

• 论 著 •

## 血小板型去白细胞滤器在浓缩血小板去白细胞中的应用\*

胡文辉<sup>1</sup>, 阮丽仙<sup>2△</sup>, 程海涛<sup>3</sup>, 危艳顺<sup>4</sup>

(1. 鄂州市中心血站, 湖北鄂州 436000; 2. 鄂州市妇幼保健院, 湖北鄂州 436000;

3. 鄂州二医院, 湖北鄂州 436000; 4. 鄂州市鄂钢医院, 湖北鄂州 436000)

**摘要:**目的 评价血小板型去白细胞滤器在浓缩血小板中的应用效果。方法 采用富血小板血浆法制备浓缩血小板, 将 35 袋制备好的同型浓缩血小板利用血小板型去白细胞滤器过滤。记录过滤前后血小板常规指标变化情况, 用流式细胞仪对血小板活化指标 PAC-1 及 CD62p 进行检测, 利用生化分析仪对血小板低渗休克进行测定, 利用血小板聚集仪测定血小板聚集功能。结果 利用血小板型去白细胞滤器进行过滤后, 白细胞去除率为  $(98.28 \pm 0.97)\%$ , 血小板回收率为  $(86.37 \pm 2.84)\%$ ; 过滤后白细胞计数、血小板、红细胞均较过滤器减少 ( $P < 0.05$ ), 过滤前后血小板容量、平均血小板体积和 pH 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 过滤前后血小板活化标志物 PAC-1 和 CD62p 表达、血小板低渗休克和血小板聚集功能差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 血小板型去白细胞滤器能够有效滤除浓缩血小板中的白细胞, 不会改变血小板常规指标, 且对血小板活化、聚集功能和抗低渗休克能力均无明显影响。

**关键词:** 血小板; 去白细胞滤器; 白细胞; 血小板低渗休克; 血小板聚集

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.023

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)17-2509-03

## Application of leukoreduction filter in removal of leukocytes in platelet concentrate\*

Hu Wenhui<sup>1</sup>, Ruan Lixian<sup>2△</sup>, Cheng Haitao<sup>3</sup>, Wei Yanshun<sup>4</sup>

(1. Blood Center of Ezhou City, Ezhou, Hubei 436000, China; 2. Women and Children's Hospital of

Ezhou City, Ezhou, Hubei 436000, China; 3. Ezhou Second Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China;

4. Ezhou Manicipal Iron and Steel Co. Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the application of leukoreduction filter in removal of leukocytes in platelet concentrate.

**Methods** Platelet concentrate was prepared by using platelet-rich plasma method. 35 bags of the same type of prepared platelet concentrate were filtered by using leukoreduction filter. The changes of conventional indicators of platelet before and after filter were measured and recorded. The activating platelets indicators PAC-1 and CD62p were detected by using flow cytometry. The platelet hypotonic shock was measured by biochemical analyzer. The platelet aggregation was measured by using platelet aggregation instrument. **Results** After platelet concentrate was filtered by using leukoreduction filter, leukocyte removal rate was  $(98.28 \pm 0.97)\%$ , platelet recovery rate was  $(86.37 \pm 2.84)\%$ . After filtration, white blood cell count, platelets, red blood cells were reduced than before filtration ( $P < 0.05$ ). The differences of capacity of platelets, mean platelet volume and pH before and after filtration were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Before and after filtration, the expression of platelet activation markers PAC-1 and CD62p, platelet aggregation and platelet hypotonic shock were not statistically different ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Platelet leukoreduction filter could effectively filter leukocytes in platelet concentrate. It would not change the conventional indicators, and not affect platelet activation, aggregation and anti-hypotonic shock capacity significantly.

