



# 中华人民共和国医药行业标准

YY 0329—2024

代替 YY 0329—2009

## 一次性使用去白细胞滤器

Leukocyte reduction filters for single use

2024-07-08 发布

2027-07-20 实施

国家药品监督管理局 发布

## 目 次

前言 .....	III
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 分类与命名 .....	1
5 材料 .....	1
6 要求和试验方法 .....	1
6.1 物理性能 .....	1
6.2 化学性能 .....	2
6.3 生物性能 .....	3
6.4 过滤性能 .....	3
7 标志 .....	4
7.1 初包装 .....	4
7.2 外包装 .....	4
8 包装 .....	4
附录 A (规范性) 微粒含量测定方法——微粒检测仪法 .....	5
附录 B (规范性) 微粒含量测定方法——显微镜计数法(仲裁法) .....	6
附录 C (规范性) 化学性能检验液制备 .....	8
附录 D (规范性) 白细胞残留量测定方法——普通光学显微镜计数法 .....	9
附录 E (规范性) 白细胞残留量测定方法——荧光显微镜计数法(仲裁法) .....	11
附录 F (规范性) 游离血红蛋白测定方法——四甲基联苯胺法 .....	12
附录 G (规范性) 游离血红蛋白测定方法——邻联甲苯胺法(仲裁法) .....	14
附录 H (规范性) 红细胞、血小板回收率测定方法 .....	15
附录 I (规范性) 血小板低渗休克相对变化率试验 .....	17
参考文献 .....	19

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 YY 0329—2009《一次性使用去白细胞滤器》，与 YY 0329—2009 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 更改了密合性试验条件(见 6.1.2,2009 年版的 5.1.2)；
- 更改了保护装置(套)(见 6.1.6,2009 年版的 5.1.6)；
- 更改了生物相容性(见 6.3.1,2009 年版的 5.5)；
- 更改了无菌(见 6.3.2,2009 年版的 5.3.1)；
- 更改了细菌内毒素(见 6.3.3,2009 年版的 5.3.2)；
- 更改了白细胞残留量(见 6.4.1,2009 年版的 5.4.1)；
- 更改了游离血红蛋白(见 6.4.2,2009 年版的 5.4.2)；
- 更改了红细胞/血小板回收率(见 6.4.3,2009 年版的 5.4.3)；
- 更改了血小板低渗休克相对变化率(见 6.4.4,2009 年版的 5.4.4)；
- 删除了检验规则(见 2009 年版的第 6 章)；
- 删除了溶血试验(见 2009 年版的附录 J)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用输液器具标准化技术委员会(SAC/TC 106)归口。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2002 年首次发布为 YY 0329—2002,2009 年第一次修订；
- 本次为第二次修订。

# 一次性使用去白细胞滤器

## 1 范围

本文件规定了一次性使用去白细胞滤器的分类与命名、材料、要求、标志和包装,描述了相应的试验方法。

本文件适用于一次性使用去白细胞滤器(以下简称“去白细胞滤器”)。

注:去白细胞滤器可与输血器、采血/血液成分分离系统连接,用于去除血液及血液成分中的白细胞。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 8369.1 一次性使用输血器 第1部分:重力输血式

GB/T 14233.1—2022 医用输液、输血、注射器具检验方法 第1部分:化学分析方法

GB/T 14233.2 医用输液、输血、注射器具检验方法 第2部分:生物学试验方法

GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分:风险管理过程中的评价与试验

YY/T 0466.1 医疗器械 用于制造商提供信息的符号 第1部分:通用要求

YY/T 0615.1 标示“无菌”医疗器械的要求 第1部分:最终灭菌医疗器械的要求

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 分类与命名

去白细胞滤器按其过滤的血液成分分为全血、红细胞和血小板去白细胞滤器。

符合本文件要求的适用于全血、红细胞的去白细胞滤器标记为:RF YY 0329—2024。

符合本文件要求的适用于血小板的去白细胞滤器标记为:PF YY 0329—2024。

## 5 材料

用于制造去白细胞滤器的材料应满足第6章的要求。

## 6 要求和试验方法

### 6.1 物理性能

#### 6.1.1 外观

以正常视力或矫正视力检验时,去白细胞滤器外壳应光洁,无明显机械杂质、异物、裂纹,焊接或粘

接面应均匀、无气泡。

### 6.1.2 密合性

去白细胞滤器一端封口,另一端通入高于大气压 50 kPa 的气体,浸入 40 °C 水中,持续 2 min,应无泄漏迹象。若去白细胞滤器与管路连接,其连接部位也应无泄漏迹象。

