

# 冷沉淀凝血因子虹吸法制备工艺参数的优化与验证

梁佩贤,刘运芝,余晋林,卓创近,招淑文  
广东省佛山市中心血站,广东佛山 528000

**摘要:**目的 优化冷沉淀凝血因子虹吸法制备工艺参数,以提高冷沉淀凝血因子的制备质量。方法 采用不同的虹吸前融化时间和虹吸高度制备冷沉淀凝血因子,通过称量和控制冷上清的重量实现对冷沉淀容量的控制,检测并比较其Ⅷ因子、纤维蛋白原水平。结果 优化前后冷沉淀凝血因子的Ⅷ因子水平达标率从75%提高到94%( $P < 0.05$ ),纤维蛋白原水平达标率从92%提高到98%( $P > 0.05$ ),容量达标率从92%提高到94%( $P > 0.05$ )。结论 采用优化后的虹吸法制备冷沉淀凝血因子的制备工艺参数,能够稳定提高冷沉淀凝血因子制备的质量。

**关键词:**虹吸法;冷沉淀凝血因子;回收率;达标率

**中图分类号:**R446.11

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2019)15-2210-04

冷沉淀凝血因子(以下简称冷沉淀)是采用特定方法将保存期内的新鲜冰冻血浆(FFP)在1~6℃条件下融化后,分离出大部分血浆,并将剩余的冷不溶物质在1h内速冻成固态的成分血<sup>[1]</sup>。冷沉淀的制备方法有Pool方法、快速融化离心法和虹吸法<sup>[2]</sup>,目前采供血系统比较常用的是虹吸法和离心法。虹吸法不需要离心操作,较为简便,但其制备工艺对制备质量具有显著影响,制备质量不稳定。为了提高冷沉淀的制备质量,笔者对虹吸法制备工艺参数进行了优化,取得了较好的制备效果,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

**1.1.1 FFP的制备** 采集400 mL全血,采集后在2~6℃保存 $\leq 8$  h,经白细胞过滤后,在4℃条件下,以3 880 r/min离心12 min,分离出220~230 mL血浆,称取该血浆的总重量,在与其相连的空袋上标记,并速冻成固态储存在-30℃冷库作为制备冷沉淀的原料浆。

**1.1.2 冷沉淀质量标准** 200 mL FFP制备的冷沉淀:Ⅷ因子(FⅧ) $\geq 80$  IU,纤维蛋白原 $\geq 150$  mg<sup>[1]</sup>。

### 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 仪器** CR7大容量低温离心机(日本HITACHI公司);MBF21L全自动水平接触式血浆速冻机(卢森堡Dometic公司);KXJ-Ⅲ型恒温循环解冻箱(苏州市医用仪器厂);Sysmex CA-530全自动血凝仪(日本Sysmex Corporation公司);SEPAMATIC-SL(Ⅲ)全自动血液成分分离机(德国LMB公司);Compomat G4全自动血液成分分离机(德国费森尤斯公司)。

**1.2.2 试剂** 因子Ⅷ活性测定试剂盒:Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH(批号:546582A,503197A);纤维蛋白原测定试剂盒:Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH(批号:538080、538078B、

547201)。

### 1.3 方法

**1.3.1 制备方法** 将新鲜冰冻血浆袋(A袋)置于(4±2)℃水浴装置中,另一空袋(B袋)悬于水浴箱外,位置低于血浆袋,两袋之间形成一定的高度落差。血浆融化后,随时被虹吸至B袋中,当融化至剩下40~50 mL血浆与沉淀物时,闭合导管,阻断虹吸。将血浆与沉淀物混合,制成冷沉淀凝血因子(A袋)。将A袋和B袋(冰冻血浆)热合脱离,及时速冻。

**1.3.2 优化制备工艺参数的选择** 在1.3.1制备方法的基础上结合实际的工作,把没有明确或者在实际操作过程中受人员因素影响较大的工艺进行优化。

**1.3.2.1 虹吸开始前的融化时间对冷沉淀质量的影响** 刚从冷库取出的原料浆,导管和血袋紧密粘在一起,选择什么时候让A袋和B袋分开放置合适?对照组(H组)于融化8 min后开始虹吸,实验组(I、J、K组)分别于原料浆完全融化后静置1 h(I组)、2 h(J组)、3 h(K组)后开始虹吸,检测制备后的FⅧ和纤维蛋白原水平、回收率和达标率,评估各组差异是否存在统计学意义。