**Key words:** platelet; leukoreduction filter; leukocytes; platelet hypotonic shock; platelet aggregation

输注浓缩血小板已成为临床上预防出血和血小板功能障碍患者治疗的重要手段。然而, 在使用过程中易发生非溶血性输血发热反应、免疫抑制、血小板输注无效等不良反应<sup>[1]</sup>。有研究指出, 输注去白细胞成分血可有效降低非溶血性输血发热反应的发生, 以及减少输血相关免疫、感染等相关不良反应的发生<sup>[2]</sup>。血小板型去白细胞滤器是临床上常用的一种去除白细胞的器械, 能够有效滤除浓缩血小板中的白细胞<sup>[3]</sup>。本研究将血小板型去白细胞滤器应用于浓缩血小板中白细胞的滤除, 通过检测滤除前后相关血液指标的变化, 旨在探讨血小板型去白细胞滤器在提高浓缩血小板输注效果中的价值。

**1 材料与方****1.1 浓缩血小板的来源** 选取 2013 年 2 月至 2014 年 3 月间

符合要求的健康献血者, 对其采集 400 mL 全血, 于室温条件下运输和保存, 并在 6 h 内完成制备。采用富血小板血浆法制备浓缩血小板, 于  $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$  范围内,  $1\ 328 \times g$  离心 5 min, 利用分浆器将上层血浆分离。同样温度下, 在  $2\ 533 \times g$  离心 15 min, 获取浓缩血小板 55~75 mL, 并静置 60 min, 随后进行每分钟 60 次的水平振荡解聚。

**1.2 仪器与试剂** 血小板型去白细胞滤器购自南京塞尔金生物公司, KX-21N 型多项目全自动血球计数仪器购自日本希森美康公司, 日立 7600 全自动生化分析仪购自日本日立公司, Cyrofuze 6000i 大容量离心机购自德国 heraeus 公司, 590 系列血小板聚集分析仪购自美国 ChronoLog 公司, Nageotte 白细

\* 基金项目: 2013 年鄂州市高新技术产业化项目(2013EC05)。  
△ 通讯作者, E-mail: 844514883@qq.com。

作者简介: 胡文辉, 男, 副主任技师, 主要从事采供血管理、血液病的诊断

胞计数板和加厚盖玻片购自美国 BD 公司, FE20 型 pH 仪购自瑞士梅特勒-托利多公司, 倒置相差显微镜购自日本 Olympus 公司, UV-2800AH 型紫外可见分光光度计购自上海优浦科学仪器, FACSCanto 流式细胞仪。CD62p-PE 及其同型对照鼠 IgG1、PAC-1-FITC 及其同型对照鼠 IgG1、CD42b-APC 抗体购自美国 BD 公司。试剂还包括 Turk 白细胞稀释液和 1% 多聚甲醛溶液。

1.3 方法

1.3.1 浓缩血小板的过滤 将 35 袋制备好的同型浓缩血小板利用无菌接管机汇集成 5 袋治疗量标本后, 连接血小板型去白细胞滤器, 利用重力作用对血小板进行过滤, 并进行收集。记录过滤时间及血小板容量, 利用全自动血球计数仪器对过滤前后的标本进行血细胞计数, 用 Nageotte 白细胞计数板对滤后白细胞进行计数。

1.3.2 流式细胞仪对血小板活化指标 PAC-1 及 CD62p 的检测 利用贫血小板血浆将浓缩血小板制成  $250 \times 10^9$  的富血小板血浆, 每份标本取 3 支流式细胞管, 加入血浆标本  $10 \mu\text{L}$ , 分别将相应的抗体和对照加入不同流式细胞管, 轻轻晃动摇匀, 于避光室温下孵育 20 min, 预冷后, 加入 1% 多聚甲醛并混匀, 避光  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  条件下保存。于 60 min 内完成样品准备并置于 FACSCanto 流式细胞仪上检测。利用 CD42b APC/SSC 双参数设门, 用 Cell Quest 软件获取 20 000 个血小板进行分析, 血小板 PAC-1 及 CD62p 水平以其血小板阳性百分率表示。

1.3.3 利用生化分析仪对血小板低渗休克进行测定 实验模式为实时吸光度 (A) 值监测, 测定温度为  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , 波长为 610 nm, 样品与试剂比例为 2 : 1, 监测时间 15 min, 延迟时间 5 s。