### 6.1.3 连接牢固度

去白细胞滤器若与其他部件连接,各连接处应能承受 15 N 的静态轴向拉力,持续 15 s,无断裂和脱落。

### 6.1.4 微粒污染

按附录 A 或附录 B 方法测试时,大于 25  $\mu\text{m}$  的微粒数不应超过 1 个/mL,大于 10  $\mu\text{m}$  的微粒数不应超过 10 个/mL,大于 5  $\mu\text{m}$  的微粒数不应超过 100 个/mL。

### 6.1.5 流量

将去白细胞滤器连接到符合 GB 8369.1 要求的输血器上,在 1 m 静压头、溶液温度 23 °C  $\pm$  2 °C 下,30 min 内输送的葡萄糖水溶液( $\rho=400$  g/L)应不少于 700 mL。

### 6.1.6 保护装置(套)

单独无菌供应的去白细胞滤器各端应有保护装置(套),保护装置(套)应保持接头和滤器内表面无菌。

## 6.2 化学性能

### 6.2.1 通用要求

按附录 C 制备的检验液应符合 6.2.2~6.2.7 的要求。

### 6.2.2 还原物质(易氧化物)

按 GB/T 14233.1—2022 中 5.2.2 规定的间接滴定法检验时,检验液与空白液所消耗的高锰酸钾溶液 [ $c(\text{KMnO}_4)=0.002$  mol/L] 的体积之差应不超过 2.0 mL。

### 6.2.3 金属离子

按 GB/T 14233.1—2022 中 5.9 规定的方法进行检验时,检验液中钡、铬、铜、铅、锡的总含量应不超过 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。镉的含量应不超过 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

按 GB/T 14233.1—2022 中 5.6.1 规定的比色法检验时,检验液所呈现的颜色应不超过质量浓度  $\rho(\text{Pb}^{2+})=1$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准对照液。

### 6.2.4 酸碱度

按 GB/T 14233.1—2022 中 5.4.1 规定的方法检验时,检验液与同批空白液作对照,pH 之差应不超过 1.5。

### 6.2.5 蒸发残渣

按 GB/T 14233.1—2022 中 5.5 规定的方法检验时,50 mL 检验液中不挥发物总重量应不超过 2 mg。

## 6.2.6 紫外吸光度

按 GB/T 14233.1—2022 中 5.7 规定的方法检验时,检验液在 250 nm~320 nm 范围内的吸光度应不大于 0.3。

## 6.2.7 环氧乙烷残留量

若采用环氧乙烷灭菌,按附录 C 制备检验液,按 GB/T 14233.1—2022 中推荐的方法检验时,每只去白细胞滤器环氧乙烷残留量应不大于 1.0 mg。

## 6.3 生物性能

### 6.3.1 生物相容性

按 GB/T 16886.1 进行生物学评价,去白细胞滤器应无生物学危害。

### 6.3.2 无菌

以无菌状态供应的去白细胞滤器,应符合 YY/T 0615.1 的要求。

### 6.3.3 细菌内毒素

按 GB/T 14233.2<sup>1)</sup> 中规定方法试验,每只去白细胞滤器细菌内毒素限量应不超过 20EU。

## 6.4 过滤性能

### 6.4.1 白细胞残留量

按附录 D 或附录 E 规定方法测试时,过滤后血液成分的血小板残留量应不大于  $2.5 \times 10^6$  /单位。

注 1: 本文件中的 1 单位全血是指 200 mL,1 单位混合浓缩血小板中血小板的含量不小于  $2.5 \times 10^{11}$  个(10 单位~14 单位全血中分离出的血小板)。

注 2: 或其他经过确认的等效方法。

### 6.4.2 游离血红蛋白

按附录 F 或附录 G 测试时,RF 型去白细胞滤器过滤全血或红细胞,游离血红蛋白应不大于 300 mg/L。

注: 或其他经过确认的等效方法。

### 6.4.3 红细胞/血小板回收率

按附录 H 测试时,RF 型去白细胞滤器过滤全血或红细胞,红细胞回收率应不小于 85%;PF 型去白细胞滤器过滤单采血小板或混合浓缩血小板,血小板回收率应不小于 85%。

注: 或其他经过确认的等效方法。

### 6.4.4 血小板低渗休克相对变化率

按附录 I 或其他等效方法测试时,PF 型去白细胞滤器过滤单采血小板或混合浓缩血小板,血小板低渗休克相对变化率应小于 10%。

1) GB/T 14233.2 细菌内毒素方法将被 GB/T 14233.3 方法代替。

## 7 标志

### 7.1 初包装

初包装上应至少标有下列信息：

- a) 文字说明内装物；
- b) 无菌、灭菌方法、无热原、一次性使用的文字说明或使用 YY/T 0466.1 中给出的图形符号；
- c) 批号,以“批”字或“Lot”打头；
- d) 失效年月(应能清晰识别)；
- e) 第 4 章规定的产品标记；
- f) 制造商和/或经销商名称、地址。

