

ed to be the same. However, since some samples of blood stored in ACDI in the present study did give satisfactory survival results at 35 and 42 days, it has been suggested that red cells of different individuals may vary in their ability to withstand prolonged storage.

It should be noted that the purine nucleosides are metabolized to uric acid. While in healthy volunteers the transfusion of 450 ml of blood was without apparent toxicity, the effect of multiple transfusions is not known. The possible toxicity of these purine compounds is under investigation at this time.

28

Critères de conservation des globules rouges séparés : Application à la transfusion

J. VIGNE, B. MAUPIN, P. BOURDET, CH. REYNIER, J. STORCK ET CL. AMIEL

Clamart/Seine, France

avec la collaboration technique de M^{mes} A. Simon-Vermot et J. La Rosa

La transfusion des globules rouges séparés du plasma a pris depuis 10 ans un essor considérable dont témoignent de nombreuses publications*. Les indications se sont de mieux en mieux précisées. L'accent est porté désormais moins sur l'économie substantielle ainsi réalisée que sur les qualités propres des hématies administrées avec ou sans lavage préalable.

Nous avons voulu vérifier si la limitation usuelle à 24 ou 48 h du délai de conservation des globules rouges séparés représente réellement un impératif.

Si ce délai pouvait être allongé, cela permettrait de constituer une « banque de culots globulaires » capables de satisfaire les demandes en fin de semaine ou pendant les jours fériés. Dans ce but nous avons étudié le devenir des globules rouges séparés du plasma et utilisés dans un délai de 3, 4 et 7 jours après le prélèvement.

Cette étude de la viabilité des culots globulaires en fonction du temps de conservation a été conduite selon 2 méthodes :

1^o Etude chimique *in vitro* (recherche des critères de souffrance globulaire)

2^o Etude de la survie *in vivo* des hématies marquées au Cr⁵¹.

Nous rappellerons que le sang est prélevé sur solution ACD et que nous tenons comme une règle formelle l'épreuve de compatibilité effectuée soit au Centre de Transfusion de l'Armée soit au service utilisateur.

* Une bibliographie importante consacrée à ce sujet se trouve dans un article récent de Maupin, Vigne et al. (Vox Sang. 1958).

Jusqu'à ce jour les culots globulaires fournis par le Centre de Transfusion de l'Armée sont obtenus par centrifugation (à 2800 tours) pendant $\frac{1}{2}$ heure. Le plasma surnageant est séparé par pression et non par aspiration.

I. – Jusqu'à présent l'étude des *critères chimiques* s'est révélée en fait décevante (cf. J. of Clin. Investigation 1947).

A noter qu'au 6^e Congrès de Transfusion sanguine de Lisbonne *Formentano et Molla* ont présenté une étude des globules rouges séparés basée sur des critères chimiques (dosage du potassium et de l'hémoglobine dans le liquide surnageant). Ils concluaient que l'état de conservation de ces globules est excellent les deux premiers jours après le prélèvement, bon le 3^e et 4^e, assez bon du 5^e au 6^e*

Technique

Nous avons conduit notre étude à la fois sur des globules rouges séparés par centrifugation et sur des globules rouges obtenus par sédimentation et décantation seconde du plasma, afin d'observer les différences éventuelles des 2 procédés liés au traumatisme de la centrifugation.

Tout à fait arbitrairement nous avons procédé de la façon suivante: Un prélèvement de 10 ml est effectué sur le flacon de «culot globulaire» étudié après agitation douce. Ces 10 ml sont introduits, grâce à une pipette siliconée, dans un godet de centrifugeuse. On ajoute 10 ml de sérum glucosé isotonique à 50⁰/₁₀₀. On centrifuge alors 10 minutes à 3400 tours. On prélève le surnageant dans lequel on dose le potassium, le sodium et l'hémoglobine. Nous introduisons, ainsi dans le protocole expérimental une dilution tout à fait arbitraire mais qui, restant constante pour l'ensemble de l'expérimentation, permet d'étudier les variations en plus ou en moins des éléments dosés. Nous avons été obligés de créer un «surnageant artificiel», car une centrifugation modérée des globules séparés à partir du 3^e jour, même en l'absence de lavage préalable, ne permet d'obtenir qu'une quantité minime de plasma, insuffisant pour les dosages.

Par ailleurs le prélèvement initial de plasma a toujours été effectué dans les mêmes conditions. Le taux d'hématocrite des globules obtenus a été déterminé et n'a présenté que d'infimes variations.

