

病毒灭活新鲜冰冻血浆制备冷沉淀的可行性探讨^{*}

刘金嫔, 王 莉, 刘海涛[△], 金 松, 李福玲(湖北省荆门市红十字中心血站 448000)

【摘要】 目的 探讨亚甲基蓝光化学法(MB-P)病毒灭活新鲜冰冻血浆制备冷沉淀凝血因子的可行性。**方法** 选取 2014 年 1~6 月无偿献血者捐献的 400 mL 全血 93 袋, 分离新鲜冰冻血浆 200 mL 后再均分为 2 袋, 各 100 mL, 分别作为对照组和试验组。对照组直接制备冷沉淀凝血因子, 试验组经 MB-P 法病毒灭活后再制备冷沉淀凝血因子。检测每袋冷沉淀凝血因子中 FⅧ和 Fbg 水平。**结果** 对照组 FⅧ和 Fbg 水平分别为 (82.9 ± 7.1) IU/100 mL、 (102.4 ± 8.5) mg/100 mL, 试验组分别为 (56.6 ± 5.3) IU/100 mL、 (83.3 ± 5.6) mg/100 mL, 试验组 FⅧ和 Fbg 水平均低于对照组, 组间比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且均符合相关国家标准。**结论** 加强血液采集、储存、运输和制备过程中的质量控制, 使用经 MB-P 法病毒灭活新鲜冰冻血浆制备的冷沉淀凝血因子符合相关国家标准。

【关键词】 冷沉淀; 病毒灭活; 冰冻血浆

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.06.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)06-0750-02

Study on feasibility of cryoprecipitate prepared by viral inactivation fresh frozen plasma^{*} LIU Jin-pin, WANG Li, LIU Hai-tao[△], JIN Song, LI Fu-ling (Jingmen Municipal Red Cross Blood Center, Jingmen, Hubei 448000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the feasibility of viral inactivation fresh frozen plasma for preparing the cryoprecipitate clotting factor by using the methylene blue photochemical (MB-P) method. **Methods** A total of 93 bags of whole blood 400 mL donated by the voluntary blood donors from Jan. to Jun. 2014 were selected. Fresh frozen plasma 200 mL was separated from the whole blood and was equally divided into 2 bags (100 mL each) as the control group and the experimental group after separating the fresh frozen plasma. The control group was directly prepared the cryoprecipitated clotting factor, while the experimental group was prepared the cryoprecipitated clotting factor after the viral inactivation by the MB-P method. The levels of the cryoprecipitate clotting factor FⅧ and Fbg in each bag were detected. **Results** The FⅧ and Fbg levels in the control group were (82.9 ± 7.1) IU/100 mL and (102.4 ± 8.5) mg/100 mL respectively, which in the experimental group were (56.6 ± 5.3) IU/100 mL and (83.3 ± 5.6) mg/100 mL respectively, the FⅧ and Fbg levels in the experimental group were significantly lower than the control group, the differences between the two groups were statistically significant ($P < 0.05$), but in which conformed to the relevant national standards. **Conclusion** Through strengthening the quality control in the process of blood collection, storage, transportation and preparation, preparing the cryoprecipitate clotting factor by using the viral inactivation fresh frozen plasma with the MB-P method could meet the relevant national standards.

【Key words】 cryoprecipitate; viral inactivation; frozen plasma

输血是临床治疗疾病的一种有效手段, 在现代医学中有着不可替代的地位。但由于血液检测存在“窗口期”等问题, 通过输血传播病毒的风险依然存在。血液主要由红细胞、白细胞、血小板和血浆等组成, 各种成分对病毒传播的危险性不同, 其中白细胞对病毒的传播风险最大, 血浆其次。亚甲基蓝光化学法(MB-P)作为目前唯一获准用于临床的光化学血浆病毒灭活技术^[1], 已应用于我国大部分血站。冷沉淀凝血因子是从新鲜冰冻血浆(FFP)中提取的冷不溶性沉淀物, 因富含凝血因子Ⅷ(FⅧ)、纤维蛋白原(Fbg)等, 被广泛用于治疗儿童及成人轻型甲型血友病、血管性血友病(vWD)、纤维蛋白原缺乏症及Ⅲ因子缺乏症。GB 18469-2012《全血及成分血质量要求》分别明确了病毒灭活 FFP 和冷沉淀凝血因子的国家标准, 但并未明确病毒灭活 FFP 制备冷沉淀凝血因子的国家标准。为探讨采用病毒灭活 FFP 制备的冷沉淀凝血因子是否符合国家标准, 作者在 2014 年 1~6 月分别对不同方法制备的冷沉淀凝血因子