**1.3.2.2 不同虹吸高度对冷沉淀质量的影响** A袋和B袋之间要形成一定的高度落差,但是什么高度合适?笔者根据所使用设备的水浴槽的高度,分别选择17.5 cm(1组)、27.5 cm(2组)和37.5 cm(3组)的高度落差进行制备效果比较,检测制备后的FⅧ和纤维蛋白原水平、回收率和达标率,评估各组差异是否存在统计学意义。

**1.3.2.3 冷沉淀容量控制方法的改进** 制备的最终容量控制在40~50 mL,采用1.3.1方法制备时,工作人员需要数次取出水浴箱中的冷沉淀血袋(A袋),目测观察估算最终的容量,在这个过程中不同人员的操作差异大,需考虑用合适的方法来减少人工判断造成的差异。笔者在制备FFP时称取该血浆的总重量(即

A 袋、B 袋和连接导管的重量), 拟制备的最终容量为 45 mL, 约 44 g, 加上血袋的重量, 制备后的冷沉淀最终重量约为 70 g, 在制备过程中通过实时称取 B 袋的重量, 来推算出制备冷沉淀的最终重量, 从而减少人员因素对制备质量的影响。

**1.3.3 优化后制备方法** 设置恒温循环解冻箱温度为 4 °C, 当水温达到预设温度时, 放入原料浆, 按每小格 6 袋垂直摆放, 每次最多制备 24 袋; 当血浆完全进入水浴箱后, 即将预设温度调整为 4.5 °C, 选择 1.3.2.1 评估最优的时间, 然后将空袋取出, 松开血浆导管夹, 调整并固定血浆袋使其在解冻箱内保持垂直竖立状态, 并完全浸泡于水浴箱内, 此时调整导管的位置, 使每个空袋整齐排列并能清晰地找到与之相连的血浆袋。在制备过程中实时称取 B 袋的重量, 当 A 袋容量达到 45 mL 时(即 FFP 的总重量 - B 袋的重量 = 70 g), 用止流夹关闭导管, 称量并确认冷沉淀血袋重量, 热合血袋管路, 及时速冻。

**1.3.4 FⅧ和纤维蛋白原检测** 将冷沉淀置于 37 °C 水浴箱完全融化, 充分混匀后将袋内血浆挤入至与血袋相连的导管内, 热合并断离导管, 取导管中样品检测。按照试剂盒说明书进行 FⅧ和纤维蛋白原的检测。

检测 FFP(原料浆)的 FⅧ和纤维蛋白原时, 样品不做稀释直接检测。检测冷沉淀的 FⅧ和纤维蛋白原水平时, 以 Owren's Veronal Buffer(OVB)稀释 4 倍后进行检测。

**1.4 统计学处理** 运用 SPSS 19.0 软件做统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料以百分率表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验; 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 工艺参数的评估**

**2.1.1 虹吸开始前的融化时间对冷沉淀质量的影响** 各组 FⅧ和纤维蛋白原的回收率两两比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); H 组的 FⅧ达标率与 J 组、K 组相比, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); H 组的纤维蛋白原达标率与 I 组、J 组、K 组相比, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。各组 FⅧ和纤维蛋白原水平和回收率见表 1。

**2.1.2 不同虹吸高度对冷沉淀质量的影响** 3 个组 FⅧ和纤维蛋白原的回收率两两比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 1 组与 3 组的纤维蛋白原达标率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

表 1 不同时间开始虹吸制备的冷沉淀的质量比较

组别	n	FⅧ			纤维蛋白原		
		水平( $\bar{x} \pm s, IU$ )	回收率(%)	达标率(%)	水平( $\bar{x} \pm s, mg$ )	回收率(%)	达标率(%)
H 组	6	104.5 ± 22.3	71.0	100.0	209.3 ± 49.0	44	83.3
I 组	6	124.7 ± 15.2	73.0	100.0	205.2 ± 45.8	49	100.0*
J 组	6	84.3 ± 16.1	65.0	83.3*	203.5 ± 45.4	38	100.0*
K 组	6	104.3 ± 18.8	75.0	83.3*	211.5 ± 32.1	45	100.0*

