

不同制备工艺对去白细胞悬浮红细胞质量的影响

何 红, 蔡 兰, 李玉英, 代 静(四川省攀枝花市中心血站 617067)

【摘要】 目的 评价不同制备工艺对去白细胞悬浮红细胞结果的影响。方法 使用同一厂家的一次性使用滤除白细胞型血袋, 分别对全血采集后室温 2 h 内和 2~6 °C 冷藏 2 h 后的全血进行过滤, 比较过滤时间、过滤损失血量、红细胞比容(Hct)、红细胞容量、白细胞残留量、游离血红蛋白浓度、红细胞溶血率等指标。结果 采集后室温 2 h 内及在 2~6 °C 冷藏 2 h 后对全血进行过滤, 过滤时间、过滤损失血量、红细胞容量比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); Hct、白细胞残留量、游离血红蛋白浓度、红细胞溶血率的结果均符合国家标准, 但差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 应选用室温 2 h 内的血液进行去白细胞悬浮红细胞的制备。

【关键词】 制备工艺; 白细胞过滤; 质量

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.10.022 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)10-1357-02

Influence of different preparation processes on quality of leukocyte-reduced suspended red blood cells HE Hong, CAI Lan, LI Yu-ying, DAI Jing (Panzhihua Municipal Blood Center, Panzhihua, Sichuan 617067, China)

【Abstract】 **Objective** To evaluate the influence of different processes on the results of leukocyte-reduced suspended red blood cells. **Methods** The one-time filtering leukocyte blood bag produced by the same manufacturer was used to filter the whole blood within 2 h after collection and cold storage for 2 h at 2-6 °C. The indicators of filtering time, blood loss volume, hematocrit (Hct), RBC volume, leukocyte residues, free hemoglobin concentration, RBC hemolytic rate were compared. **Results** The whole blood was filtered within 2 h after collection and storage for 2 h at 2-6 °C. The filtering time, blood loss volume and RBC volume had statistical difference ($P < 0.05$); Hct, leukocyte residues, free hemoglobin concentration and RBC hemolytic rate were accord with the national standard, but the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Blood within 2 h under the room temperature should be selected to prepare leukocytes-reduced suspended RBC.

【Key words】 preparation processes; filtering out leukocytes; quality

去白细胞悬浮红细胞是使用一次性去白细胞血袋过滤全血后制备而成, 在临床输血治疗中较为常用。可显著降低非溶血性发热反应、同种异体免疫反应、血小板输注无效、免疫抑制、移植物抗宿主病及病毒感染等输血相关疾病的发生^[1]。在制备去白细胞悬浮红细胞过程中, 国内采供血机构主要采用全血冷藏后进行过滤(冷血过滤)或全血未经冷藏直接过滤(热血过滤)2种制备工艺, 但是这2种制备工艺对去白细胞悬浮红细胞质量究竟有何影响, 却少见文献报道。因此本文对目前常规使用的去白细胞悬浮红细胞制备工艺流程进行分析和评价, 为优化制备流程, 进而保证去白细胞悬浮红细胞的质量提供理论和实践基础。现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料 采用费森尤斯(卡比)生产的 400 mL 一次性使用滤除白细胞型血袋(批号 85HK27FA00)。

1.2 仪器与试剂 离心机(HITACHI, CR7), 滤白柜(Panasonic, MBC-60)、血浆分浆夹、热合机、无菌接管机、全自动血细胞分析仪(MEDONIC, CA620)、显微镜(OLYMPUS, CX31)、Nageotte 血细胞计数盘, 紫外可见分光光度计(UV3100), 计重秤(ACS 型)。Turk 白细胞稀释液(北京瑞尔达, 批号 150608), 血浆游离血红蛋白试剂盒(北京瑞尔达, 批号 150504)。

1.3 方法 (1)在一次性使用滤除白细胞型四联血袋的质控抽检检查过程中, 按成分制备的悬浮红细胞的规格尺寸, 分别截取白细胞滤器及管路、血袋空袋, 称重后记录。(2)使用一