的主要成分, 即 Fbg 和 FⅧ水平进行了检测, 分析通过病毒灭活 FFP 制备冷沉淀凝血因子的可行性, 以提高临床输血的安全性, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 所有标本均为本血站 2014 年 1~6 月无偿献血者捐献的 400 mL 全血, 每批次选取不超过 5 袋, 共 93 袋。

1.2 仪器与试剂 主要仪器设备: CR-7 大容量离心机(日本日立公司), ZBK-YBM02 医用病毒灭活柜(山东中保康), PH-IC 型恒温循环解冻箱(潍坊普华), CA-50 自动血凝仪(日本希森美康公司), STA-R Evolution 全自动血凝分析仪(法国 Stago 公司), Compodock 无菌接管机(德国费森尤斯公司); MBF21 速冻机等(德国 Dometic 公司)。耗材与试剂: Q-400 血袋及枸橼酸-磷酸盐-葡萄糖-腺嘌呤(CPDA-1)保存液(上海输血技术有限公司和山东威高), 一次性使用病毒灭活过滤性器材(上海输血技术有限公司和山东中保康), FⅧ、Fbg 试剂盒

^{*} 基金项目: 湖北省荆门市科技计划项目(2013YD48)。

作者简介: 刘金嫔, 女, 本科, 主管护师, 主要从事血液采集和成分制备工作。 [△] 通讯作者, E-mail: 437342281@qq.com。

(法国 Stago 公司)。全部设备均在校准有效期内,全部试剂和耗材均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 标本制备 所有标本采集后保存于 CPDA-1 保存液中,置于 2~6℃ 储血冰箱,8 h 内分离出血浆 200 mL,再平均分为 2 袋,各 100 mL,分别作为对照组和试验组。对照组 FFP 放入-50℃ 速冻机速冻成块备用。试验组血浆在 30 000~38 000 Lux、温度 4℃、摆动条件下照射 35 min 后,将病毒灭活 FFP 放入-50℃ 速冻机速冻成块备用。完成 FFP 制备、病毒灭活操作后,将对照组和试验组 FFP 置于水浴式血浆融化箱,待融化至剩少量冰渣时,以离心法提取冷沉淀凝血因子以备检测。所有操作严格按照国家相关标准操作规程执行。

1.3.2 检测方法 将每次制备的对照组、试验组冷沉淀凝血因子(每次检测不超过 10 袋)分别留取 5 mL,使用自动血凝分析仪检测 FⅢ与 Fbg 水平。严格按仪器标准操作规程和试剂使用说明书操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

试验组 FⅢ与 Fbg 水平均低于对照组,组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$),且均符合 GB 18469-2012《全血及成分血质量要求》相关标准。见表 1。

表 1 两组冷沉淀凝血因子 FⅢ与 Fbg 检测水平比较($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	FⅢ(IU/100 mL)	Fbg(mg/100 mL)
对照组	93	82.9±7.1	102.4±8.5
试验组	93	56.6±5.3	83.3±5.6
<i>t</i>		3.31	2.42
<i>P</i>		<0.05	<0.05

注:每袋 100 mL 即相当于国标中来源于 200 mL 全血。

3 讨论

MB-P 血浆病毒灭活法是通过向血浆中添加 MB,使 MB 与病毒基因核酸及脂质包膜相结合,在光照下诱导发生氧化损伤而使病毒灭活;最后通过吸附过滤器内设置的纤维过滤膜层和活性炭吸附层的阻滞作用、表面张力、电荷排斥力滤除 MB^[2]。MB-P 血浆病毒灭活是一种安全、有效,并适合临床用于单袋血浆灭活病毒的方法,其病毒灭活效果已得到大量实验证实^[3]。

