

- [2] 曾劲峰,陈云龙,郑欣,等. HBsAg 抗-HCV 反应性无偿献血者归队检测模式探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2014,35(23):3207-3209.
- [3] 李雪梅,杨春茂,杨春晴,等. 献血者 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP ELISA 检测阳性与确证试验的对比研究[J]. 中国输血杂志, 2013,26(6):541-543.
- [4] 郭永建,姚凤兰,林授,等. HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血者屏蔽与归队指引(上)[J]. 中国输血杂志, 2011,24(1):79-84.
- [5] 周虹,王全立,詹林盛,等. 血液安全与保障——军事医学科学院输血研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2011,41(10):832-837.

(收稿日期:2015-04-10)

MAP 保存洗涤红细胞质量评价 Quality evaluation of long-term preservative WRC prepared RBC in additive solution

段志倩¹ 石洁¹ 郑建勇¹ 骆莺¹ 董瑞萍¹ 贾璐¹

【摘要】 目的:探讨延长洗涤红细胞(WRC)的保存期限,制备保存 WRC 工艺的可行性。**方法:**将悬浮红细胞均分为 3 组:不洗涤悬浮红细胞组(对照组)、生理盐水保存的 WRC 组(盐水组)和 MAP 保存的 WRC 组(实验组),4℃ 保存后分不同保存时间取样并检测 WRC 质量控制的相关指标。**结果:**MAP 混悬 WRC 4℃ 保存 7、14、21、35 d 后均无细菌生长,上清蛋白含量均小于 2.5 g/L,溶血率均小于红细胞总量 0.8%。**结论:**参考国家标准 GB 18469-2012《全血及成分血质量要求》WRC 质量控制项目和要求,MAP 混悬 WRC 的质量控制符合国家标准。

【关键词】 洗涤红细胞;MAP;生理盐水;保存时间

Key words washed red blood cells;MAP;NaCl; preservation time

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2016.02.020

【中图分类号】 R555 **【文献标志码】** A

洗涤红细胞(washed red blood cells,WRC)是采用特定的方法将保存期内的全血、悬浮红细胞用大量等渗溶液洗涤,去除几乎所有血浆成分和部分非红细胞成分,并将红细胞悬浮在氯化钠注射液或红细胞添加液中所制成的红细胞成分血(参考国家标准 GB 18469-2012《全血及成分血质量要求》)。为减少输血反应,WRC 临床应用随着输血水平的提高呈上升趋势。近年来我中心 WRC 制品平均每月为 500 U,约占成分血的 2.5%。作为临床常用的血液成分之一,传统意义的 WRC 是 0.9% NaCl 注射液混悬的红细胞,必须在 6 h 内输注,最迟不得超过 24 h。这不仅限制了 WRC 的临床使用,也一定程度上增加了血站制备的压力。为延长 WRC 的保存期限,满足临床需求,我中心拟采用无菌接驳的方式在氯化钠洗涤后的红细胞中加入红细胞保存液 MAP,探索 MAP 混悬 WRC 4℃ 长期保存的可行性。现将 4℃ 长期保存 WRC 的质量控制评价结果总结报告如下。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

1.1.1 仪器设备 日本希森美康五分类血球计数

仪 XS-800i; BASO 2005-2 医用低速离心机; GeneQuant100 紫外分光光度计;美尔特水浴锅 WNE29;低温恒温箱 LT1-700;生化培养箱 LRH-250A 等。

1.1.2 试剂耗材 血浆游离血红蛋白测定试剂盒(北京瑞尔达生物科技有限公司);蛋白定量检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);硫乙醇酸盐培液、改良马丁真菌培养液、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌(南京便诊生物科技有限公司)等。

1.2 血液样本

我中心采集的 24 例无偿献血者全血制成悬浮红细胞。将 4℃ 保存,合格的红细胞悬液用作制备 WRC 悬液的起始血液,无破损渗漏,血液外观正常,在有效期内。参照血站技术操作规程(2012 版)将制备好的悬浮红细胞均分为 3 组:不洗涤悬浮红细胞组(对照组)4 例,生理盐水保存的 WRC 组(盐水组)4 例和 MAP 保存的 WRC 组(实验组)16 例。将制备好的对照组悬浮红细胞在 4℃ 冰箱中保存至 35 d 无菌留样,盐水组 WRC 在保存 24 h 内无菌留样、实验组 MAP 混悬 WRC 分别保存 7、14、21、35 d 无菌留样,并检测血红蛋白、上清蛋白质、游离血红蛋白含量及溶血率等指标。

¹南京红十字血液中心质量管理科(南京,210003)

