

ЗБЕРІГАННЯ ЕРИТРОЦИТАРНОЇ МАСИ КОНЕЙ ТА КОНТРОЛЬ ЇЇ СТЕРИЛЬНОСТІ

Д. В. ТАРНАВСЬКИЙ, асистент

E-mail: targal@ukr.net

О. В. ЄГОРОВ, аспірант

E-mail: o.yehorov@it.nubip.edu.ua

М. О. МАЛЮК, доктор ветеринарних наук, доцент

E-mail: nikolai_malyuk@ukr.net

Г. В. КОЗЛОВСЬКА кандидат доктор ветеринарних наук, доцент

E-mail: kozlovska@nubip.edu.ua

Національний університет біоресурсів і природокористування України

<https://doi.org/10.31548/dopovid2022.06.008>

Анотація. На даний час переливання крові слід розцінювати як операцію трансплантації тканини організму з усіма наслідками – можливим відторгненням клітинних і плазмових компонентів крові, розвитком алосенсибілізації до антигенів клітин крові і білків плазми, а також, при імунodefіцитному стані хворого, можливим розвитком життєво небезпечної реакції "Трансплантат проти господаря".

Еритроцитна маса - трансфузійне середовище, що містить не менше 70 % еритроцитів, що є оптимальною в терапії анемічного синдрому. При рівних обсягах порівняно з цільною кров'ю еритроцитарна маса містить більшу кількість еритроцитів, але значно менше цитрату, продуктів розпаду клітин, клітинних та білкових антигенів та антитіл. Трансфузії еритроцитарної маси займають чільне місце в трансфузійній терапії, що має на меті заповнення дефіциту еритроцитів при анемічних станах.

Нами було дослідження 5 зразків консервованої еритроцитарної маси від клінічно здорових коней. Кров відбирали закритим методом з наступним відділенням еритроцитарної маси центрифугуванням. Зберігали масу в холодильнику при температурі 2-6°C впродовж 30 діб.

Посів кожного зразка проводили у товщу поживного середовища. Посіви в тіогліколевому середовищі і контрольні пробірки інкубували у термостаті за температури 20-25°C і за температури 30-35°C, з середовищем Сабуро – за температури 20-25°C. Термін інкубації посівів у термостаті в обох поживних середовищах становив 14 діб.

За результатами бактеріологічного дослідження проб еритроцитарної маси коней після їхнього зберігання, жодної нестерильної проби не було виявлено.

Отже, метод забору крові з використанням закритих систем, є надійним та дає змогу одержувати донорську кров та компоненти крові без втрати стерильності за тривалого терміну зберігання.

Ключові слова: еритроцитарна маса крові коней, мікробна контамінація, стерильність донорської крові

Актуальність. Переливання цільної крові або клітин крові показані при лікуванні гострої кровотечі або важкої анемії у коней. Переливання крові у коней не часто проводиться, тому практикуючі лікарі повинні бути готові відібрати кров та використати її належним чином як один із заходів збереження життя. Є деякі важливі відмінності в зберіганні, попередньому перед-трансфузійному тестуванні та використанні крові коней в порівнянні з дрібними тваринами.

Переливання компонентів крові – це лікувальний процес, що полягає у введенні в кровоносне русло хворого донорської крові та/або її компонентів, заготовлених від донора чи самого реципієнта.

Операція по переливанню компонентів крові супроводжується для реципієнта як позитивними, так і негативними наслідками. При переливанні незбираної консервованої крові, особливо тривалих (більше 7 доби) термінів зберігання, реципієнт отримує поряд з необхідними йому компонентами функціонально неповноцінні тромбоцити, продукти розпаду лейкоцитів, антитіла та антигени, які можуть стати причиною посттрансфузійних реакцій та ускладнень.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Відколи було встановлено, що трансфузії крові та її компонентів можуть стати джерелом інфекційних захворювань (Allain, J 2005), проводяться спроби уникнути передачі патогенів. Забезпечення безпечних трансфузій, за визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я, є обов'язком органів охорони здоров'я кожної країни.

На сьогоднішній день розроблено велику кількість методів профілактики трансфузійної передачі інфекцій: анкетування та скринінг донорів, високочутливі тести ідентифікації інфекційних агентів, високоефективні антисептики для обробки шкіри в місці венепункції, удосконалені системи та технології заготівлі крові та її компонентів, карантізація плазми, посіви компонентів крові на бактеріальну культуру (Allain, J, Busch, M., 2006). Однак, не дивлячись на досягнуті успіхи, ризик інфікування не виключено.