注: 与 H 组比较, \*  $P < 0.05$

表 2 不同虹吸高度制备冷沉淀的质量比较

组别	虹吸高度 (cm)	n	FⅧ			纤维蛋白原		
			$\bar{x} \pm s (IU)$	回收率(%)	达标率(%)	$\bar{x} \pm s (mg)$	回收率(%)	达标率(%)
1 组	17.5	10	133 ± 37	72	100	219 ± 56	42	80
2 组	27.5	10	136 ± 30	68	100	183 ± 49	43	80
3 组	37.5	10	148 ± 35	68	100	166 ± 31	39	64*

注: 与 1 组比较, \*  $P < 0.05$

表 3 冷沉淀虹吸法制备工艺参数优化前后的质量比较

时间	n	容量		FⅧ		纤维蛋白原	
		测量值( $\bar{x} \pm s, g$ )	达标率(%)	计算值( $\bar{x} \pm s, IU$ )	达标率(%)	计算值( $\bar{x} \pm s, mg$ )	达标率(%)
优化前	24	47 ± 3.3	92	113 ± 36	75	260 ± 68	92
优化后	48	48 ± 3.4	94	132 ± 36*	94*	250 ± 66	98

注: 与优化前比较, \*  $P < 0.05$

**2.2 工艺参数优化后制备质量的验证** 通过对试验结果(表 1 和表 2)的评估, 选择 H 组的虹吸时间, 选

择 2 组的虹吸高度, 最终形成 1.3.3 优化后的制备方法, 并与 1.3.1 优化前的制备方法进行制备效果的比

较,结果见表3。优化前后容量的测量值和达标率的差异均无统计学意义( $P>0.05$ );与优化前比较,FⅧ水平的计算值、达标率差异均有统计学意义( $P<0.05$ );优化前后纤维蛋白原的计算值和达标率的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 3 讨 论

冷沉淀富含纤维蛋白原、FⅧ、纤维结合蛋白、血管性血友病因子等,是临床各类大出血患者抢救的关键血液成分之一,它对于外科患者,尤其是血友病患者的手术中出血有显著的预防和治疗作用<sup>[3]</sup>,其临床需求量呈现快速增长态势<sup>[4-7]</sup>。因此,为临床提供质量可靠和稳定的冷沉淀是采供血机构的一项重要工作。有文献报道,延长制备时间对FFP中FⅧ水平有很大的影响<sup>[8]</sup>,而本文选择采集后在2~6℃保存≤8h分离FFP作为制备冷沉淀的原料浆,减少原料浆质量对冷沉淀质量的影响。目前,冷沉淀常用的2种制备方法各有其优缺点,离心法制备的冷沉淀中纤维蛋白原水平较高,FⅧ和纤维蛋白原的达标率也比较高,但操作较为烦琐,时间较长,而虹吸法制备程序较为简单,时间较短,且易于实现自动化,但质量不稳定,较容易受人为因素的影响<sup>[9-11]</sup>。但是,如果能够了解虹吸法制备过程的关键影响因素并加以控制,虹吸法将更有优势<sup>[12]</sup>。

FFP在制备冷沉淀时融化的速度是影响FⅧ:C回收率的因素<sup>[1]</sup>,FⅧ活性随着FFP融化时间的延长而降低<sup>[13]</sup>,冷沉淀制备的时间越短越好<sup>[14]</sup>。本研究结果(表1)显示,融化8min以及完全融化后静置1、2、3h后开始虹吸,制备的冷沉淀中FⅧ和纤维蛋白原水平、回收率的差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但达标率存在差异,制备时间越长,冷沉淀中FⅧ的达标率越低,纤维蛋白原水平的达标率越高。因此,随着制备时间延长,Ⅷ因子活性有所降低或者随融化血浆被吸走的可能性加大,而纤维蛋白原是大分子物质,静置时间长了可能有利于其收集,确认开始虹吸的时间是制备工艺优化的关键参数之一。

虹吸流速与虹吸高度在一定的范围内呈正比。本试验结果(表2)显示,虽然所测试的3种虹吸高度在冷沉淀FⅧ和纤维蛋白原的水平 and 回收率的差异无统计学意义( $P>0.05$ );虹吸高度为17.5cm与37.5cm制备的冷沉淀纤维蛋白原的达标率差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而且虹吸高度为17.5cm时制备的冷沉淀纤维蛋白原水平的标准差较大,因此选择虹吸高度27.5cm作为第2项制备工艺优化的参数。