### 7.2 外包装

外包装上应至少标有下列信息：

- a) 文字说明内装物；
- b) 贮存条件；
- c) 批号；
- d) 失效年月；
- e) 制造商和/或经销商名称、地址。

## 8 包装

8.1 去白细胞滤器应采用适宜的包装,表明以无菌状态提供的产品在贮存期内保持无菌。去白细胞滤器包装打开后应留有打开过的迹象。

8.2 去白细胞滤器包装内不应有肉眼可见异物。

## 附 录 A

(规范性)

## 微粒含量测定方法——微粒检测仪法

## A.1 方法提要

通过冲洗去白细胞滤器内腔表面,收集洗脱液用微粒检测仪进行微粒计数。

采用本法测定结果不符合规定时,应采用显微计数法进行测定,并以显微计数法的测定结果为最终判定依据。

## A.2 试验条件与仪器

## A.2.1 试验条件

试验操作所处环境不应导入明显的微粒,可在超净室、层流净化台或能符合要求的洁净实验室中进行。玻璃仪器和其他所需的用品应洁净。

## A.2.2 仪器

微粒检测仪有搅拌系统,可同时对大于 5  $\mu\text{m}$ 、15  $\mu\text{m}$  和 25  $\mu\text{m}$  的微粒计数。

## A.3 操作步骤

## A.3.1 空白液检测

光阻法取实验室用水或质量浓度 9 g/L 氯化钠溶液,电阻法取质量浓度 9 g/L 氯化钠溶液,经孔径为 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,置微粒检测仪的洁净取样杯中,按仪器使用说明书进行计数,每 1 mL 中含 5  $\mu\text{m}$  以上微粒应在 10 粒以下,含 10  $\mu\text{m}$  以上微粒应在 1 粒以下,并不应有 25  $\mu\text{m}$  以上微粒,否则表明微粒空白液、玻璃仪器和试验环境不适于进行微粒检查,应重新进行处理,检测符合规定后方可进行供试品检查。

## A.3.2 供试液检测

取 1 只去白细胞滤器,用 A.3.1 制备的空白液 200 mL 冲洗去白细胞滤器内腔置于洁净的适宜容器中,再将洗脱液倒入微粒检测仪的取样杯中,开启搅拌器,缓缓搅拌使溶液均匀,按微粒检测仪使用说明书进行测定不少于 3 次,总取样量应不少于 15 mL。第一次数据不计,取后续测定结果的平均值。另取去白细胞滤器(不少于 2 只),按上述操作方法重复测定。由各只去白细胞滤器测定后得到的平均值计算出每 1 mL 中所含的微粒数。

## A.4 结果计算

按式(A.1)计算去白细胞滤器微粒含量:

$$N = N_a - N_b \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

$N$  ——供试液微粒数,单位为个每毫升(个/mL);

$N_a$  ——供试液测定微粒数,单位为个每毫升(个/mL);

$N_b$  ——空白液微粒数,单位为个每毫升(个/mL)。

## 附 录 B

(规范性)

### 微粒含量测定方法——显微镜计数法(仲裁法)

#### B.1 方法提要

通过冲洗去白细胞滤器内腔表面,收集分析滤膜上的微粒,并用显微镜进行计数。

#### B.2 试验条件与器具

**B.2.1 试验条件:**试验操作所处环境不应导入明显的微粒,可在超净室、层流净化台或能符合要求的洁净实验室中进行。玻璃仪器和其他所需的用具应洁净。

**B.2.2 显微镜:**双筒大视野显微镜,目镜内附标定的测微尺(每格  $0.05\ \mu\text{m}\sim 0.1\ \text{mm}$ )。坐标轴前后、左右移动范围均应大于  $30\ \text{mm}$ ,显微镜装置内附有光线投射角度、光强度均可调节的照明装置。检测时放大 100 倍。

**B.2.3 镜台测微尺:**用于目镜测微尺的标定。

**B.2.4 微孔滤膜:**白色,孔径  $0.45\ \mu\text{m}$ 、直径  $25\ \text{mm}$ ,一面印有间隔  $3\ \text{mm}$  的格栅;膜上如有  $5\ \mu\text{m}$  以上的微粒,应在 10 粒以下,如有  $10\ \mu\text{m}$  以上微粒,应在 5 粒以下,并不应有  $25\ \mu\text{m}$  以上微粒。必要时,可用微粒检查用水冲洗使其符合要求。