次性使用滤除白细胞型四联血袋采集足量的全血 400 mL, 采集完毕后, 由采血人员在采血袋上注明采血时间, 将采集的血液分为 2 组: A 组(50 袋), 将采集的血液置放于室温(20~25 °C); B 组(50 袋), 将血液置放于 2~6 °C 冰箱中贮存。(3)血液回站后, 对每袋全血称重后于 4 °C 滤白柜进行过滤, 对照采血袋上注明的采血时间, 均保证室温保存的全血在血液采集 2 h 内进行过滤, 2~6 °C 保存的全血在 2 h 后进行过滤, 同时记录血液起始过滤时间及过滤所用时间。使用同一离心机和离心条件进行去白细胞悬浮红细胞的制备, 分别对滤器及管路和制备完成的去白细胞悬浮红细胞进行称重, 根据称重数据计算过滤过程中损失血量(密度按全血密度 1.05 g/mL 计算)及去白细胞悬浮红细胞容量(密度按 1.06 g/mL 计算)。(4)去白细胞悬浮红细胞混匀后采用无菌接口机进行留样, 使用留样血样分别测定过滤后红细胞比容(Hct)、白细胞残留量、游离血红蛋白浓度、红细胞溶血率。留样后的去白细胞悬浮红细胞于 2~6 °C 保存, 于保存期末再次留样测定红细胞溶血率。

1.4 统计学处理 使用 CS14.0 统计软件进行数据处理和分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组血液过滤时间、过滤损失血量、Hct 及去白细胞悬浮红细胞容量比较 血液采集后 A 组与 B 组在过滤时间、过滤损失血量、Hct、去白细胞悬浮红细胞容量方面比较, A 组的结果均优于 B 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2 组血液过滤时间、过滤损失血量、Hct、去白细胞悬浮红细胞容量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	过滤时间 (min)	过滤损失血量 (mL)	Hct	去白细胞悬浮红细胞容量 (mL)
A 组	50	10.58±0.78	24.65±0.18	0.52±0.01	325.46±8.55
B 组	50	12.26±1.36	28.57±2.43	0.49±0.03	318.91±14.56
t		7.577 1	11.375 7	6.708 2	2.743 0
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 2 组白细胞残留量、游离血红蛋白浓度、红细胞溶血率结果比较 A 组的白细胞残留量、游离血红蛋白浓度、红细胞溶血率结果均优于 B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 2 组白细胞残留量、游离血红蛋白浓度、红细胞溶血率结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	白细胞残留量 ($\times 10^6/L$)	游离血红蛋白 (g/L)	红细胞溶血率 (%)	
				过滤后	保存期末
A 组	50	0.06±0.06	0.08±0.04	0.03±0.02	0.16±0.04
B 组	50	0.10±0.04	0.20±0.09	0.08±0.03	0.23±0.06
t		3.922 3	8.615 5	9.805 8	6.864 1
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨 论

去白细胞悬浮红细胞是使用带有白细胞过滤器的多联塑料血袋采集全血, 并通过白细胞过滤器清除全血中几乎所有的白细胞, 将该去白细胞全血中的大部分血浆分离后, 向剩余物内加入红细胞添加液制成的红细胞成分血^[2]。《血站技术操作规程》要求^[3], 去白细胞悬浮红细胞的制备应在血液采集后 2 d 内完成过滤, 但并未明确所使用的白细胞滤器的类型和过滤时血液的保存温度。由于血液的采集大多来源于站外的献血屋和各个采血点, 目前国内生产的冷血过滤白细胞过滤多联血袋大都要求过滤前应将全血温度冷却至 $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$, 而从血液采集到血液过滤时的血液温度远未达到 $2 \sim 6^\circ\text{C}$, 因此, 目前采用的冷血过滤是一种不完全的冷血过滤方式, 对去白细胞悬浮红细胞的质量有着潜在的影响。