1.3 测定方法

1.3.1 血红蛋白含量 运用日本希森美康五分类血球计数仪 XS-800i 对储存血细胞制品的相关指标进行检测。

1.3.2 上清蛋白含量检测 运用考马斯亮蓝法测定上清蛋白含量。

1.3.3 游离血红蛋白检测 运用北京瑞尔达生物科技有限公司的血浆游离血红蛋白测定试剂盒(比色法)测定游离血红蛋白的含量。

1.3.4 溶血率 $\text{溶血率}(\%) = (1 - \text{血细胞比容}) \times \text{血浆或上清液游离血红蛋白浓度} / \text{总血红蛋白浓度} \times 100\%$

1.3.5 无菌培养 低温恒温箱 LT1-700 37℃ 细菌(需氧菌和厌氧菌)培养;生化培养箱 LRH-250A 22℃ 真菌培养。

1.4 统计学处理

用 SPSS 10.0 统计学软件方差分析及配对 t 检验分析实验组、盐水组、对照组之间的差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MAP 混悬 WRC 质量检测

MAP 混悬 WRC 于 4℃ 保存 7、14、21、35 d 游离血红蛋白含量呈上升趋势,但总体均未超过国家标准,不同保存时间组之间游离血红蛋白含量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。上清蛋白含量及溶血率检验差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 MAP 混悬 WRC 与不洗涤悬浮红细胞比较

在保存期末(35 d),检测 MAP 混悬 WRC 和悬浮红细胞的游离血红蛋白含量比较,差异无统计学意义($t = 0.2151, P > 0.05$);各质控项目结果均合格。外观、容量均符合 GB 18469-2012 的质量标准。溶血率检验差异无统计学意义($t = 3.120, P > 0.05$)。

2.3 MAP 混悬 WRC 与生理盐水混悬 WRC 比较

检测 MAP 混悬 WRC 保存 7 d 和生理盐水混悬 WRC 保存 24 h 游离血红蛋白的含量计算溶血率,各项质控项目结果均合格。外观、容量均符合 GB 18469-2012 的质量标准。溶血率检验差异无统计学意义($t = 1.828, P > 0.05$)。

3 讨论

WRC 去除了几乎所有的血浆蛋白及大部分的白细胞,主要用于减少或避免血浆蛋白所致的过敏反应,也适应于自身免疫性溶血性贫血和阵发性睡

眠性血红蛋白尿需输血的患者及对血浆蛋白、白细胞和血小板产生抗体的患者^[1]。生理盐水混悬的 WRC 因不能供给红细胞代谢所需的能量物质保存期仅 24 h,医院随需随订,WRC 制备工作被动,大大限制了 WRC 的临床广泛应用。

《血站技术操作规程》(2012 版)中规定:如果是在闭合无菌环境中制备且最后以红细胞保存液混悬,洗涤红细胞保存期与洗涤前的红细胞悬液相同。1990 年由日本研发的 MAP 保存液(氯化钠-腺嘌呤-葡萄糖-甘露醇-磷酸二氢钠)为红细胞代谢提供了所需的能量物质,可使红细胞保存期延长至 35 d。国内何锐洪等^[2]研究了以 MAP 为洗液的 WRC 可行性。叶汉泉等^[3]建议 MAP 混悬制备 WRC 在保存 2 周内使用较好,MAP 作为洗液在制备和贮存 WRC 制品方面具有可行性。

现在我们采用无菌接管机连接原料血液和四联盐水洗涤联袋,在密闭系统中进行洗涤,最后储存液改为 MAP,维持红细胞的正常功能,洗涤后的产品经过 7、14、21、35 d 不同时间的保存,并对制备的 WRC 制品质量控制相关指标进行观察。MAP 混悬质量检测游离血红蛋白含量呈上升趋势,但总体均未超过国家标准,不同保存时间组之间上清蛋白含量、游离血红蛋白含量、及溶血率均差异无统计学意义。MAP 混悬 WRC 与普通悬浮红细胞相比较,在保存期末(35 d)质控相关指标均差异无统计学意义;4℃ 保存 7 d 的 MAP 混悬 WRC 与保存 24 h 的生理盐水混悬 WRC 相比较,质控项目差异无统计学意义。参照全血质量标准及国际相关规定,在密闭系统中用生理盐水洗涤、MAP 悬浮的 WRC,在 4℃ 至少可保存 21 d。保存至 35 d MAP 悬浮的 WRC 质控相关项目仍符合标准。通过本次实验研究结果,我们初步评价了制备可保存 WRC 工艺,延长 WRC 保存期的可行性和可靠性。

参考文献

- [1] 陈小伍,于新发,田兆嵩. 输血治疗学[M]. 北京:科学出版社,2012:109-109.
- [2] 何锐洪,袁文声,易峰. 以 MAP 为洗液的洗涤红细胞可行性研究[J]. 现代医院,2011,11(1):23-23.
- [3] 叶汉泉,刘志泉,梁丽雯. 红细胞保存液混悬洗涤红细胞质量控制动态观察[J]. 长江大学学报(自科版),2013,10(240):85-86.

(收稿日期:2015-07-28)