新型微波解冻装置解冻冰冻红细胞的方法学评价

张三明, 周宏宇, 涂洪钢, 石展鹰, 李春荣, 黄建强

基金项目: 南京军区 2007 年度医药科技创新资助项目

作者单位: 315040 浙江宁波, 解放军 113 医院

作者简介: 张三明(1973-), 男, 医学学士, 主管技师, 研究方向: 血液保存与复苏。E-mail: zsm113yy@yahoo.com.cn

【摘要】 目的 应用新型微波解冻装置解冻冰冻红细胞, 检测质量控制指标, 并对新型微波解冻装置和红细胞制备效果进行评价。方法 应用新型微波解冻装置解冻以甘油为保护剂 -80℃ 保存的红细胞, 用不同浓度的洗涤液洗涤去除甘油, 以红细胞回收率、游离血红蛋白含量、残余甘油含量、体外溶血试验和无菌试验为质量检测控制项目。结果 新型微波解冻装置能快速冰冻红细胞, 解冻后红细胞质量指标均达到《全血及成分质量要求》(GB18469-2001) 的要求, 在红细胞回收率方面有明显提高, 并且缩短了制备时间。结论 新型微波解冻装置能快速解冻冰冻红细胞, 质量符合标准, 为解决血液长期储存、保障供血和稀有血型患者输血及自身输血提供了新的方法和手段, 特别在野战、自然灾害等特殊条件下急救能发挥作用, 值得推广应用。

【关键词】 新型微波解冻装置; 微波水热法; 冰冻红细胞; 甘油; 评价

【中图分类号】 R 457.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2010)02-0109-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.02.03

Methodological evaluation of new microwave thawing devices in thawing frozen red blood cells ZHANG San-ming, ZHOU Hong-yu, TU Hong-gang, et al. People's Liberation Army 113 Hospital, Ningbo Zhejiang 315040, China

【Abstract】 Objective To use the new microwave thawing devices for thawing frozen red blood cells, test quality control indicators, and evaluate the new microwave thawing devices and the effects of red blood cell preparation. **Methods** The new microwave thawing devices were used for thawing the red blood cells preserved in glycerol -80 °C, the glycerol was removed with different concentrations of washing liquid, the red blood cell recovery, free hemoglobin, residual glycerol content, in vitro hemolysis test and the sterility test were used as for the quality inspection control project. **Results** The new microwave thawing devices can quickly thaw the frozen red blood cells, the quality indicators of thawed red blood cells were in accord with "whole blood and component quality requirements" (GB18469-2001), the recovery rate of red blood cells was markedly improved and the preparation time was shortened. **Conclusion** The new microwave thawing devices can quickly thaw frozen red blood cells, the quality was in accord with standard. It provide new ways and means for the long-term storage of blood, guarantee of the blood supply, blood transfusion in patients with rare blood groups and blood transfusion itself, especially in first aid of the field, natural disasters and other special conditions it can play a role, it is worth popularizing.

【Key words】 New microwave thawing devices; Microwave hydrothermal method; Frozen red blood cells; Glycerol; Evaluation

随着临床输血研究的深入,稀有血型患者输血及自身输血也在逐年增加,特别在野战、自然灾害等特殊条件下的血液供应也要求延长血液的保存期,目前血站的常规做法是通过甘油化深低温保存红细胞技术长期保存红细胞^[1]。我们为了缩短冰冻红细胞的复苏时间和提高质量,设计了微波解冻装置,采用微波水热法解冻冰冻红细胞,检测冰冻红细胞复苏后的质量控制指标,并对微波水热法和红细胞

制备效果进行评价,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 红细胞悬液由本站采集制备;57.1%复方甘油溶液、三珠袋、9% NaCl 溶液由北京博得桑特公司提供;羟乙基淀粉 40 氯化钠溶液由山东华鲁制药公司提供。

1.2 仪器 -80℃ 低温冰箱(日本 Sanyo 公司)、大容量冷冻离心机(德国 cryofuge6000I)、全自动血

球计数仪(日本 Sysmex)、三通道定时器(日本 Oregon)、精密电子温度计(英国 Comark)、紫外线可见光度仪(上海 UNIC 公司)、新型微波解冻装置(自制)。

1.3 方法

1.3.1 冰冻保存 储存7 d 内的红细胞悬液,4 ℃,2 500 r/min 离心 10 min,制成浓缩红细胞,在百级层流室内 10 ml/min、150 次/min 水平摇摆条件下分 2 次加入计算量的 50% 复方甘油溶液,中间水平静置平衡 10 min 使渗透压得到平衡,同法加入余量复方甘油溶液,使甘油浓度达到 40% (W/V),水平静置 30 min 后,1 590 r/min 离心 5 min,弃去上层多余液体,置 -80 ℃ 低温冰箱保存。

