

• 临床检验研究 •

保存前后滤除 WBC 的 RBC 悬液质量的对比性研究

李 岚¹, 翁 彬², 伍昌林^{1△}, 党鑫堂¹, 朱 奕¹

(1. 广东省深圳市第二人民医院输血科 518035; 2. 广东省深圳市人民医院输血科 518035)

摘要:目的 探讨保存前后滤除 WBC(滤白)的 RBC 悬液质量的变化,为临床选择滤白时机提供参考依据。方法 对 4℃ 保存 5 d 的悬浮 RBC 20 袋(每袋 2 U)用血库型滤器滤白作为保存后滤白组(A 组),由血站滤白的少白悬浮 RBC 20 袋(每袋 2 U)作为保存前滤白组(B 组);分别在第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天和第 35 天测定两组血细胞指标、炎性细胞因子水平。结果 B 组血浆游离血红蛋白(FHb)在第 14 天明显升高, K⁺ 浓度在 21 d 显著升高,且二者浓度随保存时间的延长而增加($P<0.05$); A 组炎性细胞因子(IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α)水平在滤白后第 21 天时才明显升高,与 B 组比较差异有统计学意义($P<0.05$); A、B 两组回收率差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 保存前后滤白都能达到很好的滤除效果,但不同的滤白贮存方式对血液的质量产生不同的效果,为临床选择不同的滤白 RBC 提供了实验依据。

关键词:血液保存; 滤除白细胞; 血液质量

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.17.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)17-1943-03

Quality comparison of red blood cells suspension with filtering of white blood cells at different times

Li Lan¹, Weng Bin², Wu Changlin^{1△}, Dang Xintang¹, Zhu Yi¹

(1. Department of Blood Transfusion, the Second People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen Guangdong 518035, China;

2. Department of Blood Transfusion, People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen Guangdong 518035, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of the quality of red blood cells(RBC) suspension with filtering of white blood cells(WBC) before and after storage to provide a reference for clinic to select the time for filtering of WBC. **Methods** 20 bags of suspension of RBC (2U for each bag), saved for 5 days at 4℃, filtered out WBC with filters used in department of blood transfusion, were enrolled as group A. 20 bags of RBC suspension (2U for each bag), without storage and being filtered out WBC in Blood Center, were enrolled as group B. Blood samples of group A and B were detected for blood cells and the levels of inflammatory cytokines, and cultured for bacterial detection, at the 7th, 14th, 28th, 21st and 35th day after WBC were filtered. **Results** In group B, the concentration of free hemoglobin (FHb) and K⁺ increased at the 14th and 21st day, and gradually increased with the extension of storage time($P<0.05$). In group A, the levels of inflammatory cytokines, including interleukin-1, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor- α , increased at the 21st day, and had statistical difference, when being compared with group B($P<0.05$). There was no significant difference between A and B groups for recovery rate($P>0.05$). **Conclusion** Filtering of WBC, whether before or after storage, could both have fine filtering efficiency, but different filtering ways might have variant effects on the quality of RBC suspension, which could provide experimental base for the selection of RBC suspension filtered out WBC.

Key words: blood preservation; filter out white blood cell; blood quality

滤除 WBC 的血液成分用于临床输血可以大大减少 WBC 引起的输血不良反应及输血相关性 WBC 病毒的传播,已得到广泛认同。用 WBC 过滤器滤除 WBC 在各地血液中心和医疗机构也得到接受与普及,是当前最有效的滤白方法^[1-3]。笔者对保存前后滤除 WBC 的血液成分进行比较,评估两者在血浆 K⁺、游离血红蛋白(FHb)、RBC 回收率、WBC 清除率、Hb 回收率、炎症因子(IL-1、IL-6、IL-8、INF- α)等指标的改变,旨在为临床输血提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 选取在 4℃ 保存 5 d 的悬浮 RBC 20 袋(每袋 2 U)用血库型滤器滤白作为保存后滤白组(A 组),血液中心采集制备的少白悬浮 RBC 20 袋(每袋 2 U)作为保存前滤白组(B 组)。A 组悬浮 RBC 在 4℃ 保存第 5 天用血库型 WBC 滤器(南京双威)过滤后分别在第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天和第 35 天采集血浆样品待检。B 组用三联连袋(四川南格尔)采血,6 h 内离心分出 RBC 悬液,置于 4℃ 冰箱保存,在与 A 组相同时间段里留取在血样待检。

