

• 论 著 •

病毒灭活新鲜血浆在不同时间段质量分析*

陈素君¹, 谢冬梅¹, 廖丽梅¹, 黄勇华¹, 王艳清¹, 田桂敏¹, 黎文思¹, 邓启健¹, 朱敏捷²

(1. 清远市中心血站, 广东清远 511518; 2. 清远市清城区源潭医院检验科, 广东清远 511533)

摘要:目的 分析亚甲蓝光化学法(MB-P)灭活处理新鲜血浆(简称病毒灭活新鲜血浆)与未经灭活处理的新鲜血浆(简称新鲜血浆)在保存期内不同时间段有效成分的变化,为临床输注提供参考依据。方法 取 20 人份全血(每份 400 mL),按照标准操作规程制备成新鲜血浆(每份 200 mL)后,将其一分为二,制备病毒灭活新鲜血浆和新鲜血浆,两种血浆每份无菌分装为 5 等份,立即放入速冻冰箱速冻,在 0(制备后小于 72 h)、3、6、9、12 个月分别检测 V 因子、VIII 因子、纤维蛋白原(Fib)、亚甲蓝残留量、总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平。结果 两种血浆随着保存期的延长,V 因子、VIII 因子、Fib、总蛋白、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平呈下降趋势,pH 值呈上升趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 经过病毒灭活过程对血浆 V 因子、VIII 因子、Fib、总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平均有所影响,但能够达到国家规定的临床用血标准,采用病毒灭活可以在保留血浆基本成分的情况下提高临床用血的安全性。

关键词:新鲜血浆; 病毒灭活; 质量; 时间段

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)04-0465-03

Analysis of the quality in virus inactivated fresh plasma during different time period*

Chen Sujun¹, Xie Dongmei¹, Liao Limei¹, Huang Yonghua¹, Wang Yanqing¹,Tian Guimin¹, Li Wensi¹, Deng Qijian¹, Zhu Minjie²

(1. Qingyuan City Blood Center, Qingyuan, Guangdong 511518, China; 2. Department of

Clinical Laboratory, Qingcheng District Yuantan Hospital of Qingyuan City, Qingyuan, Guangdong 511533, China)

Abstract: Objective To Analysis of the changes of the effective components of MB-P fresh plasma and fresh plasma in different time in the preservation period, provides the reference for the clinical infusion. **Methods** Taken 20 doses of whole blood (400 mL/copy), in accordance with standard operating procedures preparation fresh plasma (200 mL/copy); Split them in two parts and divided into virus inactivated plasma and fresh plasma group, and divided this two kinds of plasmar in five equal parts in aseptic packaging each; immediately put them into a refrigerator for quick-frozen. Detected their V factor, VIII factor, Fib, methylene blue residues, total protein, pH value, the content of K⁺, Na⁺ and Cl⁻ after 0 (less than 72 h after preparation), 3, 6, 9 and 12 months respectively. **Results** Two kinds of plasma with the extension of the storage period, V factor, VIII factor, Fib, total protein, K⁺, Na⁺, Cl⁻ levels were decreased, pH showed an upward trend, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** After virus inactivation treatment, the level of plasma constituents have been changed, but to conform to the standard of blood for clinical use. Therefore, the virus inactivation treatment could be used to improve the safety of the effective components of plasma.

Key words: fresh plasma; virus inactivated; quality; time period

近年来,血浆用量有持续增长趋势,为保障输血安全,对血浆进行病毒灭活处理势在必行。亚甲蓝光化学法(MB-P)病毒灭活血浆是目前唯一获准用于临床的光化学血浆病毒灭活技术,其机制是亚甲蓝可与病毒的基因组核酸(鸟嘌呤-胞嘧啶)以及病毒的脂质包膜相结合,在可见光氧化损伤的作用下,可使病毒的核酸断裂,包膜破损,能使大多数的脂质包膜病毒和部分非脂质包膜病毒灭活,特别是对丙型肝炎、乙型肝炎、艾滋病等病毒灭活效果最理想^[1]。研究者对 MB-P 灭活处理新鲜血浆与新鲜血浆在保存期内不同时间段(0、3、6、9、12 个月)分别检测凝血因子 V (V 因子)、凝血因子 VIII (VIII 因子)、纤维蛋白原(Fib)、亚甲蓝残留量、总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平,现报道如下。