**B.2.5 微粒检查用水:**蒸馏水(或其他适宜试剂)使用前需经不大于  $1.0\ \mu\text{m}$  的微孔滤膜滤过。

**B.2.6 直径  $25\ \text{mm}$  夹式定量滤器。**

**B.2.7 平皿。**

**B.2.8 平头无齿镊子。**

**B.2.9 抽滤装置:**抽滤瓶、真空泵。

**B.2.10 计数器。**

#### B.3 操作步骤

##### B.3.1 清洗与安装

试验前用微粒检查用水充分清洗过滤装置、滤膜(正反面)和其他试验装置。将滤膜平整放入直径  $25\ \text{mm}$  夹式定量滤器底部,开启真空泵,使滤膜与直径  $25\ \text{mm}$  夹式定量滤器底部贴合良好,关闭真空泵。

##### B.3.2 空白液检测

用适宜的方法抽取或量取微粒检查用水  $200\ \text{mL}$ ,缓缓注入直径  $25\ \text{mm}$  夹式定量滤器中,静置  $1\ \text{min}$ ,缓缓抽滤至滤膜近干,然后用平头无齿镊子将滤膜移置平皿上(必要时,可涂抹极薄层的甘油使其滤膜平整),微启盖子使滤膜适当干燥后,将平皿闭合,置显微镜载物台上。调好入射光,放大 100 倍进行显微测量,调节显微镜至滤膜格栅清晰,移动坐标轴,分别测定有效过滤面积上粒径大于  $5\ \mu\text{m}$ 、 $10\ \mu\text{m}$ 、 $25\ \mu\text{m}$  的微粒数。每  $1\ \text{mL}$  中含  $5\ \mu\text{m}$  以上微粒应在 10 粒以下,含  $10\ \mu\text{m}$  以上微粒应在 1 粒以下,并不应有  $25\ \mu\text{m}$  以上微粒。否则表明微粒空白液、玻璃仪器和试验环境不适于进行微粒检查,应重新进行处理,检测符合规定后方可进行供试品检查。

##### B.3.3 供试液检测

重复 B.3.1。

取 1 只去白细胞滤器,用 200 mL 微粒检查用水冲洗滤器内腔,将收集的洗脱液缓缓注入直径 25 mm 夹式定量滤器,检测方法同 B.3.2。另取滤器(不少于 2 只),按上述操作方法重复测定。由各只滤器测定后得出的平均值计算出每 1 mL 中所含的微粒数。

#### B.4 结果计算

按 A.4 中公式计算去白细胞滤器微粒数。

附 录 C

(规范性)

化学性能检验液制备

取 3 只灭菌后的去白细胞滤器与 1 个 500 mL 的玻璃烧瓶连成 1 个封闭的循环系统,烧瓶内加入符合 GB/T 6682 的一级水或二级水 350 mL,并保持在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,通过一蠕动泵作用于一段尽可能短的医用硅橡胶泵管上,使水以 1 L/h 的流量循环 2 h,收集全部液体并冷却,即得检验液。

取同体积符合 GB/T 6682 的一级水或二级水置于玻璃瓶中,不装样品同法制备空白对照液。

## 附录 D

(规范性)

## 白细胞残留量测定方法——普通光学显微镜计数法

## D.1 方法提要

该方法通过用普通光学显微镜测定经过白细胞滤器过滤后的血液成分中的白细胞残留量来评价滤器的白细胞滤除或吸附效果。

## D.2 试验仪器、试剂与器具

光学显微镜、100  $\mu\text{L}$ (或 50  $\mu\text{L}$ )细胞计数板、结晶紫染液(0.1 克每升的结晶紫溶解于 1% 乙酸溶液,即 Turk solution)、溶血剂、可调微量移液器(100  $\mu\text{L}$ ~1 000  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$ ~100  $\mu\text{L}$ )、微量移液头(精确到体积 40  $\mu\text{L}$ )、塑料试管、 $\phi$ 18.5 培养皿、滤纸。

## D.3 操作步骤

注 1: 试验使用无滑石粉手套,以免将滑石粉颗粒误认为白细胞。

注 2: 实验室确认结晶紫染色结果,用未去除白细胞的血液成分作对照。

## D.3.1 血液样品制备

RF 型去白细胞滤器用于全血或红细胞(型式检验采用 24 h 内采集的血液),PF 型去白细胞滤器用于血小板(型式检验采用 24 h 内采集的血小板)。通过一管路与灭菌后的去白细胞滤器连接,在 1 m 净压头下使血液流过去白细胞滤器,流出的血液收集至一洁净的称量容器内即得血液样品,测定过滤后血液样品的体积。

