

甘油对冰冻解冻红细胞质量的影响探讨

纪宏革, 王 丽, 胡 乔, 罗红林[△]
(镇江市中心血站, 江苏镇江 212004)

摘要:目的 比较两种方法制备冰冻解冻去甘油红细胞质量差异。方法 随机取 2~6 °C 保存 6 d 内的 RH 阴性去白细胞悬浮红细胞 60 袋, 应用 ACP215 全自动血细胞处理仪制备甘油化红细胞, -80 °C 冰箱保存 1~24 个月, 其中 30 袋去甘油冰冻保存, 30 袋不去甘油冰冻保存, 然后取出于 37~40 °C 水浴快速融化后, 选择 ACP215 全自动血细胞处理仪去甘油程序进行去甘油洗涤处理, 检测冰冻解冻去甘油红细胞的质量指标, 并与国家标准进行比较。结果 两种方法制备的冰冻解冻去甘油红细胞其血红蛋白水平、游离血红蛋白浓度、甘油残余量和细菌培养试验均满足《全血及成分血质量要求(GB18469-2012)》。结论 两种方法均可制备符合国家标准的冰冻解冻去甘油红细胞。但从临床抢救角度看, 采用冰冻前去甘油的方法, 可以为临床抢救争取约 30 min 的时间。

关键词:甘油; 冰冻红细胞; RH 阴性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.062

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)04-0564-02

自从 1970 年有研究者将甘油作为保护剂冰冻保存红细胞用于人体输血并获得成功以来, RH 阴性冰冻解冻去甘油红细胞逐渐在临床输血治疗中得到推广使用。利用 ACP215 全自动血细胞处理仪对两种冰冻红细胞进行去甘油洗涤, 并对两种方法制备的冰冻解冻去甘油红细胞质量进行检测, 取得了较好效果^[1], 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 RH 阴性去白细胞悬浮红细胞(1.5 U 或 2.0 U, 共计 60 袋, 本站制备), 800 mL 六珠袋、57% 甘油和 9% NaCl (北京博德桑特公司), 0.9% NaCl (山东威高公司), ACP 215 全自动血细胞处理仪和配套的 REF225 甘油化耗材、REF235 和 REF236 去甘油化耗材(美国 Haemonetics 公司), -80 °C 冰箱(美国 FORMA 公司), BECKMAN J6-MI 离心机(美国 BECKMAN 公司), 无菌接管机(德国费森尤斯公司), 库尔特血细胞计数仪(美国库尔特公司), B-D 细菌培养及检测系统(美国 B-D 公司), 恒温水浴箱(江苏金坛天竞公司)。

1.2 方 法

1.2.1 红细胞甘油化和低温冰冻保存

1.2.1.1 红细胞与甘油连接 取 2~6 °C 保存 6 d 内的 RH 阴性去白细胞悬浮红细胞 60 袋, 3 200 r/min 离心 12 min, 去上清后红细胞与 800 mL 六珠袋用无菌接驳机接驳, 将红细胞转移至六珠袋中。

1.2.1.2 红细胞甘油化 选择甘油化程序, 安装 REF225 甘油化耗材, 无菌接驳红细胞袋和甘油袋, 并将红细胞袋固定于摇床上, 设定甘油加入量(1 U 红细胞加入 160 mL 甘油), 启动红细胞甘油化程序, 将甘油由慢到快加入到红细胞袋中, 边加边振荡, 以使红细胞和甘油充分混匀。甘油加完后排除袋中空气。

1.2.1.3 红细胞冰冻保存 将甘油化红细胞在室温下静置 30 min 后, 2 000 r/min, 20~24 °C 离心 6 min, 分离去上清(100~150 mL), 混匀甘油化红细胞后将血袋水平放入纸盒, -80 °C 冰箱冰冻保存, 如此共制备 30 袋甘油化冰冻红细胞; 另外 30 袋甘油化红细胞不离心去甘油, 室温静置 30 min 后装盒直接放 -80 °C 冰箱冰冻保存。注意红细胞冰冻时不可叠加放置。

1.2.2 冰冻红细胞去甘油洗涤

1.2.2.1 冰冻红细胞的解冻 将冰冻红细胞从 -80 °C 冰箱中取出后迅速完全浸入 37~40 °C 恒温水浴箱中, 快速晃动冰冻红细胞至完全融化, 并使其温度在 20~24 °C。注意在解冻过程中不能用手捏冰冻红细胞, 另外要保持水温在 37~40 °C。