Бактеріальна контамінація найчастіше виникає при венепункції, однак може статися на будь-якому технологічному етапі заготівлі компонентів крові і тому є константно присутньою загрозою безпеки реципієнтів.

Зберігання у холодних умовах перешкоджає зростанню чи знищує деякі бактерії, що робить еритроцитарні компоненти більш безпечними на відміну від тромбоцитних компонентів, що зберігаються за кімнатної температури (Brecher, M 2005). Найбільш частим джерелом бактеріального забруднення продуктів крові є шкіра в місці пункції вени (de Korte, D 2002). Методи дезінфекції шкіри постійно удосконалюються, але усунули фактор контамінації повністю не вдається (de Korte, D 2002, de Korte, D 2005).

Прихована бактеріємія донорів також може бути джерелом бактеріального забруднення продуктів крові, хоча трапляється вкрай рідко. Найчастіше джерелом бактеріємії донорів є доброякісна флора кишкового. Концентрація бактерій за прихованої бактеріємії у донорів, як правило, низька і становить менше 10 КУО (колонієутворююча одиниця)/мл. Це пов'язано з тим, що виражена бактеріємія супроводжується відповідною клінічною картиною (лихоманка, шок та ін.) (Goodrich, R 2010).

У процесі донорії компоненти крові зазвичай забруднюються невеликою кількістю бактерій, близько 10-100 КУО (колонієутворююча одиниця) [Brecher, M 2000]. Найчастішими

причинами (80-90 % випадків) фатальних результатів, пов'язаних з нестерильною трансфузією, є наступні мікроорганізми: *Staphylococcus spp.*, *E. coli*, *B. cereus*, *Y. enterocolitica*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* та *P. acnes*. Тому важливе клінічне значення мають методи інактивації саме цих бактерій (Goodrich, R 2009).

Мета дослідження. Здійснити дослідження проб еритроцитарної маси крові коней на стерильність після їх гіпотермічного зберігання впродовж 30 діб.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалом для дослідження були зразки еритроцитарної маси крові від 5 коней. Відбір проб крові проводили з врахуванням законів асептики та антисептики.

Обробка шкіри операційного поля.

1. Йодонат являє собою йодофор, в якому в якості носія йоду використовується суміш алкилсульфатів натрію. Йодонат має бактерицидну, фунгіцидну і спороцидну дію. Випускається у флаконах у 5 % концентрації вільного йоду.

Для обробки операційного поля робочий розчин йодоната (1 % від вільного йоду) готують *ex tempore* шляхом розведення вихідного розчину в 5 раз стерильної води. Шкіру операційного поля донора обробляють двократно ватними

Тарнавський Д. В., Сторов О. В., Малюк М. О., Козловська Г. В.

тампонами, змоченими в 5 мл 1 % розчину йодоната.

2. Хлоргексидин біглюконат. Шкіру двократно протирають ватними тампонами, змоченими в 0,5 % спиртовому розчині хлоргексидину.

3. Йодопирон. Операційне поле обробляють двократно ватними тампонами, змоченими по 5-7 мл 1 % розчину йодопірону.

Обробка рук персоналу.

1. Хлоргексидин біглюконат (гібітан) володіє антибактеріальними властивостями. Випускається у вигляді 20 % водного розчину в скляних бутілках ємністю до 500 мл. Для обробки рук використовують 0,5 % спиртового розчину препарату. Для отримання розчину препарат розводять у 70 % спирті у співвідношенні 1:40. Після попереднього миття рук з милом і подальшого висушування стерильною салфеткою руки обробляють ватними тампонами, змоченими в 0,5 % спиртовому

розчині хлоргексидину протягом 2-3 хвилин.

2. Йодопирон являє собою суміш йоду з полівінілпіролідом. Препарат володіє бактерицидною активністю, виробляється у флаконах. У порівнянні з йодом має ряд переваг: розчинений у воді, стійкий при збереженні, не токсичний, не має запаху, не викликає алергічних шкірних проявів. Для обробки рук використовують 0,1 % розчин йодопірону. Після попереднього миття рук з милом і після висушування стерильною салфеткою, руки обробляють протягом 2-3 хв ватними тампонами, змоченими в 5 мл 0,1 % розчину йодопірону.