以贫血小板血浆与磷酸盐缓冲液 (PBS) 按 2 : 1 的比例混合后调零, 富血小板血浆与 PBS 混合样品 15 min 时的 A 值为对照 A 值 ( $A_{\text{对照}}$ ), 富血小板血浆与蒸馏水混合样品 15 min 时的 A 值为样品 A 值 ( $A_{\text{样品}}$ ), 并按下列公式计算: 血小板低渗休克 (%) =  $(A_{\text{样品}} - \text{样品最小 A 值}) / (A_{\text{对照}} - \text{样品最小 A 值}) \times 100\%$ 。

1.3.4 利用血小板聚集仪测定血小板聚集功能 利用贫血小板血浆将血小板聚集仪调零点, 将  $500 \mu\text{L}$  富血小板血浆置于测试杯中, 放入一涂硅的小磁棒,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  保温 5 min, 加入  $10 \mu\text{L}$  终浓度为  $20 \mu\text{mol/L}$  的二磷酸腺苷, 反应 7~10 min 至曲线平稳, 以富血小板血浆的聚集率和透光度为 0, 贫血小板血浆所测得的聚集率和透光度为 100%, 分析血小板最大聚集率情况。

1.4 统计学分析 数据录入和管理采用 EpiData3.0 软件, 利用 SPSS21.0 统计分析软件进行统计学处理, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 过滤前后相关指标比较采用配对 *t* 检验,  $P < 0.05$  差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 过滤前后血小板常规指标的比较 利用血小板型去白细胞滤器进行过滤后, 白细胞去除率为  $(98.28 \pm 0.97)\%$ , 血小板回收率为  $(86.37 \pm 2.84)\%$ , 血小板过滤前后常规指标变化见表 1。过滤后白细胞计数、血小板、红细胞均较过滤前减少, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 过滤前后血小板容量、平均血小板体积和 pH 值比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 过滤前后血小板常规指标变化情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	白细胞 ( $\times 10^6/\text{L}$ )	血小板 ( $\times 10^9/\text{L}$ )	血小板容量 (mL)	红细胞 ( $\times 10^{12}/\text{L}$ )	平均血小板体积 (fL)	pH
过滤前	$279.4 \pm 78.8$	$263.1 \pm 43.4$	$246.8 \pm 29.5$	$0.006 \pm 0.002$	$12.29 \pm 0.90$	$7.13 \pm 0.16$
过滤后	$4.4 \pm 1.1$	$231.9 \pm 35.5$	$239.7 \pm 30.1$	$0.003 \pm 0.001$	$12.06 \pm 0.71$	$7.09 \pm 0.12$
<i>t</i>	14.071	2.203	0.898	5.580	0.084	1.010
<i>P</i>	0.000	0.017	0.187	0.000	0.467	0.159

2.2 过滤前后血小板活化标志物 PAC-1 和 CD62p 表达变化 利用流式细胞仪对血小板活化指标 PAC-1 及 CD62p 进行检测, 见图 1 (见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。过滤前后血小板活化标志物 PAC-1 和 CD62p 表达水平比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

表 2 过滤前后血小板活化标志物 PAC-1 和 CD62p 表达变化情况 ( $\%, \bar{x} \pm s$ )

组别	PAC-1	CD62p
过滤前	$4.3 \pm 1.9$	$3.5 \pm 1.6$
过滤后	$4.5 \pm 2.1$	$3.7 \pm 1.8$
<i>t</i>	0.847	1.642
<i>P</i>	0.201	0.054

2.3 血小板过滤前后低渗休克及聚集功能变化情况 过滤前后, 血小板低渗休克和血小板聚集功能比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。

表 3 血小板过滤前后低渗休克及聚集功能变化情况 ( $\%, \bar{x} \pm s$ )

组别	血小板低渗休克	血小板聚集功能
过滤前	$77.3 \pm 9.1$	$60.2 \pm 14.8$
过滤后	$72.6 \pm 7.8$	$59.3 \pm 13.5$
<i>t</i>	0.808	0.251
<i>P</i>	0.212	0.402