1.2.2.2 红细胞去甘油洗涤 选择去甘油程序, 安装去甘油耗材(1.5 U 红细胞用 REF235, 2 U 红细胞用 REF236), 将解冻的红细胞(已去甘油)与去甘油化耗材红色管路无菌接驳; 未去甘油的 2 500 r/min 离心 10 min, 去上清后无菌连接, 血袋固定于摇床上。9% 浓 NaCl 溶液与蓝色管路相连, 0.9% NaCl 溶液与黄色管路相连, 输入红细胞重量, 设定加入 9% 浓 NaCl 溶液量(1.5 U 红细胞用 120 mL, 2 U 红细胞用 160 mL), 其他参数按默认值进行, 启动 ACP215。

1.2.2.3 红细胞重新悬浮 当去甘油洗涤结束后, ACP215 自动添加 0.9% NaCl 溶液悬浮解冻红细胞(2 U 解冻红细胞需另加入 60 mL 0.9% NaCl 溶液), 并自动打印去甘油洗涤结果。

1.2.3 冰冻解冻去甘油红细胞检测 用血细胞计数仪检测血红蛋白含量, 邻联甲苯胺法检测游离血红蛋白, 过碘酸钠法检测甘油残余量^[2], B-D 细菌培养及检测系统进行细菌培养和检测。

1.2.4 冰冻解冻去甘油红细胞质量标准 《全血及成分血质量要求(GB18469-2012)》要求“冰冻解冻去甘油红细胞”的质量标准为 1.5 U 容量为(300±30) mL, 2 U 容量为(400±40) mL, 血红蛋白为 16 g/L, 游离血红蛋白小于或等于 1 g/L, 残留白细胞小于或等于 1×10^7 /U, 甘油残余量小于或等于 10 g/L。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计。检测数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用配对 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

两种方法制备的冰冻解冻去甘油红细胞其血红蛋白水平、游离血红蛋白浓度、甘油残余量和细菌培养试验等均满足《全血及成分血质量要求(GB18469-2012)》。见表 1, 由于采用去白细胞悬浮红细胞为冰冻红细胞来源, 故未做残留白细胞测定, 另外用 REF235 解冻红细胞容量为 275 mL, 用 REF236 容

[△] 通讯作者, E-mail: 18912116288@189.cn.

量为 325 mL, 细菌培养试验均为无菌生长。

表 1 冰冻解冻去甘油红细胞质量(g/L)

检测项目	冰冻前未去	冰冻前去	质量标准
	甘油(n=30)	甘油(n=30)	
血红蛋白	16.72±0.57	16.58±0.49	≥16
游离血红蛋白浓度	0.35±0.15	0.34±0.14	≤1
甘油残余量	6.36±1.37	6.56±1.42	≤10

3 讨论

由于我国汉族人群中 RH 阴性比例 0.3%~0.4%^[3], 临床如果需要 RH 阴性血液时, 从无偿献血者 RH 阴性稀有血型库中临时招募采集到供应临床, 至少需要 4 个小时以上的时间, 再加上现在国家提出对所有供应的血液要进行核酸检测, 这无形中增加了血液供应临床的时间。据研究者预测, 如果全面开展血液核酸检测, 现在这个供应时间至少将要有 8 个小时以上, 有许多 RH 阴性的患者可能由于不能及时得到所需的血液而失去抢救的机会^[4]。作为采供血机构, 在街头或单位开展献血招募和血液采集时, 由于受到环境和条件的限制, 对献血者的 RH 血型是不做检测, 只有当血液采集回血站后再经过仪器设备进行检测, 确定献血者是否是 RH 阴性血型。由于平时 RH 阴性血液在临床上使用量较少, 所以存在着当血站 2~6℃ 保存的 RH 阴性血液较多时, 临床不一定就需要, 同时也存在着 ABO 血型不同情况, 因而易造成血液的过期报废; 另外存在着临床急需 RH 阴性血液, 血站没有 2~6℃ 保存的 RH 阴性血液的情况, 造成血液不能及时供应。红细胞冰冻保存技术的发明和应用, 很好地解决了这个问题, 这样既避免了平时采集的 RH 阴性血液, 由于临床没有使用而造成的过期报废, 又能在临床急需时保证及时供应。