1.2 仪器与试剂 K⁺ 测定:间接离子选择性电极法,日立

7600 全自动生化仪;FHb 测定:十二烷基硫酸钠比色法, KX-21 血细胞计数仪(日本 Sysmex 公司);细菌培养:Bact/ALERT 3D 血培养仪;TSCD(SC-201A 型)无菌接驳机及其配套使用的一次性无菌接驳熔片(日本 Terumo 公司),全自动双探头放射免疫 γ 计数器, SN-697 试剂(北方生物技术研究),低温血液滤白恒温柜(DXG-2, 日本三洋)。

1.3 方法

1.3.1 选取 4℃ 保存第 5 天的 20 袋 RBC 悬液作为保存后过滤组(A 组),A 组在超净工作台经 TSCD 无缝接驳机与 WBC 滤器连接,在 DXG-2 低温(6℃)血液滤白恒温柜内按 WBC 滤器操作说明书过滤。流速控制在 80~100 滴/min,在 15~30 min 内滤完 2 U 悬浮 RBC。留期待检样品,分别于滤后第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天、第 35 天测定经滤白后的 WBC 计数和 Hb 含量,计算出两组 WBC 滤除率、RBC 回收率和 Hb 回收率,比较两种方法的滤白效果。

1.3.2 血浆 FHb 浓度测定 采用十二烷基硫酸钠比色法测定血浆 FHb 浓度。

1.3.3 血浆 K⁺ 浓度测定 采用间接离子选择性电极法测

△ 通讯作者, E-mail: wuchlin@126.com。

定血浆 K⁺ 浓度。

1.3.4 炎性细胞因子(IL-1、IL-6、IL-8、TNF-α)水平测定 采用放射免疫法。

1.4 统计学处理 不同保存时间血浆 K⁺ 和 FHb 含量间比较采用随机区组方差分析和 *q* 检验,两组间炎性细胞因子含量均数和两种方法滤白后效果的比较采用配对 *t* 检验。

表 1 A、B 两组在保存期内血浆 K⁺ 和 FHb 改变情况的比较($\bar{x}\pm s,n=20$)

项目	组别	保存时间				
		第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天
FHb(g/L)	A	76.90±29.7	95.10±23.3	156.40±35.6	179.20±31.4	225.30±30.7
	B	82.30±26.5 [*]	133.20±39.0 [#]	195.00±37.7 [#]	249.00±42.7 [#]	288.50±34.4 [#]
K ⁺ (mmol/L)	A	3.67±0.51	3.87±1.57	5.56±2.65	7.65±3.43	11.78±6.80
	B	3.46±0.56 [*]	3.98±2.30 [*]	10.43±5.85 [#]	12.77±7.87 [#]	15.56±8.52 [#]

^{*}:*P*>0.05,与 A 组比较;[#]:*P*<0.05,与 A 组比较。

表 2 A、B 两组在保存期内炎性细胞因子水平改变情况的比较($\bar{x}\pm s,n=20$)

炎性细胞因子	组别	保存时间					<i>P</i>
		第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	
IL-1	A	0.08±0.05	0.09±0.04	0.12±0.03	0.15±0.08	0.18±0.07	>0.05
	B	0.10±0.55 [*]	0.10±0.07 [*]	0.11±0.05 [*]	0.11±0.07 [#]	0.12±0.05 [#]	>0.05
IL-6	A	43.60±3.45	46.20±4.87	49.10±3.12	58.60±5.17	57.90±5.52	<0.05
	B	44.30±3.41 [*]	45.10±4.11 [*]	46.20±2.99 [#]	47.30±5.70 [#]	48.10±6.02 [#]	>0.05
IL-8	A	0.18±0.07	0.19±0.30 [*]	0.84±0.56	1.21±0.90	1.88±0.59	<0.05
	B	0.15±0.03 [*]	0.17±0.08 [*]	0.18±0.13 [#]	0.21±0.15 [#]	0.23±0.16 [#]	>0.05
TNF-α	A	0.28±0.13	0.33±0.15	0.95±0.20	1.30±0.22	1.35±0.39	<0.01
	B	0.22±0.16 [*]	0.28±0.12 [*]	0.25±0.13 [#]	0.29±0.16 [#]	0.35±0.1 [#] 7	>0.05