3 讨论

健康者的血容量相对恒定, 如果一次失血超过全血量的 15% 时, 机体的代偿机制将不足以维持血压的正常水平, 可引起机体活动障碍, 此时就需要输血。通过大量研究证实, 输注浓缩血小板可用于治疗因血小板减少或功能障碍导致的出血性疾病, 浓缩血小板已在国内外广泛应用<sup>[4-5]</sup>。亦有研究指出, 输入含有白细胞成分血小板时, 会引起非溶血性发热反应、血小板输注无效、输血相关性免疫抑制等一系列不良反应<sup>[6-7]</sup>。其中, 非溶血性输血发热是最为常见的输血反应, 主要是由含白

细胞的血小板或全血输注后与受血者体内的血细胞发生同种免疫产生抗体所致<sup>[8]</sup>。临床资料显示,一个治疗量的全血中白细胞含量小于  $0.5 \times 10^9/L$  时,可有效预防非溶血性发热反应的发生,并且去除白细胞能够有效降低患者的炎性并发症的发生<sup>[9]</sup>。本研究利用血小板型去白细胞滤器对浓缩血小板中的白细胞进行滤除,并对滤除前后的相关指标进行了检测,获得了理想效果。

本研究将白细胞滤器应用于浓缩血小板中,其中,白细胞滤器滤除率的高低是衡量白细胞过滤器质量的重要指标,本次研究结果显示,血小板型去白细胞滤器可有效滤除白细胞,同时可获得较高的血小板回收率。过滤后白细胞计数、血小板、红细胞均减少,过滤前后血小板容量、平均血小板体积和 pH 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),说明白细胞滤器可有效滤除浓缩血小板中白细胞,对其他血液常规指标影响较小,可以达到国家标准要求。去白细胞滤器临床疗效的另外一个重要指标是临床中非溶血性输血反应发生率的降低程度,而白细胞的滤除则可有效降低非溶血性输血反应的发生<sup>[10]</sup>。本研究显示,过滤前后血小板活化标志物 PAC-1 和 CD62p 表达差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),过滤前后,血小板低渗休克和血小板聚集功能差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),说明使用白细胞滤器在滤除白细胞的同时,不会对血小板活化功能,以及抗低渗性休克能力和血小板聚集功能产生影响,与 Cho 等<sup>[11]</sup> 研究结论相同。

综上所述,血小板型去白细胞滤器能够有效滤除浓缩血小板中的白细胞,滤后血小板的回收率符合相关标准,不会改变血小板常规指标,而且去白细胞滤器过滤浓缩血小板对血小板活化、聚集功能和抗低渗性休克能力均无明显影响,具有较高的安全性。

参考文献

[1] 吴建君,宋娜丽,向仁雪,等. 不同类型血小板制剂的临床输注安全性分析[J]. 检验医学与临床,2014,11(19):2660-2662.  
 [2] Bartkowiak M, Bugajski P, Siminiak T, et al. The effect of leukocyte reduction filters on inflammatory mediator release during coronary artery bypass grafting[J]. Kardiol Pol, 2013, 71(9):945-

