

冷沉淀制备过程的质量控制和去冷沉淀血浆的临床应用价值探讨

黎美君, 马姗姗[△], 夏代全, 骆展鹏, 张维理, 邹晓萍, 王娟娟(重庆市血液中心 400015)

【摘要】 目的 通过控制冷沉淀的制备过程, 分析去冷沉淀血浆的质量, 为临床应用提供依据。方法 采用离心法制备冷沉淀, 检测同一献血者来源的新鲜冰冻血浆、去冷沉淀血浆、普通血浆标本中凝血因子 FV、FVII、FVIII、FIX 水平, 以及纤维蛋白原和总蛋白水平并比较分析, 同时检测冷沉淀中 FVIII 与纤维蛋白原水平。结果 去冷沉淀血浆的纤维蛋白原、总蛋白及 FVIII 水平均低于新鲜冰冻血浆与普通冰冻血浆, 且其 FIX 水平同样低于新鲜冰冻血浆, 组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 去冷沉淀血浆在临床上不能等同于新鲜冰冻血浆和普通冰冻血浆使用, 应通过对冷沉淀制备过程的有效控制, 根据实际情况进行选择。

【关键词】 冷沉淀; 去冷沉淀血浆; 临床应用

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.06.041 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)06-0819-02

冷沉淀是新鲜冰冻血浆在 1~6 °C 条件下不溶解的白色沉淀物, 主要含有纤维蛋白原(Fg)、凝血因子 VIII(FVIII)和 FVIII、血管性假血友病因子(vWF)及纤维结合蛋白(Fn)5 种成分, 分出的血浆则为去冷沉淀血浆, 又称冷上清。近年来, 由于成分输血的大力推广及凝血因子制品的缺乏, 冷沉淀制品的临床应用范围和用量呈明显上升趋势, 除用于治疗甲型血友病及纤维蛋白原与凝血因子缺乏所致的出血性疾病外, 在烧伤、外伤、播散性血管内凝血(DIC)等方面也得到了广泛的应用。冷沉淀中 VIII 因子极不稳定, 献血者自身凝血因子水平, 血液采集过程, 制备时间、温度和方法, 运输温度等环节都会影响冷沉淀的最终质量。而临床通常将去冷沉淀血浆作为普通冰冻血浆使用。本文通过严格控制冷沉淀制备过程的关键环节, 分析冷沉淀和去冷沉淀血浆的质量, 为临床应用提供依据。现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 随机抽取符合《献血者健康检查要求》的 30 人份全血, 各 400 mL, 所有标本均采血顺畅、使用血液保存液 II 抗凝, 于采集后 6 h 内进行检测。

1.2 仪器与试剂 凝血因子检测均采用 CA-1500 全自动凝血仪(日本希森美康)及成都协和凝血系列试剂(FV、FVIII、FIX 检测试剂批号 20100902, FVII 检测试剂批号 20100901, 纤维蛋白原检测试剂批号 20100702); 蛋白水平检测采用 NSA-400 全自动生化仪(沈阳东软医疗系统有限公司)及四川迈克试剂(批号 051011021); 血浆速冻机(天津天商冰源科技发展有限公司), CytoTherm CT-4T, 6C 低温融化箱(美国科瑞特), Cyrofuge 6000i 大容量离心机(德国贺利氏), 低温冰箱(日本

三洋)。

1.3 方法 血液采集后储存在 2~6 °C 冰箱中, 严格按照国标要求在 6 h 内分离新鲜血浆 200 mL, 同时留取 2 份血浆标本约 15 mL, 其中 1 份速冻至 -50 °C 以下(新鲜冰冻血浆标本), 另 1 份置于 4 °C 冰箱(普通冰冻血浆标本)。次日将新鲜冰冻血浆放入 1~6 °C 水浴低温融化箱快速融化, 采用离心法制备冷沉淀。待血浆基本融化, 留有少许冰渣时, 取出血浆, 4 000 r/min, 2~6 °C, 15 min 离心, 分离出上清去冷沉淀血浆, 留下 20~30 mL 血浆和白色沉淀物, 即为冷沉淀。将其快速置于低温速冻箱内冻结, 同时留取血浆标本约 15 mL(去冷沉淀血浆样本), 与前一天置于 4 °C 冰箱的血浆标本一起放入 -20 °C 冰箱冰冻。按照试剂说明书操作, 检测新鲜冰冻血浆、去冷沉淀血浆、普通冰冻血浆样本中 FV、FVII、FVIII、FIX 水平, 以及纤维蛋白原和总蛋白水平, 并检测冷沉淀中 FVIII 和纤维蛋白原水平。