Donc l'étude des éléments dans ce surnageant glucosé (dénué évidemment de tout électrolyte) reste valable pour l'évolution des taux comparés.

Résultats

Le tableau n° I présente la moyenne des résultats obtenus.

Pour chaque catégorie de culots globulaires, 10 culots ont été étudiés en moyenne, sur lesquels on a étudié dans le surnageant: le sodium, le potassium,

Tableau I

	Culots conservés 3 jours		Culots conservés 4 jours		Culots conservés 7 jours	
	Centri.	Sédim.	Centri.	Sédim.	Centri.	Sédim.
Sodium (en mg/l)	700	1016	293	1065	236	920
Potassium (en mg/l)	118	116	108	151	103	136
Hémoglobine (en mg/l)	184	16	137	95	121	123
Protéines (en g/l)	6,6	12	6,5	16	7	15,5

Ces dosages ont été effectués, pour chaque série, sur 10 échantillons.

* Nous retrouvons ici le «cap du 3^e jour» déjà signalé par *Tzanck* au sujet du sang conservé.

l'hémoglobine, les protéines (dont on remarquera le taux pratiquement constant, en particulier dans le surnageant des culots centrifugés, ce qui confirme l'uniformité des manipulations).

Quels renseignements peut-on déduire de ce tableau?

Indiquent-ils des échanges ioniques entre les érythrocytes et le milieu traduisant une lésion plus ou moins rapide des globules rouges? Le taux d'hémoglobine dont le dosage est d'ailleurs si aléatoire, présente-t-il des variations significatives?

Il faut bien reconnaître que non. Tout au plus pouvons-nous retenir les éléments suivants:

1° Le taux d'hémoglobine est moins élevé dans le surnageant des culots obtenus par sédimentation que dans celui des globules rouges centrifugés. Ceci confirme le traumatisme infligé par la centrifugation initiale et conduirait à penser qu'il est théoriquement préférable de constituer une banque de culots globulaires à partir de globules obtenus par sédimentation, tout au moins jusqu'au 4^e jour, car les taux s'égalisent pour les globules séparés conservés 7 jours.

Nous retrouvons le cap critique du 3^e au 4^e jour pour les globules sédimentés.

2° Le taux de sodium diminue progressivement (surtout pour les *globules centrifugés*) témoignant probablement d'une entrée du sodium dans les hématies.

Remarquons également le cap critique du 3^e au 4^e jour.

3° Le taux de potassium ne présente pas de variations significatives.

4° Le taux des protéines dans le surnageant des culots sédimentés est notablement plus élevé que dans le surnageant des culots centrifugés, ce qui montre que la quantité de plasma retenu entre les globules est plus grande en cas de séparation par sédimentation que par centrifugation. Cette notion a sa valeur pour l'emploi des culots chez les multitransfusés, sensibilisés au plasma.

En conclusion de ce procédé d'étude par dosages des éléments du surnageant, se dégage l'impression que, pour constituer une réserve, une banque de globules rouges séparés, mieux vaut s'adresser à des globules séparés par sédimentation simple.

Ce cap critique du 4^e jour de conservation est-il réel? Se traduit-il effectivement dans la viabilité des érythrocytes «marqués» transfusés? Nous l'avons demandé à la transfusion d'érythrocytes marqués par le Cr⁵¹.

II. — *Contrôle isotopique des hématies marquées.*

Cette étude a porté uniquement sur des culots globulaires rouges centrifugés, conservés 7 jours à la glacière.

Technique

Il était en effet difficile de trouver des malades hospitalisés pendant une durée suffisante qui ne soient pas des multitransfusés et dont l'affection motivant l'hospitalisation ne contre-indique pas l'emploi du Cr⁵¹.

Au 7^e jour de conservation, le marquage par le radiochromate (40 microcuries en moyenne) est effectué durant 1 heure $\frac{1}{2}$ à la température du laboratoire et arrêté par 1 ml de solution d'acide ascorbique.

Un échantillon témoin est prélevé à la seringue avant le transfusion.

Cette transfusion est effectuée le plus rapidement possible. La différence en poids donnée par la pesée avant et après transfusion ainsi que la densité du liquide permet de traduire en volume la quantité perfusée.

Voici le rythme des prélèvements de sang chez le receveur.

1° H + 10 minutes

2° J + 1 (après 24 heures)

3° J + 5 jours

4° J + 14 jours

5° J + 28 jours et parfois au-delà.