使用虹吸法制备冷沉淀的过程中,尤其是在虹吸快结束前,工作人员需要数次取出水浴箱中的冷沉淀血袋,目测观察和估算其血浆留存容量<sup>[15]</sup>。这一操作容易导致血袋晃动或抖动,使部分沉降在底部的冷不溶解物质混悬到血浆中,随血浆被吸走而流失。为

此,笔者对操作流程作为第3项制备工艺优化的参数:先称取原料浆总重量,减去冷沉淀所需的重量,获得冷上清重量,在制备过程通过称量控制冷上清的重量即可实现对冷沉淀容量的控制,而且无须取出冷沉淀袋来评估容量。

将上述3项制备工艺参数经过优化组合,形成新的冷沉淀制备流程,并对新的制备工艺流程进行验证,结果如表3所示。虽然优化前后的冷沉淀容量和达标率、纤维蛋白原水平和达标率的差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),但FⅧ水平和达标率的差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),表明优化后的制备质量明显高于优化前。

掌握好制备方案、原材料、设备和环境温度等质量控制环节,才能保证制备出优质的冷沉淀<sup>[16]</sup>。因此,通过不断地探索、比较和优化冷沉淀制备工艺的参数,不断完善冷沉淀制备的工艺流程,才能获得质量高且稳定的冷沉淀。由于本次工艺参数的试验样本量较少,制备工艺优化后的验证样本量还不够,在投入常规应用前还需要做进一步的验证。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 全血及成分血质量要求: GB18469-2012[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [2] 胡丽华. 临床输血检验[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 191.
- [3] LEVY J H, WELSBY I, GOODNOUGH L T. Fibrinogen as a therapeutic target for bleeding: a review of critical levels and replacement therapy[J]. *Transfusion*, 2014, 54(5): 1389-1405.
- [4] 柏则蓉, 郭晏海, 卞玲. 急性大出血患者输注冷沉淀的疗效观察及护理[J]. *护士进修杂志*, 2015, 30(7): 667-669.
- [5] 胡妙菲, 张伟强, 陈铭洪, 等. 2008—2013年某医院冷沉淀凝血因子临床应用分析[J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2015, 28(4): 709-711.
- [6] 崔俊林. 冷沉淀凝血因子在产科弥散性血管内凝血的应用效果[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(2): 243-245.
- [7] 范军丽, 张洁, 马晓媚, 等. 潍坊市中心血站冷沉淀临床使用情况及分析[J]. *中国卫生标准管理*, 2017, 8(16): 138-139.
- [8] 何红. 延长制备时间对新鲜冰冻血浆和冷沉淀质量的影响[J]. *血栓与止血学*, 2016, 22(1): 79-81.
- [9] 张湘, 段逢时. 冷沉淀凝血因子制备方法的改进[J]. *中国实用医药*, 2012, 7(22): 261-262.
- [10] 王飞, 王颖, 李一鸣, 等. 成分分离机制备冷沉淀凝血因子[J]. *中国输血杂志*, 2014, 27(1): 42-44.
- [11] 李梦秋, 李玉兰. 两种方法制备冷沉淀凝血因子质量比较[J]. *临床输血与检验*, 2014, 16(2): 214-215.
- [12] 王振财. 离心法和虹吸法制备冷沉淀凝血因子的比较[J]. *中国医药指南*, 2016, 14(2): 31.
- [13] 潘淑敏, 郭颖, 陈胜, 等. 不同方法制备新鲜冰冻血浆对冷沉淀凝血因子质量的影响[J]. *临床输血与检验*, 2016, 18

(6):554-556.

12-17.

[14] 杨江存,李芒会,于青,等.新鲜冰冻血浆融化后不同放置时间凝血因子的变化[J].中国输血杂志,2005,18(3):211-212.

[16] 杨丽,陈健.浅谈冷沉淀制备过程中的质量控制[J].中国卫生产业,2018,15(15):82-83.