进行热血过滤时, 血液在室温保存的时间并没有明确的规定。根据本站血液采集和制备的流程特点, 本文进行比较的 2 组制备工艺中, 通过记录采血时间和血液过滤起始时间, 对血液采集后在不同温度下的保存时间进行控制, 保证室温保存的全血在血液采集 2 h 内进行过滤, $2 \sim 6^\circ\text{C}$ 保存的全血在 2 h 后进行过滤。表 1 中数据表明, A 组的过滤时间明显快于 B 组, 而 Hct、过滤后制备的去白细胞悬浮红细胞容量也略高于 B 组 ($P < 0.05$), 也高于张翔等^[4]、袁介秋^[5]报道的进行冷血过滤的去白细胞悬浮红细胞容量范围, 与文献^[6]报道的过滤前室温保存的血液红细胞回收率高于 $2 \sim 6^\circ\text{C}$ 保存结果相符。2 组过滤损失血量略高于厂家说明 ($< 20 \text{ mL}$), 分析可能是成分制备过程中排气环节操作不当引起, 这 2 个指标还需要进一步的数据积累, 以便于建立去白细胞悬浮红细胞的容量控制标准。

白细胞滤器去除白细胞的机制主要是依靠滤器的阻滞和细胞黏附作用^[7], 能有效地去除血液中的白细胞。进行比较的 2 组数据中, 白细胞残留量均符合标准要求, A 组的白细胞残留量优于 B 组。与使用相同滤器型号及室温保存时间进行热

血过滤的相似研究相比, 本文中进行热血过滤的 A 组过滤时间较文献^[8]报道快, 且制备成的去白细胞悬浮红细胞的白细胞残留量也偏高。分析原因可能是由于血液过滤时速度过快, 从而降低了滤器对白细胞的吸附能力有关, 和文献^[6]中过滤速度会影响滤白效果, 过滤速度越快, 白细胞的去除效果越差的观点相符。有文献^[9]认为, 400 mL 全血的过滤时间应不低于 15 min, 制备过程中是否需要按该时间进行控制, 还需要进一步探讨。

溶血是红细胞膜的完整性受到破损或裂解释放血红蛋白引起的血浆颜色变化, 而血液制品中血浆游离血红蛋白浓度过高, 对于接受输血治疗的患者具有潜在的安全隐患^[10]。从表 2 中可以看到, B 组的游离血红蛋白浓度和红细胞溶血率均高于 A 组 ($P < 0.05$)。分析可能是血液冷藏后, 红细胞的阿米巴运动减弱, 脆性增加, 在进行过滤时, 红细胞容易被剪切, 引起游离血红蛋白增加; 红细胞通过滤器时, 也容易受到损伤, 导致保存期末的溶血率增加。有研究表明, 去白细胞悬浮红细胞储存过程中溶血率较储存前明显上升, 储存期末更为明显^[11]。引起去白细胞悬浮红细胞溶血的原因很多, 血液在采集、保存、运输、制备等过程中操作不当均可导致, 去白细胞悬浮红细胞的溶血结果还受到献血者个体差异、过滤器类型、原始白细胞浓度、过滤时血液储存时间和过滤温度等因素的影响^[12]。

以上检测数据表明, 室温保存的全血在 2 h 内进行过滤和 $2 \sim 6^\circ\text{C}$ 保存的全血在 2 h 后进行过滤的 2 种制备工艺所制备的去白细胞悬浮红细胞的各项质量指标均符合标准要求, 但热血过滤的结果更优于冷血过滤。热血过滤方式可以及时、随时进行过滤, 也可以制备更高质量的新鲜冰冻血浆及冷沉淀凝血因子的原料血浆^[8], 更能满足目前血站采血、制备流程及临床用药需求。因此, 为了保证提供临床的去白细胞悬浮红细胞输注的安全和有效, 优化去白细胞悬浮红细胞制备流程, 应选择适合热血过滤的去白细胞型血袋, 并在血液采集后室温保存 2 h 内进行去白细胞悬浮红细胞的制备。