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

2.1 不同血浆标本各指标检测结果比较 新鲜冰冻血浆与去冷沉淀血浆标本中 FVIII、FIX、纤维蛋白原和总蛋白水平比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 普通冰冻血浆与去冷沉淀血浆标本中 FVIII、纤维蛋白原和总蛋白水平比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同血浆标本各指标检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	FV(%)	FVII(%)	FVIII(%)	FIX(%)	纤维蛋白原(g/L)	总蛋白(g/L)
新鲜冰冻血浆	93.1 ± 15.9	100.0 ± 19.8	65.6 ± 13.4 ^a	84.2 ± 11.0 ^a	2.7 ± 0.4 ^a	59.3 ± 5.6 ^a
普通冰冻血浆	89.9 ± 13.3	95.8 ± 17.0	59.8 ± 16.7 ^a	80.2 ± 12.4	2.6 ± 0.6 ^a	58.7 ± 5.5 ^a
去冷沉淀血浆	87.7 ± 14.5	94.6 ± 16.4	16.0 ± 5.3	75.5 ± 9.9	2.1 ± 0.3	55.4 ± 4.7

注: 与去冷沉淀血浆比较, ^a $P < 0.05$ 。

2.2 冷沉淀中 FVIII 和纤维蛋白原水平 冷沉淀中 FVIII 和纤维蛋白原水平分别为 (395 ± 76.4)% 和 (6.9 ± 0.9)g/L。

3 讨论

近年来, 随着冷沉淀凝血因子的广泛使用, 去冷沉淀血浆

[△] 通讯作者, E-mail: 4677479@qq.com。

的应用也逐年递增,但目前国内输血行业对去冷沉淀血浆没有明确的界定,《全血及成分血质量要求》^[1]中也无此类血液的术语和定义,对其在疾病治疗中的作用也未做出评估。大多数学者认为,去冷沉淀血浆仅能用于血栓性血小板减少性紫癜(TTP)的治疗^[2-4]。但也有文献报道,对于常规使用血浆的患者,新鲜血浆和去冷沉淀血浆可起到同等效果^[5]。本文采用离心法制备了冷沉淀,对比检测了同一献血者来源的新鲜冰冻血浆、去冷沉淀血浆、普通血浆标本中FV、FⅦ、FⅧ、FⅨ,以及纤维蛋白原和总蛋白水平,并且为了控制冷沉淀的质量,同时对冷沉淀中FⅧ因子和纤维蛋白原水平进行了检测,均满足标准要求。

冷沉淀制备过程中的影响因素较多,需要严格控制各关键点。如全血采集后需及时放入2~6℃冰箱;各袋新鲜血浆的容量最好控制在250 mL以内,否则不同血袋的融化时间差异较大,且需在6 h内冰冻;水浴低温融化箱和离心机在使用前应达到规定温度;融化血浆的数量应在规定的最大数量内;同时选择恰当的融化终点很关键,一般240 mL血浆的融化时间约为90 min。作者认为,当多数血浆融化至冰块直径2~3 cm、厚度约1 cm时终止融化最为恰当;对于极个别仍然较大的冰块需继续融化,此时需随时关注融化情况,使冷沉淀达到最佳分离状态。因为若以冰渣量很少或基本无冰渣为终点,会导致融化过度,待分离时可能出现冷沉淀溶解的状况,造成冷沉淀容量降低;若所选终点提前,会由于冰块过大造成冷沉淀容量超标。

本研究结果显示,去冷沉淀血浆中纤维蛋白原水平,FⅧ与FⅨ水平,以及总蛋白水平均明显低于新鲜冰冻血浆,差异均有统计学意义($P < 0.05$),尤其以FⅧ差异最大。本研究结果还显示,去冷沉淀血浆中纤维蛋白原、FⅧ及总蛋白水平均低于普通冰冻血浆,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。由于目前多数血站将去冷沉淀血浆标识为普通冰冻血浆,且临床上将两者等同使用,使得需补充以上凝血因子和总蛋白的患者不一定能达到治疗目的。因此不能把去冷沉淀血浆标识为普通冰冻血浆应用于临床。虽然一直以来FV被认为是稳定因子,但有学者研究发现,枸橼酸盐抗凝溶液(CPD血液保存液)保存的全血在4℃保存1周后所测定的FV活性与采集1 h后分离血浆所测定的结果接近^[6]。本研究同样显示,普通冰冻血浆、新鲜冰冻血浆的FV水平与去冷沉淀血浆比较,差异均无