[15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.国卫医发[2015]95号附件血站技术操作规程(2015版)[A].2015-

(收稿日期:2019-01-24 修回日期:2019-04-10)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.15.032

## 单通道经皮肾镜联合输尿管软镜治疗复杂肾结石的分析

杨川,王凯<sup>△</sup>

湖北省孝感市汉川市人民医院泌尿外科,湖北孝感 432300

**摘要:**目的 探讨单通道经皮肾镜(PCNL)联合输尿管软镜治疗复杂肾结石的疗效。方法 回顾性分析 2017 年 2 月至 2018 年 2 月于该院行多通道 PCNL 联合输尿管软镜(对照组,33 例)、单通道 PCNL 联合输尿管软镜(研究组,33 例)方案进行肾结石治疗的 66 例患者临床资料。比较两组患者手术前及手术 1 个月后肾功能(肌酐、尿素氮)水平;记录两组患者手术情况(手术时间、出血量)及术后情况(下床时间、住院时间、住院费用);观察两组患者手术 1 个月后结石清除率和并发症情况。结果 与手术前相比,手术 1 个月后,两组患者肌酐、尿素氮水平均明显下降,且研究组明显低于对照组( $P < 0.05$ )。研究组患者手术时间、手术出血量、术后下床时间、住院时间、住院费用均明显少于对照组( $P < 0.05$ )。手术 1 个月后,研究组患者并发症总发生率明显少于对照组( $P < 0.05$ ),两组患者结石清除率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 单通道 PCNL 联合输尿管软镜治疗复杂性肾结石,可明显改善患者肾功能,加快患者痊愈进程。

**关键词:**单通道; 经皮肾镜; 输尿管软镜; 复杂肾结石

**中图分类号:**R692.4

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2019)15-2213-03

肾结石是由某些物质在肾脏异常聚集导致的,好发于青少年,男性多于女性,左右两肾发病无明显差异,属于泌尿系统常见疾病<sup>[1]</sup>。肾结石较小时,可通过大量饮水,利用尿液把结石冲洗出去;而复杂性肾结石包括孤立肾结石、马蹄型肾结石、鹿角状肾结石、多发肾结石等,多采用手术方法进行碎石、取石<sup>[2]</sup>。经皮肾镜(PCNL)取石术是一种保肾取石技术,通过 PCNL 在腰部开一个切口,利用超声、钬激光等进行碎石、取石。目前临床多根据患者结石部位、个数、大小等因素,选择单个或多个通道来进行手术,但通道选择不当时,可能增加出血、感染等风险<sup>[3]</sup>。单通道 PCNL 联合输尿管软镜疗法只创建一个经皮肾通道,对患者损伤较小,故本次研究将单通道 PCNL 联合输尿管软镜治疗复杂肾结石作为重点研究,以期降低手术风险、改善患者肾功能,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性分析 2017 年 2 月至 2018 年 2 月于本院行多通道 PCNL 联合输尿管软镜(对照组,33 例)、单通道 PCNL 联合输尿管软镜(研究组,33 例)方案进行肾结石治疗的 66 例患者临床资料。两组患者一般资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表 1。纳入标准:(1)经影像学

检查确诊为复杂性肾结石者;(2)年龄 60~80 岁者;(3)患者或家属知情并签署知情同意书者。排除标准:(1)合并肾脏其他疾病者;(2)合并凝血障碍者;(3)合并手术禁忌证者;(4)代谢功能异常或合并恶性肿瘤者;(5)伴有精神疾病或不能遵从医嘱者。

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备** 两组患者在术前均进行尿培养和尿常规检查。有尿路感染的患者进行抗感染治疗,尿道感染消失后才可进行手术;没有尿路感染的患者,术前 48 h 服用抗生素。

**1.2.2 对照组手术治疗方法** 对照组进行多通道 PCNL 联合输尿管软镜手术。手术方法如下:(1)患者取俯卧位,全身麻醉;(2)患侧输尿管逆行插管,垫高患者腹部肾区,暴露手术部位;(3)使用 DP-10 便携式黑白超声仪(迈瑞 Mindray 生产)确定患侧肾盏穿刺位置,用 18 号穿刺针在穹隆部进行穿刺;(4)成功穿刺后,留置斑马导丝,然后拔出输尿管外支架,置入工作鞘,建立两个及多个经皮肾通道,形成双通道取石;(5)将 JS-1 型经皮肾镜(沈阳沈大内窥镜有限公司)经皮肾通道进入患者肾脏;(6)使用钬激光气压弹道碎石术进行碎石,并取出碎石;(7)术后留置 6F 双 J 管、肾造瘘管和导尿管。

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:287517305@qq.com.