## D.3.2 白细胞残留量计数

将 D.3.1 过滤后的血液样品混匀。

取 200  $\mu\text{L}$  全血或红细胞[其红细胞比容(Hct)应小于 60%]加入含 80  $\mu\text{L}$  溶血剂的塑料试管中,反复吹打几次,直至微量移液头上不再附有红细胞。然后加 720  $\mu\text{L}$  结晶紫染液于上述混合液中混匀,最终体积为 1 000  $\mu\text{L}$ 。

取 200  $\mu\text{L}$  血小板加入含 800  $\mu\text{L}$  结晶紫染液的塑料试管中,反复吹打几次,直至微量移液头上不再附有血小板,最终体积为 1 000  $\mu\text{L}$ 。平行操作 3 管。

在计数板上加盖玻片,将样品注满计数室(不可溢出);然后将计数板置于附湿滤纸的培养皿内加盖,静置 20 min 后,将计数板置于显微镜下对白细胞计数。

注 1: 计数方法精确性的论证能使用已知白细胞浓度的红细胞(用几乎不含白细胞的红细胞通过 2 只滤器串联过滤)将样品系列稀释,用该方法计数,比较计数值与期望值。

注 2: 该方法在白细胞浓度低于 1 个/ $\mu\text{L}$  时,其精确度尚不清楚。

## D.4 结果计算

按式(D.1)计算去白细胞滤器白细胞残留量:

$$LR = \frac{nV}{V_s} \times 10^3 \quad \dots\dots\dots(D.1)$$

式中：

LR —— 白细胞残留量,单位为个；

$n$  —— 3 管样品白细胞计数平均值,单位为个；

$V$  —— 过滤后血液成分的体积,单位为毫升(mL)；

$V_s$  —— 供计数血液样品的体积,单位为微升( $\mu\text{L}$ )；

$10^3$  —— 换算系数。

## 附 录 E

(规范性)

## 白细胞残留量测定方法——荧光显微镜计数法(仲裁法)

## E.1 方法提要

该方法通过用荧光显微镜测定经过白细胞滤器过滤后的血液成分中的白细胞残留量来评价滤器的白细胞滤除或吸附效果。

## E.2 试验仪器、试剂与材料

E.2.1 荧光显微镜:蓝色激发光,波长为 405 nm~490 nm。

E.2.2 细胞计数板:计数室体积为 100  $\mu\text{L}$ (或 50  $\mu\text{L}$ )。

E.2.3 荧光试剂(PI):碘化丙啶(PI)5 mg、柠檬酸钠 100 mg 和 Triton X-100 30  $\mu\text{L}$ ;加 100 mL 蒸馏水溶解,经 0.22  $\mu\text{m}$  孔径的微孔滤膜过滤制得 PI 荧光试剂,储存于 4  $^{\circ}\text{C}$  暗处。

## E.3 操作步骤

## E.3.1 血液样品制备

同 D.3.1。

## E.3.2 白细胞残留计数

取 100  $\mu\text{L}$  过滤后混匀的血液样品与 PI 荧光试剂以 1:9 或适当比例稀释,静置 20 min。用细胞计数板在荧光显微镜 405 nm~490 nm 波长下,对发出橘红色荧光的白细胞计数。平行操作 3 管。

## E.4 结果计算

按 D.4 中公式计算去白细胞滤器白细胞残留量。

## 附 录 F

(规范性)

## 游离血红蛋白测定方法——四甲基联苯胺法

## F.1 方法提要

血红蛋白(Hb)是一种有色蛋白,其分子质量为 64.458 kD。红细胞 Hb 中亚铁血红素有类似过氧化物酶的作用,可分解过氧化脲使四甲基联苯胺(TMB)氧化显色,在特定波长下测定吸光度的变化,与 Hb 标准溶液比较,可测定样本中 Hb 含量。

本方法是将血液通过滤器,收集经滤器过滤的血液成分,并离心取上层血浆,对其中的血红蛋白测定来评价滤器对红细胞的损伤。

## F.2 试验仪器与试剂

## F.2.1 仪器

血细胞计数仪、恒温水浴箱、分光光度计、离心机。

## F.2.2 试剂

F.2.2.1 ELISA 试剂盒 A 液(含过氧化脲 0.6 g/L 或自行配制),ELISA 试剂盒 B 液(含 TMB 0.25 g/L 或自行配制)。

F.2.2.2 Hb 标准贮存液制备:取 5 mL 采集时间不超过 24 h 的抗凝人全血置于塑料试管中,加 5 mL 质量浓度 9 g/L 的氯化钠注射液,在 1 200g 下离心 5 min,吸出上清液弃去;重复上述步骤 3 次。剩余的红细胞(约 4 mL)加蒸馏水 5 mL,反复轻摇混匀 5 min,在 800g 下离心 10 min,吸取 Hb 液至另一塑料试管中,在血细胞计数仪上测定 Hb 含量,根据 Hb 含量用质量浓度 9 g/L 的氯化钠注射液调至 Hb 质量浓度为 10 g/L,即为 Hb 标准贮存液。将 Hb 标准贮存液分装在带盖小样本管(Doff 管)内冰冻保存。