1 材料与方**1.1 样品来源** 取自本市中心血站 2012 年 9 月采集 6 h 内

保存于 2~6 °C 20 人份无偿献血者全血,血液保养液为枸橼酸钠-磷酸-葡萄糖-腺嘌呤(CPDA),每份 400 mL,献血者符合 GB18467-2011《献血者健康检查要求》。

1.2 仪器与试剂 一次性使用血袋[ACQ400B04 费森尤斯卡比(广州)医疗用品有限公司];一次性使用病毒灭活装置配套用输血过滤器(ZBKB01 山东中保康医疗器具有限公司);血浆病毒灭活柜(ZBK-YBM-01,淄博中保康医疗器具有限公司);大容量低温离心机(RC-3BP⁺ 美国赛默飞世尔科技有限公司);无菌接管机[费森尤斯卡比(广州)医疗用品有限公司];真空固相萃取装置、隔膜真空泵(天津津腾实验设备有限公司);pH 计(雷滋 PHS-3C 上海仪电科学仪器股份有限公司);电解质分析仪(AFT-500 梅州康立高科技有限公司);分光光度计(722 型 上海精密仪器仪表有限公司)。血凝仪(TECO COATRON M1);检测试剂:厂家均为 TECO, V 因子检测试

* 基金项目:广东省清远市科技计划课题项目(2013B010)。 作者简介:陈素君,女,副主任护师,主要从事血液质量检测及管理研究。

剂盒(批号:9530115)、Ⅷ因子检测试剂盒(批号:11081790)、Fib 检测试剂盒(批号:11095938)、通用凝血定标血浆(批号:98001758)。

1.3 方法

1.3.1 操作步骤 (1)取待检测血浆经 37 °C 水浴融化;(2)按要求复溶试剂;(3)用缓冲液将待测样本稀释 5 倍;(4)严格按照说明书进行操作,分别检测定标血浆及样本的凝固时间;(5)按照公式计算凝血因子水平;(6)每次检测均制作标准曲线。

1.3.2 两种血浆的制备及留样 同一人份制备的新鲜血浆分成两袋,每袋 100 mL,一袋用于制备病毒灭活新鲜血浆,另一袋用于制备新鲜血浆。病毒灭活新鲜血浆:按标准操作规程将血浆加入含亚甲蓝的光照袋及滤器放入医用病毒灭活箱中作病毒灭活(光照强度 30 000~38 000 Lx、温度 2~8 °C、摆动频率为每分钟 60 次、光照时间 30 min),处理后的血浆即为病毒灭活新鲜血浆;新鲜血浆:未经上述病毒灭活处理。将两种血浆每份无菌分装为 5 等份,制备完毕后立即放入速冻冰箱内速

冻,所有血液自采集至制备完毕均在小于 8 h 内完成。

1.3.3 检测项目 分别对病毒灭活新鲜血浆和新鲜血浆在保存期 0(制备后小于 72 h)、3、6、9、12 个月时进行检测,检测 V 因子、Ⅷ因子、Fib、总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平,病毒灭活新鲜血浆还需检测亚甲蓝残留量。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件作统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外观比较 两种血浆均在 37 °C 水浴融化后外观呈淡黄色液体,无纤维蛋白析出。

2.2 两种血浆凝血因子和生化指标水平比较 两种血浆随着保存期的延长, V 因子、Ⅷ因子、Fib、总蛋白、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平呈下降趋势, pH 值呈上升趋势,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 病毒灭活新鲜血浆与新鲜血浆在保存过程中各种指标水平变化 (*n* = 20)