Донорська кров коней була заготовлена закритим методом в подвійні полімерні контейнери з CPDA (рис. 1), та після центрифугування при 2500 об/хв впродовж 20 хв була відділена плазма та отримана еритроцитарна маса крові коней (рис. 2).



Рис.1 Відбір крові у коня-донора

Зразки зберігались за температури 2-6°C впродовж 30 діб в умовах холодильної камери (рис. 3). По закінченню терміну зберігання зразки були направлені на бактеріологічне дослідження, яке проводили згідно затвердженої Інструкції МОЗ України. Посів кожного зразка проводили у товщу поживного середовища. Кожен зразок засівали по 1 мл кожного у дві пробірки, які містять по 20 мл тіогліколевого середовища та одну пробірку з 20 мл середовища Сабура (рідкого). Паралельно дві пробірки з тіогліколевим середовищем і одну з середовищем Сабура залишали

незасіяними для контролю стерильності поживних середовищ на весь період інкубації досліджуваних зразків. Посіви в тіогліколевому середовищі і контрольні пробірки інкубували у термостаті за температури 20-25°C і за температури 30-35°C, з середовищем Сабура - за

температури 20-25°C. Термін інкубації посівів у термостаті в обох поживних середовищах становив 14 діб. Посіви переглядали щоденно. Наявність росту мікроорганізмів у поживних середовищах оцінювали візуально макро- і мікроскопічно.



Рисунок 2. Розділення крові на компоненти

Результати дослідження. У результаті проведених досліджень нами було досліджено 5 проб консервованої еритроцитарної маси крові коней, які були використані в якості донорів в умовах ННЛ «Банк крові тварин» НУБіП України та Кінно- спортивний Клуб «Магнат», село Чубинське, Київська область,



Рисунок 3. Еритроцитарна маса коня в холодильній камері

Україна. Дані проби крові були досліджені на стерильність через 30 діб зберігання за температури 2-6 °C в холодильній камері.

Впродовж гіпотермічного зберігання при зовнішньому огляді полімерних контейнерів з дослідними зразками еритроцитарної маси коней, у жодному з них не було виявлено

ознак бактеріального росту: зміни кольору крові від темно-бузкового до світло-червоного чи зеленого, ознак гемолізу верхніх шарів еритроцитарної маси, наявність видимих згустків.

Результати бактеріологічного дослідження зразків еритроцитарної маси за використання тіогліколевого середовища і середовища Сабуро

показали, що всі 5 дослідних зразків з терміном зберігання 30 діб були стерильні. Результати досліджень вносили у журнал у вигляді таблиці

Встановлено, що ріст мікроорганізмів в усіх поживних середовищах був відсутній. Тобто усі досліджувані зразки еритроцитарної маси крові коней відповідають вимогам стерильності.

1. Результати дослідження зразків на стерильність

Тварина	Контамінація	Ступінь контамінації
1	–	–
2	–	–
3	–	–
4	–	–
5	–	–

*Примітка: – - забруднення відсутнє, + - контамінація має місце, * - слабка ступінь, ** - помірна ступінь, *** - значна контамінація*

Висновки.

За результатами бактеріологічного дослідження зразків еритроцитарної маси коней, які зберігалися впродовж 30 діб встановлено, що усі досліджувані зразки еритроцитарної маси крові коней відповідають вимогам стерильності.

Результати наших досліджень стверджують, що закритий спосіб відбору крові у коней із дотриманням вимог асептики і антисептики та умови зберігання еритроцитарної маси в умовах ННЛ «Банк крові тварин» НУБіП України є безпечними щодо можливої її контамінації.

Список використаних джерел

1. Allain, J., Bianco, C., Blajchman, M., Brecher, M., Busch, M., Leiby, D., Lin, L., Stramer, S. Protecting the blood supply from emerging pathogens: the role of pathogen inactivation. *Transfusion Medicine Reviews*. 2005. 19. p. 110–126.
2. Busch, M. Transfusion-transmitted viral infections: building bridges to transfusion medicine to reduce risks and understand epidemiology and pathogenesis. *Transfusion*. 2006. 46(9). p.1624-1640

3. Brecher, M., Hay, S. Bacterial contamination of blood components. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005. 18. p. 195-204.

4. de Korte, D., Marcelis, J., Verhoeven, A., Soeterboek, A. Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole blood collections. *Vox Sanguinis*. 2002. 83. p. 13-16.