F.2.2.3 Hb 标准液制备:将 Hb 标准贮存液自然融化后以质量浓度 9 g/L 的氯化钠注射液稀释至 Hb 质量浓度为 100 mg/L。

F.2.2.4 1 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 。

## F.3 操作步骤

## F.3.1 样品制备

取经 RF 型去白细胞滤器过滤的全血或红细胞 10 mL,在 1 190g~1 200g 下离心 20 min,吸出上层血浆或上清液;取 20  $\mu\text{L}$  血浆或上清液置于塑料试管中,制备成待测液,平行操作 3 管。

## F.3.2 空白液、标准液制备

取一塑料空白试管分别加入质量浓度 9 g/L 的氯化钠注射液 20  $\mu\text{L}$ ,制备成空白液。

另取 3 支塑料试管分别加入 Hb 标准液 20  $\mu\text{L}$ ,制备成标准液。

## F.3.3 游离血红蛋白测定

将 A、B 液按 1 : 1 混合,并用蒸馏水再稀释 1 倍,上述各管中加入混合后的 A、B 稀释液各 1 mL,充分混匀,室温放置 10 min。各管分别加 1 mol/L 硫酸 5 mL 终止反应并混匀,用分光光度计在 450 nm 波

长处,光径 10 mm,以空白液作参比,分别测定标准液、样品的吸光度。

#### F.4 结果计算

按式(F.1)计算血浆或血液上清液游离血红蛋白含量:

$$C_{\text{Hb}} = \frac{A_{\text{B}}}{A_{\text{R}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (\text{F.1})$$

式中:

$C_{\text{Hb}}$ ——血浆或血液上清液游离血红蛋白含量,单位为毫克每升(mg/L);

$A_{\text{B}}$ ——样品吸光度平均值;

$A_{\text{R}}$ ——标准液吸光度平均值;

100——血红蛋白标准液血红蛋白含量,单位为毫克每升(mg/L)。

## 附 录 G

(规范性)

### 游离血红蛋白测定方法——邻联甲苯胺法(仲裁法)

#### G.1 方法提要

血红蛋白是一种有色蛋白,其分子质量为 64.458 kD。经邻联甲苯胺氧化后显色,显色反应分两期:第一期氧化产物呈蓝色,反应在 pH4.6 左右进行,吸收峰在 630 nm;第二期氧化产物呈黄色,反应在 pH1.5,吸收峰在 435 nm。

该方法是将血液通过滤器,收集经滤器过滤的血液成分,并离心取上层血浆,对其中的血红蛋白测定来评价滤器对红细胞的损伤。

#### G.2 试验仪器与试剂

##### G.2.1 仪器

恒温水浴箱、分光光度计、离心机。

##### G.2.2 试剂

邻联甲苯胺溶液(称取邻联甲苯胺 0.25 g,溶于冰乙酸 90 mL 中,加蒸馏水稀释至 100 mL。该溶液在冰箱可保存 8 周~12 周,保存期中颜色会逐渐变暗,如颜色太深时,应重新配制)、1%过氧化氢溶液(新鲜配制)、10%乙酸溶液、血红蛋白(Hb)标准液(按 F.2.2.2 和 F.2.2.3 制备)。

#### G.3 操作步骤

##### G.3.1 样品制备

取经 RF 型去白细胞滤器过滤的全血或红细胞 10 mL,在  $1\ 190g\sim 1\ 200g$  下离心 20 min,吸出上层血浆或上清液;取 20  $\mu\text{L}$  血浆或上清液置于塑料试管中,分别加入邻联甲苯胺溶液 1 mL、1%过氧化氢溶液 1 mL,混合后静置 10 min,再加入 10%乙酸溶液 10 mL 混合。平行操作 3 管。