检测项目	0 个月	3 个月	6 个月	9 个月	12 个月
V 因子(IU/mL)					
新鲜血浆	1.109 ± 0.200	1.049 ± 0.213	0.918 ± 0.149	0.882 ± 0.184	0.816 ± 0.262 *
病毒灭活新鲜血浆	1.091 ± 0.229	0.881 ± 0.220	0.809 ± 0.164	0.746 ± 0.194	0.636 ± 0.236 *
Ⅷ因子(IU/mL)					
新鲜血浆	0.966 ± 0.295	0.849 ± 0.280	0.789 ± 0.350	0.755 ± 0.334	0.746 ± 0.283 *
病毒灭活新鲜血浆	0.904 ± 0.199	0.802 ± 0.208	0.692 ± 0.204	0.644 ± 0.259	0.569 ± 0.229 *
Fib(mg/mL)					
新鲜血浆	2.126 ± 0.350	2.091 ± 0.420	1.945 ± 0.417	1.889 ± 0.360	1.806 ± 0.389 *
病毒灭活新鲜血浆	1.776 ± 0.480	1.691 ± 0.401	1.479 ± 0.446	1.439 ± 0.374	1.346 ± 0.357 *
总蛋白(g/L)					
新鲜血浆	58.358 ± 4.385	56.437 ± 4.483	55.081 ± 4.346	54.279 ± 3.289	53.240 ± 3.385 *
病毒灭活新鲜血浆	56.087 ± 2.769	55.794 ± 3.267	54.174 ± 2.836	53.357 ± 3.881	52.430 ± 4.774 *
pH 值					
新鲜血浆	7.271 ± 0.031	7.523 ± 0.140	7.783 ± 0.203	8.091 ± 0.347	8.221 ± 0.252 *
病毒灭活新鲜血浆	7.279 ± 0.047	7.534 ± 0.142	7.785 ± 0.147	8.006 ± 0.274	8.276 ± 0.198 *
K ⁺ (mmol/L)					
新鲜血浆	2.707 ± 0.270	2.601 ± 0.223	2.486 ± 0.223	2.447 ± 0.182	2.419 ± 0.263 *
病毒灭活新鲜血浆	2.648 ± 0.188	2.593 ± 0.336	2.435 ± 0.183	2.427 ± 0.205	2.419 ± 0.220 *
Na ⁺ (mmol/L)					
新鲜血浆	139.761 ± 4.511	139.167 ± 4.202	136.641 ± 3.842	135.280 ± 3.647	134.330 ± 4.287 *
病毒灭活新鲜血浆	138.148 ± 4.023	137.999 ± 4.101	135.612 ± 3.756	134.489 ± 3.649	133.940 ± 3.597 *
Cl ⁻ (mmol/L)					
新鲜血浆	82.602 ± 4.581	82.536 ± 4.254	82.424 ± 2.965	82.140 ± 2.886	80.250 ± 2.362 *
病毒灭活新鲜血浆	82.983 ± 4.769	81.383 ± 4.315	81.034 ± 2.846	80.653 ± 2.625	79.890 ± 2.401 *
亚甲蓝残留量(μmol/L)					
病毒灭活新鲜血浆	0.175 ± 0.067	0.168 ± 0.062	0.161 ± 0.054	0.157 ± 0.058	0.152 ± 0.063