参考文献

- [1] 刘川桥, 薛炼, 蔡雁, 等. 4 种一次性去白细胞滤器血袋的质量评价[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(3): 272-273.
- [2] 周静宇. 全血及成分血质量要求 (GB18469-2012) 实施探讨[J]. 临床血液学杂志 (输血与检验), 2013, 21(4): 572-573.
- [3] 孟凡云, 丁玉娟, 王夕刚. 《血站技术操作规程》(2012 版) 研读[J]. 中国医药指南, 2013(9): 397-398.
- [4] 张翔, 苏武锦, 农媛, 等. 去白细胞悬浮红细胞容量内控标准探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(22): 2752.
- [5] 袁介秋. 不同规格悬浮红细胞及去白细胞悬浮红细胞标示量值探讨[J]. 中外健康文摘, 2013(48): 77-78.
- [6] 潘越飞. 血液过滤去除白细胞的质量控制[J]. 内科, 2012, 7(1): 63-64.
- [7] 钱晓燕. 两种国产滤器滤除白细胞对血液功能的影响[J]. 青海医药杂志, 2014, 44(8): 68-69.
- [8] 陈伟岳, 叶春燕, 密超可, 等. 不同白细胞滤器的实用性评价[J]. 现代实用医学, 2013, 25(6): 695-697.
- [9] 丁国良, 朱琳, 明文娟, 等. 不同过滤时间对血液去除白细胞效果的影响[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(6): 475.
- [10] 张亦弛, 张高丽, 郑文君, 等. 全血、去白细胞全血和去白细胞悬浮红细胞储存期末溶血率的比 (下转第 1361 页)

义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 不同亚型丙型肝炎患者抗病毒治疗疗效比较[n(%)]

基因亚型	n	完全应答	部分应答	无应答	总有效率
1b	35	9(25.7)	5(14.3)	21(60.0)	14(40.0)
3b	17	8(47.1)	4(23.5)	5(29.4)	12(70.6)*
6a	8	5(62.5)	2(25.0)	1(12.5)	7(87.5)*
其他	9	4(44.5)	3(33.3)	2(22.2)	7(77.8)*

注:与 1b 亚型比较,* $P<0.05$ 。

3 讨论

HCV 基因组序列的异质性体现在 4 个层次:基因型、基因亚型、分离株和准种,其中基因型和基因亚型最具流行病学和临床价值。HCV 各基因型在不同地域分布存在一定差异。1b 是亚洲、欧洲普遍的型别,流行率超过 HCV 感染病例的 70%^[4],非洲以 4、5、6 型为主,拉美国家以 2a 和 2b 亚型为主,4 型在地中海东部国家比例较高。我国大部分地区流行的 HCV 型别为 1b,其次为 2a,在南方城市 1b 亚型感染率占 90% 以上,从南向北 2a 亚型逐渐增多。但近几年所报道的基因型分布情况正在改变^[5]。

本研究经过焦磷酸测序法分型,89 例来自川南地区的汉族丙型肝炎患者中有 86 例被成功分型,共检出 1、2、3、6 共 4 种基因型和 1a、1b、2a、2b、3a、3b、6a 共 7 种基因亚型,未发现 4a、5a 亚型,患者以 1b 亚型(46 例,53.5%)为主,其次是 3b 亚型(21 例,24.4%)和 6a 亚型(9 例,10.5%),其他少见型别共 4 型 10 例(11.6%)。其 1b 亚型占优的情况与全国大部分地域的基因型分布相似。有关四川地区基因分布的文献报道较少,川南地区 1b、3b 亚型为优势基因型的现象与重庆、贵州、云南等四川周边地区报道基本相似^[6-8],同时也表现出 1b 亚型优势显著、3a 亚型比例低、6a 亚型比例较高,亚型种类丰富的突出特点。

本研究结果显示,1 型(1a、1b)和 3 型(3a、3b)在慢性丙型肝炎和丙型肝炎后肝硬化患者分别占到了 79.4% 和 68.8%,提示基因 1 型和基因 3 型较其他基因型更易导致丙型肝炎的慢性化和患者肝脏硬化,与国内文献^[9]报道的结果相似。