输注病毒灭活血浆相关制剂可降低输血传播疾病的发生率,但是任何病毒灭活技术都可能对血液制剂中的有效成分产生损伤。本研究结果显示,采用经 MB-P 进行血浆病毒灭活后的 FFP 所制备的冷沉淀凝血因子,其 FⅢ、Fbg 水平均较采用未灭活的 FFP 所制备的冷沉淀凝血因子降低($P<0.05$),与国内相关文献报道一致^[4-6]。但均符合相关血液制剂的国家标准,即 FⅢ≥40 IU(来源于 200 mL 全血),Fbg≥75 mg(来源于 200 mL 全血)。FⅢ、Fbg 水平下降的原因除与 MB-P 方法相

关,还与凝血因子受温度和时间的影响有关^[7-8]。此外,病毒灭活后在吸附、过滤亚甲蓝的过程中,会吸附一部分 FⅢ、Fbg 使其水平下降。

结合本次试验,作者认为:(1)应加强血液采集、储存、运输过程中的质量控制。在血液采集过程中,严格执行《血站技术操作规程》的相关规定,保证采血过程顺利,血液流速正常。若 200 mL 血液的采集时间超过 7 min,400 mL 血液的采集时间超过 13 min,不得用于制备 FFP。血液采集后应及时储存于 2~6℃ 储血冰箱并保证运输过程的冷链保护,防止因温度影响导致 FⅢ、Fbg 水平下降。(2)采血后 8 h 内必须完成 FFP 的制备、病毒灭活和速冻工作,冷沉淀凝血因子需在冷链条件下以尽可能短的时间通过离心法完成收集和速冻工作,防止因时间延迟导致的 FⅢ、Fbg 水平下降。(3)临床使用时,采用专用血浆融化机以 37℃ 水浴融化,取血后尽快输注。并以患者能承受的最大速度输注。此外,根据 FⅢ半衰期为 8~12 h 的特性,连续输注等方法均是保证冷沉淀凝血因子的临床治疗效果的重要保证。

综上所述,采用病毒灭活 FFP 制备冷沉淀凝血因子,其 FⅢ、Fbg 水平均下降,但仍然符合国家相关标准。在血液的采集、制备、输注等环节,严格执行国家相关规定和技术规程,不会影响临床输注效果,且可以降低病毒感染风险。

参考文献

[1] 杨建,朱琳,赵淑红,等.病毒灭活血浆的临床应用状况调查[J].临床输血与检验,2010,12(3):265-266.

[2] 蔡杰,胡俊妍,陈映娥,等.白细胞滤器对新鲜冰冻血浆凝血因子及血浆蛋白的影响[J].中国热带医学杂志,2006,6(1):123-124.

[3] 陆萍,凌冰,季育华,等.亚甲蓝光化学法灭活血制品中巨细胞病毒的研究[J].中国输血杂志,2005,18(4):290-292.

[4] 王飞,卢舜华,叶小演,等.血浆病毒灭活后质量回顾性分析[J].重庆医学,2010,39(15):2043-2044.

[5] 黄文杰,范恩勇,孙海英.亚甲蓝光化学法病毒灭活血浆对凝血因子的影响[J].实用医学杂志,2006,22(18):2193-2194.

[6] 汤龙梅,杨春晖,周群刚,等.亚甲蓝病毒灭活血浆 1 年保存期质量调查研究[J].检验医学与临床,2012,9(24):3043-3044.

[7] 李静旗,马丽华,管尚峰.冷沉淀的质量分析[J].大连大学学报,2004,25(2):102-103.

[8] 于建华,孙庶丽,王明静,等.病毒灭活血浆中有效成分及亚甲蓝残留量的研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(6):1541-1542.

(收稿日期:2014-09-04 修回日期:2014-12-25)

(上接第 749 页)

Sanchez A, et al. Episodes of overtreatment during the first six months in children with congenital hypothyroidism and their Relationships with sustained attention and inhibitory control at school age[J]. Horm Res Paediatr, 2010,74(2):114-120.

[18] Léger J, Olivier A, Donaldson M, et al. European society for Paediatric Endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism[J]. Horm Res Paediatr, 2014,81(2):80-103.

(收稿日期:2014-08-22 修回日期:2014-10-24)