##### G.3.2 空白液、标准液制备

取一塑料试管分别加入邻联甲苯胺溶液 1 mL、1%过氧化氢溶液 1 mL,混合后静置 10 min,再加入 10%乙酸溶液 10 mL 混合,制备成空白液。

另取 3 支塑料试管分别加入血红蛋白标准液 20  $\mu\text{L}$ 、邻联甲苯胺溶液 1 mL、1%过氧化氢溶液 1 mL,混合后静置 10 min,再加入 10%乙酸溶液 10 mL 混合,制备成标准液。

##### G.3.3 游离血红蛋白测定

用分光光度计在 435 nm 波长处,以空白液作参比,分别测定标准液、样品的吸光度。

#### G.4 结果计算

按 F.4 中公式计算血浆或血液上清液游离血红蛋白含量。

## 附 录 H

(规范性)

## 红细胞、血小板回收率测定方法

## H.1 方法提要

该方法是通过测定全血或红细胞和血小板经滤器过滤前、过滤后血液成分中红细胞数、血小板数变化来评价滤器对红细胞和血小板的吸附量。

## H.2 试验仪器与器具

血细胞计数仪、直角离心机、红细胞比容管(Wintrobe氏管)、毛细吸管。

注：毛细吸管的细长部分需超过 11 cm，管端能到红细胞比容管的底部(也能用 1 mL 注射器及长穿刺针代替)。

## H.3 血液样品与测定步骤

## H.3.1 血细胞浓度测定

RF 型去白细胞滤器用于全血或红细胞(型式检验采用 24 h 内采集的血液),PF 型去白细胞滤器用于血小板(型式检验采用 24 h 内采集的血小板)。取 2 mL 血液样品在血细胞计数仪上测定红细胞浓度或血小板浓度;然后将该全血或血小板通过一管路与去白细胞滤器连接,在 1 m 静压头下使全血或血小板流过去白细胞滤器。取过滤后并混匀的血液样品 2 mL,在血细胞计数仪上测定红细胞浓度或血小板浓度。

$R_a$ : 过滤前血液样品红细胞浓度 = 过滤前血液样品红细胞浓度血细胞计数仪读数值;

$R_b$ : 过滤后血液样品红细胞浓度 = 过滤后血液样品红细胞浓度血细胞计数仪读数值;

$P_a$ : 过滤前血液样品血小板浓度 = 过滤前血液样品血小板浓度血细胞计数仪读数值;

$P_b$ : 过滤后血液样品血小板浓度 = 过滤后血液样品血小板浓度血细胞计数仪读数值。

## H.3.2 红细胞比容测定

用毛细吸管吸取过滤前、后的全血或红细胞 1 mL,插入 W 氏管底部,然后将血液慢慢注入至 100 mm 刻度处,注意防止气泡产生。在直角离心机上以 2 264g 的相对离心力离心 30 min,读取红细胞下沉毫米数,再离心 10 min,至红细胞不会下降为止。读取红细胞所占的毫米数(以紫黑色红细胞层表面为准)即为 100 mL 血液中红细胞体积毫升数,以 % 表示。

## H.3.3 血液体积计算

按式(H.1)计算血液体积:

$$V = \frac{W_1 - W_0}{BD} \dots\dots\dots (H.1)$$

式中:

$V$  —— 血液体积,单位为毫升(mL);

$W_1$  —— 含血袋的血液质量,单位为克(g);

$W_0$  —— 空血袋质量,单位为克(g);

$BD$  —— 血液密度,单位为克每毫升(g/mL)。

注: ACD 抗凝的全血或红细胞密度 = 1.040 g/mL; CPD 抗凝的全血或红细胞密度 = 1.053 g/mL; 血小板密度 = 1.030 g/mL。

#### H.4 红细胞、血小板回收率计算

##### H.4.1 红细胞回收率计算方法 1

按式(H.2)计算红细胞回收率:

$$ER = \frac{R_h V_h}{R_q V_q} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (H.2)$$

式中:

ER —— 红细胞回收率;

$R_q$  —— 过滤前血液样品红细胞浓度,血细胞计数仪读数值;

$R_h$  —— 过滤后血液样品红细胞浓度,血细胞计数仪读数值;

$V_q$  —— 过滤前血液样品体积,单位为毫升(mL);

$V_h$  —— 过滤后血液样品体积,单位为毫升(mL)。

##### H.4.2 红细胞回收率计算方法 2

按式(H.3)计算红细胞回收率:

$$ER = \frac{H_{ctq} V_h}{H_{ctq} V_q} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (H.3)$$

式中:

ER —— 红细胞回收率;

$H_{ctq}$  —— 过滤前血液样品红细胞比容;

$H_{ctq}$  —— 过滤后血液样品红细胞比容;

$V_q$  —— 过滤前血液样品体积,单位为毫升(mL);