本试验中使用的焦磷酸测序分型法敏感度和特异度分别达到了 96.6% 和 100.0%,分型效果理想。研究表明,不同基因型的致病性存在较大差异,对肝脏的损伤和治疗药物的敏感性也不尽相同^[10-11]。本研究结果也证实了这一点。1b 亚型患者体内 HCV-RNA 水平明显高于其他亚型($P<0.05$),其他亚型之间差异无统计学意义($P>0.05$);未经治疗的丙型肝炎患者中,1b 亚型患者肝功能脏损害指标高于其他亚型患者,说明 1b 亚型患者较其他型别的患者体内的 HCV 水平更高,对肝脏损害程度也较其他亚型患者更为严重。

干扰素联合利巴韦林是目前丙型肝炎治疗的公认方案^[12]。本研究观察了丙型肝炎患者的治疗情况,有 69 例丙型肝炎患者完成了 48 周的聚乙二醇干扰素联合利巴韦林抗病毒

治疗,结果显示不同 HCV 亚型患者治疗效果也存在明显差异,其中 6a 亚型有效率最高(87.5%),1b 亚型患者有效率仅为 40.0%,疗效差异比较有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述,川南汉族丙型肝炎患者中,基因型以 1b 亚型为主,3b、6a 亚型也占有相当高的比例,亚型表现丰富。不同的基因型可导致不同的临床表现和转归。HCV 基因分型可以在了解丙型肝炎的流行病学特点、临床特征、疗效及判断预后等诸多方面发挥重要作用。

参考文献

- [1] 杨锡琴,修冰冰,王国华,等. HCV 血清分型方法的建立及其评价[J]. 传染病信息,2012,25(2):91-93.
- [2] 周一萌,窦晓光,张琳. 丙型肝炎病毒基因分型检测方法研究进展[J]. 中国实用内科杂志,2014,34(8):819-822.
- [3] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2004,12(4):194-198.
- [4] Davidson F, Simmonds P, Ferguson C, et al. Survey of major genotypes and subtypes of hepatitis C virus using RFLP of sequences amplified from the 5' non-coding region[J]. J Gen Virol, 1995, 76(8):1197-1199.
- [5] 何平,陈春勇. 丙肝基因分型研究[J]. 医药论坛杂志,2010,31(2):10-12
- [6] 周召刚,曾藤,徐华,等. 重庆地区丙型肝炎病毒基因型分布及临床意义[J]. 重庆医科大学学报,2015,40(3):383-387.
- [7] 杨跃东,杨兴林,张流,等. 贵阳地区丙型肝炎患者病毒基因型与血清病毒载量及血液生化细胞学指标相关性研究[J]. 贵州医药,2015,39(1):14-17
- [8] 普冬,汪亚玲,赵勤,等. 昆明地区 HIV 和 HCV 共感染者丙型肝炎病毒基因型特征[J]. 中国热带医学,2011,11(6):662-664.
- [9] 毕蔓茹,王晓韧,王威,等. 黑龙江地区丙型肝炎病毒基因型与亚型的分布特点及临床意义[J]. 中国医学前沿杂志(电子版),2014,6(9):30-32.
- [10] 李伟琴,袁致海,徐光华,等. 丙型肝炎基因分型进展及临床意义[J]. 世界华人消化杂志,2009,17(6):549-554.
- [11] Elahi E, Pourmand N, Chaung R, et al. Determination of hepatitis C virus genotype by Pyrosequencing[J]. J Virol Methods, 2003, 109(2):171-176.
- [12] 张泽敏,于兰芳,李一鸣,等. 聚乙二醇干扰素-2 α 联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价[J]. 世界华人消化杂志,2014,22(7):1005-1007.

(收稿日期:2015-11-25 修回日期:2016-01-24)

(上接第 1358 页)

较[J]. 中国实用医药,2013,8(19):94-95.

- [11] 梁义安,黄金环,农媛,等. 储存前去白细胞悬浮红细胞质量监测结果分析[J]. 中国输血杂志,2014,27(6):652-653.

- [12] 徐忠,邱颖婕,龚裕春,等. 去白细胞悬浮红细胞与悬浮红细胞储存期内溶血率的比较[J]. 检验医学与临床,2013,10(2):219-220.

(收稿日期:2015-10-20 修回日期:2015-12-28)