Nous devons préciser ici que nos receveurs étaient des malades ou blessés de l'Hôpital Militaire *Percy*, le plus souvent des jeunes soldats reconnus justiciables d'un traitement par des globules rouges. Du fait de leur maladie, il nous était possible de les suivre sur une période de temps suffisante.

Sur chaque prélèvement (volume 10 ml) était pratiquée en double une mesure d'activité dans le cristal creux du compteur à scintillations Tracerlab. L'activité du plasma a fait l'objet de mesures séparées à partir de l'échantillon de globules marqués et de l'échantillon de sang initial. Après 24 heures l'activité du plasma du receveur était négligeable.

La masse sanguine du malade au départ de l'expérience était aisément déterminée puisque nous connaissions exactement, à 1 % près, le volume de globules rouges marqués injectés, et l'activité du sang circulant mesurée 10 minutes après la fin de la transfusion.

Résultats

Bien que les éléments réunis, pour la plupart de nos sujets, permettent d'établir des courbes détaillées, nous avons choisi comme mode d'expression le temps de survie de 50 % des G.R. injectés, en portant sur des courbes à coordonnées semi-logarithmiques les valeurs mesurées.

En fait 8 de nos résultats seulement sont utilisables* ; la moyenne de la survie 50 % s'établit à 24,8 jours (et 26,7 jours si l'on fait intervenir une correction d'après l'hématocrite).

A titre de comparaison, elle était de 30,5 jours chez 1 sujet qui avait reçu des G.R. marqués et transfusés le jour de leur préparation, et de 28,2 chez un sujet transfusé par des G.R. de 4 jours.

Cette valeur est très satisfaisante : nous relevons en effet dans la littérature des valeurs de 23 à 30 jours (moyenne 26 jours) (*Read et al.*, 1954), 26 jours (*Donohue et al.*, 1955), de 25 à 40 jours (*Remenchik et al.*, 1958).

Conclusion

Les critères chimiques sont insuffisants pour apprécier la survie des G.R. séparés après centrifugation et conservés 7 jours à +4° C.

L'étude de la survie *in vivo* après marquage par le Cr⁵¹ nous a donné une moyenne de 24,8 jours pour la demi-vie des hématies transfusées, ce qui est satisfaisant.

* Les deux cas exclus de cette statistique correspondent à une sortie anticipée de l'hôpital et à des prélèvements insuffisants.

Summary

The authors have first attempted to evaluate the survival of the separated and stored red cells at +4° C for 2 to 8 days, by assaying the supernatant potassium and hemoglobin. The results obtained have not permitted to draw any conclusions. They have employed the labelling by means of Cr⁵¹ of the same red cells and have studied their survival after transfusion in human subjects.

Curves will be presented, which show a satisfying survival, even with the erythrocytes stored for 7 days at +4° C, thus making it possible to suggest institution of banks of separated red cells.

29

The Consumption of Oxygen in Stored Blood

G. ASTALDI*, C. POGGI AND G. VENERONI**

Tortona, Italy

The maintenance of haemoglobin in the reduced state depends upon the respiratory activity of blood erythrocytes, as *Kiese*¹ has shown. Starting from this fundamental aspect of the respiratory activity of the red corpuscles, we thought it interesting to investigate the behaviour of this function in stored blood intended for transfusion, as well as the possible effects of various added factors. Our observations extended over a period of 35 days, and the various determinations were made at weekly intervals. The substances employed were: ACD (acid citrate-dextrose), which is well known to protect stored blood; a sodium gluconate saccharate cobalt compound (*Nattermann*) which, in earlier work, we had found to protect erythrocytes (*Astaldi et al.*^{2,3,4}); and, finally, vitamin B₁₂.

The experiments were carried out on normal blood from 10 healthy adults. The blood, taken with sterile precautions, was rendered incoagulable with heparin and was divided in 4 flasks. ACD was added to one flask, in the proportion of 1 part to 5 of blood; to the second was added the organic cobalt compound (30 gamma per ml of blood, diluted so that 1 part of the solution was added to 5 parts of blood); to the third flask was added 1 gamma of vitamin B₁₂ per ml (the proportion of the solution of B₁₂ to blood being 1 to 5). The fourth flask was the control, to which was added Tyrode solution in the proportion of 1 to 5. The material was kept in the refrigerator at +5° C and samples were withdrawn from time to time, viz., at the beginning, and on the 7th, 14th, 21st, 28th, and 35th day.

* From the Blood Research Foundation Center, Tortona.

** From the Istituto di Patologia Chirurgica, Università di Pavia, Italy.