1.3.2 解冻复苏 冰冻保存的红细胞采用微波水热法 42 ℃ 解冻,在百级层流室内 20 ml/min、150 次/min 水平摇摆条件下加入 9% NaCl 溶液 80 ml,水平静置 10 min,加入羟乙基淀粉 40 氯化钠溶液 100 ml,离心,弃去上层液体;同法加入羟乙基淀粉 40 氯化钠溶液 100 ml,水平静置 10 min,再加入 0.9% NaCl 溶液 150 ml,离心,弃去上层液体;同法加入 0.9% NaCl 溶液 150 ml,水平静置 5 min,离心,弃去上层液体;同法加入 0.9% NaCl 溶液 100 ml,制成冰冻红细胞悬液。

1.3.3 质量检测 按 GB18469-2001《全血及成分血质量要求》检测冰冻红细胞悬液质量,红细胞回收率、游离血红蛋白含量、体外溶血试验和无菌试验检测方法见文献^[2],残余甘油含量检测方法见文献^[3]。

1.4 统计学方法 采用方差齐性检验,成组设计两样本均数比较的 t 检验。

2 结果

新型微波解冻装置解冻的红细胞质量符合 GB18469-2001《全血及成分血质量要求》的要求,且优于传统方法,提高了复温速率,对红细胞的损伤要低于传统方法,特别在红细胞回收率方面有明显提高,并且缩短了制备时间(新旧方法对比, P < 0.05),各项细胞质量检测结果见表 1。

表 1 冰冻红细胞质量检测结果(n=20, $\bar{x} \pm s$)

检测项目	检测结果	国家质量标准
红细胞回收率(%)	88.41 ± 5.54	≥80
游离血红蛋白含量(g/L)	0.77 ± 0.14	≤1
残余甘油含量(g/L)	2.53 ± 0.16	≤10
体外溶血试验(%)	8.65 ± 5.62	≤50
无菌试验	无菌生长	无菌生长

3 讨论

3.1 冰冻红细胞是目前长期保存红细胞的一种保存方法。红细胞在保存过程中主要受到冰晶的机械损伤,造成溶血^[4]。现在被广泛使用的冰冻血浆解冻箱,通过循环水给血袋加热至冰块完全融化,时间在 35 min 左右,此过程中,由于血袋内外温度不均易形成冰晶和较长的解冻时间会造成红细胞的损伤,影响了红细胞的回收率和质量。我们设计的新型微波解冻装置采用微波水热法,加热均匀,只需 5 min 就可以完成解冻,减少了红细胞内的冰晶形成,减少了机械损伤,提高了红细胞的回收率。冰冻红细胞在解冻过程中细胞内外渗透压的改变会引起细胞脱水造成蛋白酶变性,直接影响红细胞的质量,解冻时间越短,引起细胞内外渗透压的改变的时间就越短,对红细胞的质量影响就越小,我们采用的微波水热法,大大缩了解冻时间,因而了提高红细胞的质量。

3.2 新型微波解冻装置采用微波水热法,与传统的加热方式不同,不需热传导过程,它是使被加热物体本身成为加热体,可以在很短的时间内达到所需加热温度。微波水热法通过磁控管产生微波并发射出来,再通过水作为介质传导,水是强烈吸收微波的物质,在微波的作用下,其极性取向随着外电磁场的变化而变化,致使分子急剧摩擦、碰撞,从而达到微波加热的目的。微波引起的是水分子的运动,并不会改变物质的性质。微波对染色体的损伤作用可能与微波频率、功率、辐射时间及间隔有关^[5],我们采用的是 2450 MHz 的微波,功率 2.2 kW,辐射不会导致 DNA 的明显损伤^[6]。

3.3 新型微波解冻装置解冻的红细胞质量符合 GB18469-2001《全血及成分血质量要求》的要求,且优于传统方法,提高了复温速率,对红细胞的损伤要低于传统方法,特别在红细胞回收率方面有明显提高,并且缩短了制备时间。