950.  
 [3] Mönninghoff J, Moog R. Investigation of a new in-line leukocyte reduction filter for packed red blood cells[J]. Transfus Apher Sci, 2012, 46(3):253-256.  
 [4] Beard MJ, Jeewa Z, Bashir S, et al. Comparison of platelet activation in platelet concentrates measured by flow cytometry or AD-VIA 2120[J]. Vox Sang, 2011, 101(2):122-130.  
 [5] Malyhon OI, Novak VL. The indices of quality of the donor's plasma, obtained by the methods of plasmapheresis and primary fractionation, using various hemopreservatives and leukocytic filters[J]. Klin Khir, 2014, 20(4):43-45.  
 [6] Taghipour H, Shafiei H, Assar O, et al. The effect of systemic arterial-line leukocyte filtration on the outcome of adult patients undergoing cardiac surgery[J]. Iran Red Crescent Med J, 2013, 15(5):414-417.  
 [7] Zhang X, Zhou C, Zhuang J, et al. Effects of leukocyte depletion on cardiopulmonary protection and inflammation after valve surgery[J]. Int J Artif Organs, 2010, 33(11):812-818.  
 [8] Imoto S, Kawamura K, Tokumine Y, et al. Acute non-hemolytic transfusion reactions and HLA class I antibody: advantages of solid phase assay compared with conventional complement-dependent assay[J]. Transfus Med, 2010, 20(2):95-103.  
 [9] de Sousa Neto AL, Barbosa MH. Analysis of immediate transfusion incidents reported in a regional blood bank[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2011, 33(5):337-341.  
 [10] Mukagatare I, Monfort M, de Marchin J, et al. The effect of leukocyte-reduction on the transfusion reactions to red blood cells concentrates[J]. Transfus Clin Biol, 2010, 17(1):14-19.  
 [11] Cho JH, Choi JH, Hur M, et al. Comparison of two leukocyte reduction filters for whole blood derived platelets [J]. Transfus Apher Sci, 2012, 47(1):21-25.

(收稿日期:2015-01-08)



(上接第 2508 页)

节为春季(4~6月)相一致,符合猩红热的流行病学特点<sup>[9]</sup>。有研究表明,猩红热发病与风速和日照时数呈正相关<sup>[10]</sup>,也有研究对华北地区猩红热与气候因素的分析发现,猩红热发病率与平均气温呈正相关<sup>[11]</sup>。这表明,每年的5~6月是猩红热防控的重点时间,无论是疾病预防控制机构还是托幼机构及小学都应该引起足够地重视,猩红热尚无有效疫苗,管理传染源是预防猩红热的主要措施,及时发现病例和密切接触者,做到早隔离、早消毒应成为工作重点。同时还应该加强对易感人群的保护,加大健康教育的力度,增强其自我保护的意识,做好学校卫生工作,并经常进行开窗通风和教室消毒工作。

参考文献

[1] Hsieh YC, Huang YC. Scarlet fever outbreak in Hong Kong, 2011 [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2011, 44(6):409-411.  
 [2] 李雷雷,蒋希宏,隋霞,等. 中国 2005-2011 年猩红热疫情流行病学分析[J]. 中国公共卫生, 2012, 28(6):826-827.  
 [3] 中华人民共和国卫生部. WS 282-2008 猩红热诊断标准[S]. 北

京:人民卫生出版社,2008.  
 [4] 崔京辉,王丽萍,苗元,等. 北京市西城区 2011 年-2012 年猩红热监测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(9):2151-2152.  
 [5] 唐智超,朱红霞. 2011-2012 年北京市顺义区猩红热病原学监测分析[J]. 职业与健康, 2013, 29(19):2533-2534.  
 [6] 李连红,余昭,方琼珊,等. 2007-2011 年浙江省猩红热流行病学分析[J]. 中国预防医学杂志, 2013, 14(3):194-196.  
 [7] 阴杰莹,李琳,徐文体,等. 天津市 2004-2012 年猩红热流行特征分析[J]. 现代预防医学, 2014, 41(19):3582-3584.  
 [8] 徐斌,黄夏萍,覃曲波. 南宁市 1965~2004 年猩红热流行特征分析[J]. 实用预防医学, 2006, 13(5):1208-1210.  
 [9] 吕宝成. 实用传染病防治[M]. 2 版. 北京:学苑出版社,2005.  
 [10] 黎新宇,王全意,高婷,等. 北京气象因素与猩红热发病相关性研究[J]. 实用预防医学, 2007, 14(5):1435-1436.  
 [11] 霍爱梅,赵达生,方立群,等. 华北地区主要呼吸道传染病与气象条件的关系[J]. 中国医药导报, 2011, 8(32):153-156.

(收稿日期:2015-01-08)