统计学意义,与文献报道相符。此外有研究报道,去冷沉淀血浆和新鲜冰冻血浆中抗凝血酶-Ⅲ(AT-Ⅲ)、血浆蛋白C(PC)和血管性血友病因子裂解蛋白酶(ADAMTS13)水平无明显差异,即去冷沉淀血浆中富含大量的AT-Ⅲ、PC和ADAMTS13,理论上可用于上述因子缺乏症患者的补充治疗^[7]。并且用去冷沉淀血浆对TTP患者行血浆置换后,可使患者凝血系统恢复正常,病情明显好转^[8]。

综上所述,建议去冷沉淀血浆应单独标识,不能替代普通冰冻血浆,最好用于TTP患者的输注治疗,如此既可以达到有效治疗的目的,又能节约血液资源。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部和中国国际标准化委员会. GB 18469-2012, 中华人民共和国国家标准:全血及成分血质量要求[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [2] Altuntas F, Aydogdu I, Kabukcu S, et al. Therapeutic plasma exchange for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura; a retrospective multicenter study [J]. *Transfus Apher Sci*, 2007, 36(1): 57-67.
- [3] 陈镇奇, 黄蓝生, 温国强. 冷上清中部分有效成分的检测 [J]. *临床血液学杂志*, 2011, 24(2): 78-80.
- [4] 林昂. 去冷沉淀血浆部分凝血因子及蛋白含量的研究 [J]. *临床输血与检验*, 2011, 13(2): 149-150.
- [5] 肖瑞卿, 王泽蓉, 王世春, 等. 新鲜血浆与去冷沉淀血浆中血型抗体效价及血浆蛋白的比较 [J]. *中国输血杂志*, 2013, 26(2): 123-124.
- [6] Heiden M, Salge U, Henschler R, et al. Plasma quality after whole-blood filtration depends on storage temperature and filter type [J]. *Transfus Med*, 2004, 14(4): 297-304.
- [7] 马莉, 林方昭, 孙盼, 等. 去冷沉淀血浆制备前后 ADAMTS13 质量变化 [J]. *中国输血杂志*, 2011, 24(8): 688-689.
- [8] 刘建强, 马莉, 叶世辉, 等. 冷上清在治疗 TTP 患者中的作用 [J]. *西安文理学院学报: 自然科学版*, 2011, 14(4): 6-9.

(收稿日期:2014-09-23 修回日期:2014-12-19)

(上接第 818 页)

者血液参数与脾脏的变化及临床意义 [J]. *临床内科杂志*, 2009, 10(11): 39-40.

- [19] 徐桂娟, 杨晴, 陈阳. 慢性乙型肝炎患者血细胞计数与肝脏组织学的关系 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2010, 26(2): 182-183.
- [20] 陈永琴, 成宇, 徐文丽. 肝硬化患者血小板和单核细胞参数的变化及意义 [J]. *检验医学*, 2012, 27(11): 954-956.
- [21] 谭宗林. 肝炎肝硬化患者血小板及其参数的结果分析 [J]. *中国医学工程*, 2013, 21(3): 99.
- [22] 杨继红. 肝硬化患者血小板参数的变化及其临床意义 [J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(8): 994-995.
- [23] 张世斌, 王征, 米军, 等. 肝炎肝硬化合并免疫性血小板减少症临床特点分析(附 8 例报道) [J]. *临床肝胆病杂志*,

2011, 27(8): 847-849.

- [24] 周艳君. 肝硬化患者血小板参数变化及临床意义 [J]. *新乡医学院学报*, 2011, 28(2): 226-228.
- [25] 崔文娟, 宋凤群. 慢性乙型肝炎肝硬化血小板减少影响因素的研究进展 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2010, 13(1): 78-80.
- [26] 李晓红, 盛光耀, 王春美. 血小板三项参数在特发性血小板减少性紫癜和再生障碍性贫血患儿中的表达及意义 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24(21): 1694-1695.
- [27] 李月, 代震宇, 张德纯. 血小板分布宽度作为新型血小板活化特异性标志物的评价 [J]. *重庆医科大学学报*, 2011, 36(2): 200-202.

(收稿日期:2014-08-22 修回日期:2014-11-22)