3.4 新型解冻装置该装置具有以下显著特点:(1) 无需预热,节省准备时间,解冻时间在 5 min 之内,可快速提供血液制品。(2) 可以解冻冰冻红细胞、冰冻血小板、冰冻血浆,可以做到抢救伤员需要什么提供什么,提高了血液保障能力。(3) 采用红外线测温探头和可调温控器,控制精确,保证了血液制品的质量。(4) 携行方便,机动性强,并且配有自备电源,可以在无外接电源的情况下工作 30 min,特别在野战、自然灾害等特殊条件下急救能发挥作用,值得推广应用。

参考文献

- 1 Valeri CR, Ragno G, Pivacek LE, et al. An experiment with glycerol frozen red blood cells at -80°C for up to 37 years [J]. Vox Sang, 2000,79(3):168-174.
- 2 中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程[M]. 天津:天津科学技术出版社,1997:41-42.
- 3 朱发明,严力行. 酶法检测解冻红细胞残留甘油含量[J]. 临床输血与检验,2002,4(2):25-26.
- 4 王桂喜,陈自武,胡晓成. 两种处理对低温保存红细胞效果的影响[J]. 临床输血与检验,2008,10(4):316-318.
- 5 Maes A, Collier M, Van Gorp U, et al. Cytogenetic effects of 935.2-MHz(GSM) microwaves alone and in combination with mitomycin C [J]. Mutat Res,1997,393(1-2):151-156.
- 6 Fritze K, Wiessner C, Kuster N, et al. Effect of global system for mobile communication microwave exposure on the genomic response of the rat brain[J]. Neuroscience,1997,81(3):627-639.

[收稿日期 2009-10-28][本文编辑 谭毅 刘京虹]

论 著

视网膜断层扫描仪测量广西汉族正常人群 视盘参数的研究

李 莉, 杨 珂, 白海琴

基金项目: 广西科学技术基金项目(编号:桂科回0731011)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院眼科

作者简介: 李 莉(1963-),女,主任医师,硕士学位,研究方向:青光眼、白内障、角膜病临床研究。E-mail:sabarana@163.com

[摘要] 目的 了解本地区汉族正常人群视盘参数的正常值。方法 将三代居住广西隆林县无血缘关系的120例正常汉族成年人纳入研究对象,运用海德堡视网膜断层扫描仪(Heidelberg retina tomograph-II, HRT-II)分别检测不同年龄段汉族人群视乳头地形图总体参数。结果 正常汉族人视盘参数正常值:视盘面积(DA)为 $(2.2165 \pm 0.4266) \text{mm}^2$,视杯面积(CA)为 $(0.4816 \pm 0.2979) \text{mm}^2$,盘沿面积(RA)为 $(1.7311 \pm 0.3217) \text{mm}^2$,视杯/视盘面积比值(C/DAR)为 (0.2074 ± 0.1092) ,盘沿/视盘面积比值(R/DAR)为 (0.7923 ± 0.1091) ,视杯容积(CV)为 $(0.1076) \text{mm}^3$,盘沿容积(RV)为 $(0.5196 \pm 0.1519) \text{mm}^3$,平均视杯深度(MCD)为 $(0.2055 \pm 0.0798) \text{mm}$,最大视杯深度(MxCD)为 $(0.6039 \pm 0.1949) \text{mm}$,视乳头轮廓线高度变化值(HVC)为 $(0.4513 \pm 0.1639) \text{mm}$,视杯形态测量(CSM)为 $(-0.2155 \pm 0.0617) \text{mm}$,平均视网膜神经纤维层厚度(mRNFLT)为 $(0.3059 \pm 0.0845) \text{mm}$,视网膜神经纤维层截面积(RNFLA)为 $(1.5785 \pm 0.3830) \text{mm}^2$ 。按年龄分成4组,正常汉族人mRNFLT、RNFLA在49岁以下与50岁以上比较差异有统计学极显著意义($P < 0.01$),而49岁以下各组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。性别间各参数比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。眼别间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。汉族C/DAR比值双眼差值范围为0.048~0.112。RV和HVC两个参数不受视盘大小影响。结论 HRT-II可定量检测广西汉族正常人群视盘参数,且不同年龄视盘参数的均值与性别及眼别无关,RV和HVC可做为一个评价指标。

[关键词] 汉族正常人群; 视盘参数; 视网膜断层扫描**[中图分类号]** R 770.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2010)02-0111-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.02.04

Study of Heidelberg retinal tomography in the detection of optic disc parameters in Han nationality in Guangxi LI Li, YANG Ke, BAI Hai-qin. Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To study the optic disc parameters of normal people in Han nationality in Guangxi.**Methods** One hundred and twenty blood-unrelated nomoral volunteers living in Lonlin region of Guangxi were in-