$V_h$  —— 过滤后血液样品体积,单位为毫升(mL)。

##### H.4.3 血小板回收率计算方法

按式(H.4)计算血小板回收率:

$$PR = \frac{P_h V_h}{P_q V_q} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (H.4)$$

式中:

PR —— 血小板回收率;

$P_q$  —— 过滤前血液样品血小板浓度;

$P_h$  —— 过滤后血液样品血小板浓度;

$V_q$  —— 过滤前血小板体积,单位为毫升(mL);

$V_h$  —— 过滤后血小板体积,单位为毫升(mL)。

## 附 录 I

(规范性)

## 血小板低渗休克相对变化率试验

## I.1 方法提要

血小板的低渗休克(HSR)表示血小板在低渗环境中体积膨胀后恢复其正常体积的能力。在富血小板血浆(PRP)中加入低渗的磷酸盐缓冲液,使血小板体积膨胀,经历一段时间后血小板细胞适应低渗环境体积恢复。采用分光光度计(波长 610 nm 处)检测血小板体积膨胀时导致的透射光增加,以及血小板体积恢复阶段透射光的减少来评价血小板体外功能。本方法检测血小板经 PF 型滤器过滤前、后的低渗休克,以两者差与过滤前数值之比表示血小板低渗休克相对变化率,用以评价滤器对血小板功能的影响程度。

## I.2 试验仪器与器具

## I.2.1 试验仪器

分光光度计(带自动记录功能)、血细胞计数仪、台式离心机、尖底试管离心机、可调微量移液器(250  $\mu\text{L}$ ~1 000  $\mu\text{L}$ )、37  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴箱、塑料试管、塑料尖底试管。

## I.2.2 试剂

蒸馏水、磷酸盐缓冲液(PBS):pH7.2~7.4。

## I.3 样品准备

## I.3.1 贫血小板血浆

取过滤前样品血小板约 10 mL 于塑料试管中,以 1 600g~1 650g 离心 10 min,取上清液得过滤前贫血小板血浆(PPP)。PPP 中血小板浓度应低于  $1 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 。

取按 D.3.1 过滤后的血小板同法制备过滤后 PPP。

## I.3.2 富血小板血浆

采集或制备 24 h 内的血小板(10 单位~14 单位全血分离制备的混合血小板或 1 单位单采血小板),用血细胞计数仪计数血小板浓度,取 2 mL 用 PPP 调节血小板浓度至  $2.0 \times 10^5 / \mu\text{L}$ ~ $4.0 \times 10^5 / \mu\text{L}$  即得过滤前 PRP。

取按 D.3.1 过滤后的血小板同法制备过滤后 PRP。

## I.4 操作步骤

分别对过滤前 PPP、PRP 和过滤后的 PPP、PRP 进行以下试验。

- a) 分光光度计开机预热 30 min,波长调至 610 nm。
- b) 将 PPP 与 PBS 以 2 : 1 的比例混合,放入分光光度计测试槽,调零点。
- c) PRP 与 PBS 以 2 : 1 的比例混合,放入分光光度计测试槽,记录 15 min 内  $T$  值的变化曲线,此曲线为基线。
- d) PRP 与蒸馏水以 2 : 1 的比例混合,放入分光光度计测试槽,记录 15 min 内  $T$  值的变化曲线,此曲线为测试样品曲线。

- e) 读取样品曲线中 15 min 时吸光度值和样品最小吸光度值,以及基线 15 min 时的吸光度值(对照吸光度值)。

**I.5 结果计算**

**I.5.1** 按式(I.1)计算血小板低渗休克率:

$$HSR = \frac{OD_1 - OD_2}{OD_0 - OD_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(I.1)$$

式中:

- HSR —— 血小板低渗休克率;
- OD<sub>1</sub> —— 样品吸光度值(15 min 时);
- OD<sub>2</sub> —— 样品最小吸光度值;
- OD<sub>0</sub> —— 对照吸光度值。

**I.5.2** 按式(I.2)计算血小板低渗休克相对变化率:

$$RCR = \left(1 - \frac{HSR_h}{HSR_q}\right) \times 100\% \quad \dots\dots\dots(I.2)$$

式中:

- RCR —— 血小板低渗休克相对变化率;
- HSR<sub>h</sub> —— 过滤后样品低渗休克率;
- HSR<sub>q</sub> —— 过滤前样品低渗休克率。

### 参 考 文 献

- [1] GB 18278.1—2015 医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求
- [2] GB 18279—2023 医疗保健产品灭菌 环氧乙烷 医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求
- [3] GB 18280.1—2015 医疗保健产品灭菌 辐射 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求
- [4] GB 18469—2012 全血及成分血质量要求
-