^{*}:*P*>0.05,与 A 组比较;[#]:*P*<0.05,与 A 组比较。

表 3 两种方法滤白后效果比较($\bar{x}\pm s,n=20$)

组别	WBC 清除率(%)	RBC 回收率(%)	Hb 回收率(%)
A 组	94.5±2.42	91.3±2.13	89.90±4.12
B 组	95.6±2.75 [*]	92.7±1.83 [*]	90.71±5.23 [*]

^{*}:*P*>0.05,与 A 组比较。

3 讨 论

随着科技的进步和医疗水平的不断提高,人们对血液制品的质量、输血的疗效与安全也更加关注。WBC 作为血液细胞的重要组成部分,在正常情况下,对机体防御病原体中起着重要作用。但在输血治疗中,血液中的 WBC 作为非治疗成分,对受者来说,则是一种“污染物”^[4]。因此,在血液和血液成分中滤除 WBC,对于输血安全和临床疗效具有重要意义,也是一项十分必要的措施。目前,输血界已经公认 WBC 滤器滤除 WBC 的方法最为有效,并得到国内外的广泛应用,在预防输血不良反应和输血相关疾病的传播方面取得了满意的效果。但究竟是在保存前由血液中心或血站对血液进行 WBC 滤除,还是保存后由医疗机构的输血科或血库滤除,研究一直各持己见。笔者进行此项实验,希望为临床选择滤除 WBC 最佳时机提供参考依据。本实验显示,保存前滤除血液 FHb 浓度在第 14 天有明显增高,K⁺ 在第 21 天有明显增高,表明由血站对血液进行保存前滤除,RBC 在经过去除 WBC 滤器时受到机械损伤,并随保存时间延长,损伤的 RBC 膜逐渐破损,RBC 内的 K⁺ 外溢,致使滤白血浆中 K⁺ 和 FHb 浓度升高。血浆中 K⁺ 浓度在保存 2 周后高出正常 4 倍以上,3 周可达 32 mmol/L,

2 结 果

两种 WBC 滤器的滤除效果无明显区别。随保存时间延长,B 组 FHb 在第 14 天有明显增高,K⁺ 在第 21 天才明显增高。A 组炎性细胞因子水平在 15~21 d 时有明显增高,B 组在保存期内则无明显增高,结果见表 1~3。

休克、肾功能不全或大面积肌肉损伤患者即使输入少量保存血,也易发生高钾血症。因而,因 RBC 膜的损伤而改变原有 RBC 的有效保存时间,过滤后保存时间较长的 RBC 悬液对受血者造成的伤害越来越得到临床医生的关注。

近年来有研究指出,全血在 4℃ 储存 72 h,10% 的 WBC 就已经裂解死亡,在 4℃ 储存 7 d,25% 的粒细胞已不完整,随着细胞的死亡和裂解,细胞碎片增加,它们中有些仍含有 HLA-I 和 HLA-II 类抗原,不能被 WBC 滤器滤除,同样可引起 HLA 同种免疫反应,即血液制品的储存时间长短会影响白细胞滤除效果^[5-8]。含 WBC 的血液在保存过程中,随着 WBC 的代谢和裂解,会释放一些代谢产物和细胞因子,如炎性细胞因子(IL-1、IL-6、IL-8、TNF-α),但是这些炎性细胞因子水平在 15~21 d 时才有明显增高,另外血库型滤器处理的 RBC 在 1 周以内使用完,况且每个个体因炎性细胞因子发生 FNHTR 的可能也存在很大的个体差异。此外,综合性医院成分输血率已达 99%,从血站取回的已不是全血,而是去除血浆的悬浮 RBC,WBC 产生炎性因子的可能性降低。由于血站为了保证血液的库存量,会储备前几天采集的血液,并且血站本着远期血先发的原则,送到血库的血液一般都是 4~5 d 之前采集,所以血库过滤 WBC 一般都在采集后第 5 天进行,本次实验中贮存前 WBC 过滤后的血液保存 14 d 后 FHb 浓度有明显增高。为了输血安全笔者建议经血库型 WBC 滤器过滤后的悬浮 RBC 尽量在 24 h 内用完,但由于一些客观原因不能在 24 h 内用完的,最好在 7 d 内用完。