5. de Korte, D., Curvers, J., de Kort, W., Hoekstra, T., van der Poel, C., Beckers, E., Marcelis, J. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on

Тарнавський Д. В., Єгоров О. В., Малюк М. О., Козловська Г. В.

clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion*. 2006. 46. p. 476-485.

6. Brecher, M., Holland, P., Pineda, A., Tegtmeier, G., Yomtovian, R. Growth of bacteria in inoculated platelets: implications for bacteria detection and the extension of platelet storage. *Transfusion*. 2000. 40. p. 1308-1312

7. Goodrich, R., Custer, B., Keil, S., Busch, M. Defining «adequate» pathogen reduction performance for transfused blood components. *Transfusion*. 2010. 50(8). p. 1827-1837.

8. Goodrich, R., Gilmour, D., Hovenga, N., Keil, S. A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion*. 2009. 49. p. 1205-1216.

References

1. Allain, J., Bianco, C., Blajchman, M., Brecher, M., Busch, M., Leiby, D., Lin, L., Stramer, S. (2005). Protecting the blood supply from emerging pathogens: the role of pathogen inactivation. *Transfusion Medicine Reviews*. 19. p. 110–126.

2. Busch, M. (2006). Transfusion-transmitted viral infections: building bridges to transfusion medicine to reduce risks and understand epidemiology and pathogenesis. *Transfusion*. 46(9). p.1624-1640

3. Brecher, M., Hay, S. (2005). Bacterial contamination of blood components. *Clinical Microbiology Reviews*. 18. p. 195-204.

4. de Korte, D., Marcelis, J., Verhoeven, A., Soeterboek, A. (2002). Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole blood collections. *Vox Sanguinis*. 83. p. 13-16.

5. de Korte, D., Curvers, J., de Kort, W., Hoekstra, T., van der Poel, C, Beckers, E., Marcelis, J. (2006). Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion*. 46. p. 476-485.

6. Brecher, M., Holland, P., Pineda, A., Tegtmeier, G., Yomtovian, R. (2000). Growth of bacteria in inoculated platelets: implications for bacteria detection and the extension of platelet storage. *Transfusion*. 40. p. 1308-1312

7. Goodrich, R., Custer, B., Keil, S., Busch, M. (2010). Defining «adequate» pathogen reduction performance for transfused blood components. *Transfusion*. 50(8). p. 1827-1837.

8. Goodrich, R., Gilmour, D., Hovenga, N., Keil, S. (2009). A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion*. 49. p. 1205-1216.

STORAGE OF ERYTHROCYTE MASS OF HORSES AND CONTROL OF ITS STERILITY

D. V. Tarnavskiy, O. V. Egorov, M. O. Malyuk, G. V. Kozlovskaya

Abstract. *Currently, blood transfusion should be considered as a tissue transplantation operation with all the consequences - possible rejection of cellular and plasma components of blood, development of allosensitization to antigens of blood cells and plasma proteins, as well as, in the case of an immunodeficient patient, the possible development of a life-threatening reaction "Transplant against host".*

Erythrocyte mass is a transfusion medium containing at least 70% erythrocytes, which is optimal in the treatment of anemic syndrome. At equal volumes compared to whole blood, the erythrocyte mass contains a larger number of erythrocytes, but significantly less citrate, products of cell decay, cellular and protein antigens, and antibodies. Transfusions of erythrocyte mass occupy a prominent place in transfusion therapy, which aims to fill the deficiency of erythrocytes in anemic conditions.

We studied 5 samples of preserved erythrocyte mass from clinically healthy horses. Blood was collected by a closed method followed by separation of the

Тарнавський Д. В., Єгоров О. В., Малюк М. О., Козловська Г. В.

erythrocyte mass by centrifugation. The mass was stored in a refrigerator at a temperature of 2-6°C for 30 days.

Sowing of each sample was carried out in the thickness of the nutrient medium. Cultures in a thioglycol medium and control tubes were incubated in a thermostat at a temperature of 20-25°C and at a temperature of 30-35°C, with a Sabouraud medium at a temperature of 20-25°C. The term of incubation of crops in a thermostat in both nutrient media was 14 days.

According to the results of bacteriological examination of samples of erythrocyte mass of horses after their storage, not a single non-sterile sample was found.

Therefore, the method of blood collection using closed systems is reliable and makes it possible to receive donor blood and blood components without loss of sterility during a long storage period.

Key words: *erythrocyte mass of horse blood, microbial contamination, sterility of donor blood*