• 经验交流 •

单胺氧化酶在慢性肝炎患者诊断中的应用

杜川, 孙成跃

(重庆南川宏仁医院检验科, 重庆 408400)

摘要:目的 探讨单胺氧化酶(MAO)在慢性肝炎患者诊断中的临床价值。方法 选取 147 例慢性肝病患者测定其血清 MAO, 与 85 例健康对照组血清 MAO 水平对比。结果 慢性肝炎患者的血清 MAO 水平相对于健康对照组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 以血清 MAO 作为标准对患者的检出率达到 88.4%。结论 血清 MAO 水平对慢性肝炎患者的检测具有临床意义。

关键词:血清单胺氧化酶; 慢性肝炎; 应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)04-0565-02

单胺氧化酶(MAO)在机体中分布广泛。可以催化细胞中的各种单胺氧化反应^[1]。肝病患者肝脏功能受损, 蛋白质和酶的合成都会受到影响^[2]。研究者对 2013 年 2 月至 2015 年 2 月收治的 147 例慢性肝炎患者的血清 MAO 水平进行检测与分析, 初步探讨了血清 MAO 在慢性肝炎疾病中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院从 2013 年 2 月至 2015 年 2 月收治的 147 例慢性肝炎患者(慢性肝炎组), 男性 88 例, 女性 59 例, 年龄 37~69 岁, 平均年龄(46.7±8.3)岁, 其中慢性乙型肝炎 54 例, 慢性丙型肝炎 23 例, 肝硬化 45 例, 肝癌 25 例。选取 2014

甘油作为红细胞内低温保护剂, 其可降低红细胞在冷冻过程中电解质浓度减少, 防止细胞膜脂蛋白复合物的变性及类脂质的丢失, 从而避免溶血的发生; 甘油的存在可避免红细胞冷冻时冰晶对细胞膜及细胞结构的机械损伤^[5]。选择在红细胞中加入甘油, 室温平衡 30 min 后经过 2 000 r/min、20~24℃ 轻离心 6 min 的方法, 主要是去除被甘油置换出来的水分, 其对红细胞内的甘油浓度没有什么影响。另外认为现行的 1U 红细胞加入 160 mL 甘油的方法不是很科学, 由于存在着个体差异, 每单位红细胞量是不一样的, 执行加一样标准的甘油可能存在有部分比例不恰当, 甘油和红细胞的最适比例为 1.6:1; 加 9% 浓 NaCl 溶液也存在同样的情况, 这将是以后研究探讨的方向。

采用冰冻保存前去甘油制备冰冻解冻去甘油红细胞, 既可以缩短红细胞冰冻和解冻的时间, 减少红细胞的溶解破坏, 同时也能减少解冻后去甘油洗涤时间, 可为临床抢救患者争取到更多时间。

参考文献

- [1] 靳鹏, 刘安, 曹伟, 等. 新型冰冻红细胞洗涤机洗涤效果的研究[J]. 中国输血杂志, 2005, 18(3): 212-213.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 血站技术操作规程(2012 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 51-52.
- [3] 安万新, 于卫建. 输血技术学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2010: 64.
- [4] 赵阳, 黎世杰, 陈扬凯. 改进洗血仪程序用于制备冰冻红细胞[J]. 中国输血杂志, 2005, 18(3): 214-215.
- [5] 李静文, 沈瑞. 冰冻红细胞技术及其应用的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(11): 1414-1415.

(收稿日期: 2015-10-23)

年在本院体检的 85 例健康者作为健康对照组, 其中男性 41 例, 女性 44 例, 年龄 20~80 岁, 平均年龄(39.2±4.9)岁, 各方面检查结果均正常, 无慢性疾病, 肝功能均正常。

1.2 检测方法 清晨空腹收集体检健康者、慢性肝炎患者静脉血 3 mL, 3 000 r/min 离心 5 min 收集血清。采用贝克曼 AU680 全自动生化分析仪进行检测, 试剂由德国 AUTEC 公司提供, 严格按照说明书进行操作^[3]。在室温下 2 h 内检测完毕。血清 MAO 正常参考范围 0~40 U/mL, 超过此标准为阳性^[4]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计学处理, 各