有学者指出,医院滤除 WBC 技术是开放性操作,很容易

受细菌感染。本研究表明,两种方法滤白 RBC 经细菌培养后结果均为阴性。笔者认为,影响过滤 WBC 效率的主要影响因素除滤材质量外,过滤时间、温度和流速也直接影响有效过滤。医疗机构在滤除 WBC 的过程中,只要选择符合质量要求的滤器,严格执行国家要求的操作标准,注意冷链温度,按滤器使用说明书严格无菌操作,4℃ 冰箱中至少可保存 7 d。本研究的滤白血制品均是在恒温条件下滤除 WBC,这样就防止了 WBC 因快速挤压及变形力增加而突破滤器逃逸,确保滤除 WBC 的效率^[9-11]。

血液储存前 WBC 过滤在中国至今未得到完全推广应用,且对血液储存时间无规范性要求^[12]。因此,对于 WBC 滤除术的应用策略应符合中国国情,不同地区采取不同策略,避免“一刀切”;通过加强管理和监督,制定准入标准,允许符合条件的医院开展该项目,以满足临床输血的需要,确保用血安全。

参考文献

- [1] 吴基.全血及血液成分的临床应用//田兆嵩.临床输血学[M].北京:人民卫生出版社,2002:22-25.
- [2] 李聚林,罗志,何伟兰.悬浮红细胞的临床应用[J].中国输血杂志,2007,20(6):480-483.
- [3] 郭树俭,张琳.成分输血//刘杰,贾冠军.实用临床输血学[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,2001:29-30.
- [4] 李天君,赵峰,刘晓丽,等.血液白细胞滤除方法及其临床应用效

- 果比较[J].医学临床研究,2010,127(1):17-19.
- [5] 刘家军,伍新尧,潘祥林,等.去白细胞输血治疗对恶性血液病化疗患者细胞免疫能的影响[J].实用诊断与治疗杂志,2004,18(1):6.
- [6] 赵林娜,李建斌.影响全血白细胞过滤效果的多因素分析[J].中国误诊学杂志,2005,5(3):488.
- [7] 田兆嵩.去除白细胞输血的临床意义//邓硕曾,刘进.血液保护与输血安全[M].成都:四川科学技术出版社,2007:252-253.
- [8] 梁晓虎,李健民,沈莉,等.血液去除白细胞概况[J].河北医药,2005,27(1):43-44.
- [9] Thibault L,Beauséjour A,Jacques A,et al. Improved leucoreduction of red blood cell units prepared after a 24-h hold with the platelet-rich plasma method using newly developed filters[J]. Vox Sang,2008,94(4):286-291.
- [10] 邓秀芝,王毅力,高健.输血相关性移植物抗宿主病[J].中国全科医学,2005,8(10):849-851.
- [11] McFaul SJ,Corley JB,Mester CW,et al. Packed blood cells stored in AS-5 become proinflammatory during storage[J]. Transfusion,2009,49(7):1451-1460.
- [12] 董作仁.去白细胞输血[J].中国实用内科杂志,2004,24(9):519-520.

