверджувальних тестів методом ІФА.

5.16. Проведення підтверджувальних (верифікаційних) досліджень на наявність маркерів ВІЛ / СНІДу покладається на лабораторії, визначені МОЗ України з обов’язковим використанням методу імуноблоту або полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

5.17. Проведення підтверджувальних досліджень на наявність маркерів сифілісу проводиться в лабораторіях закладу служби крові або шкірно-венерологічних закладах одним з альтернативних методів до ІФА.

5.18. Карантинізована плазма кадрових донорів, зразки сироваток яких визначені як негативні при підтверджувальних (верифікаційних) дослідженнях, може використовуватись без обмежень.

5.19. Карантинізована плазма кадрових донорів, зразки сироваток яких визначені як позитивні при підтверджувальних (верифікаційних) дослідженнях, відносять до абсолютного браку і знищують відповідно до інструкції. Плазма, період карантинізації якої ще не закінчився, знімається з карантинізації достроково, зараховується до абсолютного браку і підлягає знищенню.

5.20. Результати підтверджувальних досліджень заносяться до відповідних облікових документів лабораторії та бланків скерувань, один примірник якого направляється в підрозділ, що проводив забір зразка крові, другий – у відділення карантинізації плазми.

5.21. Кадрові донори плазми, при виявленні у них маркерів трансмісивних інфекцій, знімаються з обліку донорів пожиттєво, про що вносяться відповідні дані в реєстри, про них повідомляються санітарно-епідеміологічні заклади (шкірно-венерологічні) за місцем проживання з дотриманням правил нерозголошення лікарської таємниці.

5.22. При отриманні відповіді з лабораторії, що проводила верифікаційні дослідження, що свідчить про відсутність антитіл до ВІЛ 1/2 у кадрового донора плазми, наступне плазмоздавання може бути здійснено через шість місяців.

5.23. Забрана через шість місяців плазма зберігається у свіжозамороженому вигляді до отримання негативного результату обов’язкового верифікаційного дослідження. Первинний скринінг зразка крові проводиться за встановленою методикою та об’ємом.

5.24. Після отримання негативних результатів плазма кадрового донора підлягає карантинізації протягом 6 місяців з моменту її забору.

5.25. Інфіковану плазму кадрових донорів плазми дозволяється використовувати в науково-дослідницьких цілях, для приготування стандартних (контрольних) матеріалів тощо, з дотриманням вимог чинного законодавства та правил біологічної безпеки.

5.26. Інфіковані кадрові донори плазми мають право на отримання повної медичної інформації, що їх стосується, та консультативно-лікувальної допомоги на загальних підставах.

6. КОНТРОЛЬ ЗА ЯКІСТЮ ДОСЛІДЖЕНЬ МЕТОДОМ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ (ІФА)

6.1. Контроль за якістю досліджень проводиться в кожній аналітичній серії дослідження на основі вимог "Настанови з якості" конкретної лабораторії.

6.2. Для контролю за якістю можуть бути використані такі контрольні матеріали:

– контрольний матеріал (К-), що входить до складу набору імуноферментної тест-системи;
– контрольний матеріал (К+), що входить до складу набору імуноферментної тест-системи;
– контрольний матеріал (серопозитивний і серонегативний), приготований в лабораторії, що проводить дослідження;
– контрольний стандартний матеріал промислового виробництва, що зареєстрований і дозволений до використання в Україні з метою контролю за якістю імуноферментного аналізу;
– контрольний матеріал, приготований в референс-лабораторії, який дозволений до використання МОЗ України.

6.3. Контрольні (стандартні) матеріали промислового виробництва застосовуються для внутрішнього лабораторного контролю за якістю дослідження, для зовнішньолабораторного контролю за якістю і вхідного контролю за якістю доставлених партій тест-систем виробником.

6.4. Контрольний матеріал, що приготовлений в референтній лабораторії, також може застосовуватися для зовнішньолабораторного контролю за якістю.

6.5. Контрольний матеріал промислового виробництва повинен мати паспорт, всі інші – інструкцію з їх використання і оцінки отриманих результатів дослідження.

6.6. Оцінка отриманих показників досліджень контрольних матеріалів проводиться згідно з інструкцією (паспортом) з їх використання.

6.7. Документальне оформлення результатів контролю за якістю проводиться в "Журналі реєстрації результатів обстеження донорської крові на гемотрансмісивні інфекції" ф. 495о та відповідних протоколах.

6.8.Відповідальність за організацію, проведення і оцінку результатів контролю за якістю несуть завідувачі лабораторії та лікар-лаборант, який призначений керівником закладу відповідальною посадовою особою за проведення контролю якості в лабораторії.

7. ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ВИКОНАВЦІВ

7.1. Відповідальність за правильне оформлення облікової документації, підготовку та якість зразків сироватки на дослідження несуть медичні працівники, які здійснювали їх забір.

7.2. Відповідальність за об'єктивність отриманих результатів досліджень покладається на завідувача діагностичної лабораторії та на конкретного виконавця імуноферментного аналізу.

7.3. Винні в розголошенні лікарської (медичної) таємниці несуть відповідальність згідно з чинним законодавством.

7.4. Відповідальність за знезараження і знищення інфікованої плазми несуть завідувач відділу карантинізації плазми та керівник закладу служби крові.

8. ЗАКЛЮЧНІ ПОЛОЖЕННЯ

8.1. У тимчасовій інструкції проведені зміни щодо рекомендованої стратегії ВООЗ із вибору і використання методів визначення антитіл до ВІЛ 1/2.

8.2. Задекларовані зміни викликані такими чинниками:

– відсутністю достатнього фінансування закладів служби крові України;
– недостатньою якістю застосовуваних імуноферментних тест-систем;
– введенням обов'язкової карантинізації плазми кадрових донорів;
– обов'язковим включенням до верифікаційних досліджень методів імуноблоту та ПЛР при дослідженні сироватки на наявність анти-ВІЛ та підтверджувальних тестів при визначенні маркерів гепатитів В, С і сифілісу;
– необхідністю збереження кадрового потенціалу в донорстві.

8.3. Тимчасова інструкція застосовується виключно для повторного тестування крові кадрових донорів плазми після закінчення встановленого періоду її карантинізації.