(收稿日期:2011-05-25)

(上接第 1942 页)

相对较高,在太平洋群岛波利尼亚人和芬兰人中频率则比较高^[5]。日本人群 JK(a-b-)表型检出率为 1:36 000,中国台湾人群为 1:10 000,中国澳门人群为 1:410 000^[6-7];广东番禺人群中 JK(a-b-)表型检出率为 10:50 034^[8],明显高于上海人群(2:48 400)^[9]和广东韶关人群(4:44 323)^[10],而深圳地区尚无相关数据。深圳是典型的移民城市,人群结构复杂,有包括汉族和 54 个少数民族在内的 55 个民族,同时还有大量外籍人士在此居住。因此,研究深圳地区 JK(a-b-)表型的基因频率有重要意义。本次研究发现,深圳地区人群中 JK(a-b-)表型出现的频率为 0.019 6,略低于番禺地区人群 0.019 9。有关深圳地区 JK(a-b-)表型的分子机制深入研究正在进行中。

检测 JK(a-b-)表型的尿素溶解实验是由 Heaton 和 McLoughlin 在 1982 年偶然发现的^[11]。Kidd 血型抗原为尿素转运蛋白,JKa 或 JKb RBC 可以主动转运尿素通过细胞膜,而 JK(a-b-)表型个体的尿素转运仅仅依靠扩散,其速度可能是主动转运的千分之一。研究表明 JK(a-b-)表型个体 RBC 可以耐受 2 mol/L 的尿素溶液,往往 15~30 min 内完全不溶,45 min 或更长时间不能完全溶解,而其他的表型 1~2 min 内完全溶解^[12]。国内孟艳等^[13]已经对尿素转运蛋白、JK(a-b-)表型患者的 RBC 膜对尿素的跨膜转运能力明显下降、尿素溶解 RBC 做了大量研究,利用这一点笔者进行 JK(a-b-)表型筛选。为了便于大批量样本的筛选,本研究使用 96 孔微板法进行尿素溶血试验,简化了操作步骤,缩短了筛选时间。经血清学确认,结果完全吻合,证明该技术具有操作简单、方便、快速、特异性高等优点,而且可在一般实验室进行筛选检测,适合应用于大规模筛查,也可用于其他稀有血型系统的筛查与研究。

参考文献

- [1] 罗广平,汪传喜,夏文杰,等.稀有抗体抗-JK 的发现及 JK(a-b

- 一)血型家系遗传背景研究[J].中国输血杂志,2008,21(3):172-174.
- [2] Allen FH,Diamond LK,Niedziela B. A new blood-group antigen [J]. Nature,1951,167:482.
- [3] Plaut G,Ikin EW,Mourant AE,et al. A new blood-group antibody,anti JKb[J]. Nature,1953,171(4394):431.
- [4] Pinkerton FJ,Mermod LE,Liles BA,et al. The phenotype JK(a-b-) in the Kidd blood group system[J]. Vox Sang,1959(4):155-160.
- [5] Henry S,Woodfield G. Frequencies of the JK(a-b-) phenotype in Polynesian ethnic groups[J]. Transfusion,1995,35(3):277.
- [6] Tani Y,Nakake R,Ogawa H,et al. The rare blood programe in japan[J]. Chin J Blood Transfation,2001,14(Suppl):156.
- [7] Choi SC,Adelina AP,Lam CH,et al. Rare blood groups encountered in Macau[J]. Chin J Blood Transfation,2001,14(Suppl):192.
- [8] 邓诗桢,曾玫玫,严康峰,等.番禺地区无偿献血人群中 JK(a-b-)表型的筛选与研究[J].中国输血杂志,2007,20(1):9-12.
- [9] 朱自严,沈伟,陈和平,等.上海地区部分人群 JK(a-b-)、Dib、Wrb、K0、Ena-、Tja-、Ge-稀有血型筛选[J].中国输血杂志,2002,15(4):232-233.
- [10] 罗洪清,元霞,刘凯波,等.韶关地区人群 ABO、Rh、MN、P 及 JK(a-b-)血型分布[J].中国生物制品学杂志,2008,21(6):524-526.
- [11] 杰夫·丹尼尔.人类血型[M].朱自严,译.北京:科技出版社,2007:409-420.
- [12] 朱发明,严力行. JK(a-b-)表型分子生物学研究进展[J].国外医学:输血及血液学分册,2003,26(5):424-426.
- [13] 孟艳,周雪艳,李扬.一中国家族中导致 JKnull 显性的 JK 位点的一个新突变 [J].中国科学:C 辑,2005,35(3):201-205.

(收稿日期:2011-05-09)