* : *P* < 0.05, 与 0 个月比较。

3 讨 论

病毒灭活作为降低输血风险的新技术,除能有效地灭活血液中可能存在的病毒外,更重要的是对血液成分的功能无显著影响,保证血液成分的足够疗效^[2]。MB-P 灭活人血浆中的病毒早已被证实,而灭活后对血浆成分的影响国内外也已有不少研究,如陈镇周等^[3]研究经 MB-P 灭活的血浆,总蛋白的回收率为 97.13%,Fib 的回收率为 82.1%,V 因子回收率为 81.3%,Ⅷ因子回收率为 82.9%。王飞等^[4]测得的 MB-P 病毒灭活前后血浆Ⅷ因子回收率为 80.8%、Fib 回收率为 74.9%,蛋白水平无明显变化。但对 MB-P 病毒灭活前后在保存期内不同时间段 V 因子、Ⅷ因子、Fib、亚甲蓝残留量、总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平变化报道甚少。本研究资料显示,两种血浆在 0、3、6、9、12 个月各项指标自身前后相比,病毒灭活新鲜血浆和新鲜血浆 V 因子开始明显下降分别在第 3 个月和第 6 个月,Ⅷ因子分别在第 6 个月和第 9 个月,Fib 分别在第 6 个月和第 9 个月,总蛋白、K⁺、Na⁺ 在第 6 个月,Cl⁻ 在第 12 个月,pH 值呈上升趋势,明显上升在第 3 个月,亚甲蓝残留量无明显变化。通过实验研究证明,新鲜血浆经 MB-P 病毒灭活处理后,除总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平无明显变化外,V 因子、Ⅷ因子、Fib 水平在保存期内均明显下降,Fib 水平下降最为明显,在 12 个月冰冻保存期内不同时间段,病毒灭活新鲜血浆质量下降要比新鲜血浆迅速。两种血浆随着保存期的延长,除 pH 值上升外,各种有效成分也随之下降。

(上接第 464 页)

本文所探讨建立的质量评价方法考虑到从检测方法、检测项目到检测人群、结果判断等方面的因素,较为全面地反映了供应品的质量,可以推广到科室其他类似的重要供应品,从而建立科室合格供应品的准入标准。

参考文献

- [1] 周杰英,曹友德. ISO15189 在医学实验室管理中的运用[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(2):247-249.
- [2] 樊鹏威. 加强分析前质量控制保证检验质量[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(5):650-652.
- [3] 丛玉隆. 分析前质量管理及存在问题对策[J]. 中华检验医学杂志,2004,22(1):257-259.
- [4] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:53-97.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会. ISO15189:2012 CNAS-CL02:2012 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京:中国计量出版社,2012:15-17.
- [6] 陈益川,张德亭,李莉莉,等. 3 种采血管制备的标本对 6 种生化指

综上所述,经过病毒灭活过程对血浆 V 因子、Ⅷ因子、Fib、总蛋白、pH 值、K⁺、Na⁺、Cl⁻ 水平均有所影响,但能够达到国家规定的临床用血标准,采用病毒灭活可以在保留血浆基本成分的情况下提高临床用血的安全性^[5]。目前我国对制备病毒灭活新鲜血浆有严格的时间要求,为保障病毒灭活新鲜血浆的质量,需对整个制备流程作进一步的规范。因此,在日常工作中应不断地研究影响病毒灭活新鲜血浆相关因素,加强各环节质量,以保证输血安全的同时确保血浆成分的疗效。本次研究为临床使用病毒灭活新鲜血浆提供了信息和依据。

参考文献

- [1] 肖乐宇,肖声宇. 亚甲蓝光化学法血浆病毒灭活对血浆成分的影响[J]. 职业与健康,2008,24(8):740-741.
- [2] 葛健民,柏则蓉,梁启忠,等. 亚甲蓝光化学法病毒灭活前后血浆凝血因子等的质量分析[J]. 中国输血杂志,2012,25(8):750-751.
- [3] 陈镇周,肖明星,陈湘屏,等. 亚甲蓝光化学法病毒灭活对血浆质量的影响[J]. 中国输血杂志,2011,24(6):490-491.
- [4] 王飞,路志浩,古醒辉,等. 亚甲蓝光化学法病毒灭活前后血浆成分的变化[J]. 临床输血与检验,2010,12(2):97-98.
- [5] 宋飞峰,李竹兰,杨莹. 病毒灭活过程对血浆成分影响的临床研究[J]. 中华医院感染学杂志,2015,25(9):1943-1944.

(收稿日期:2015-10-28)

标检测结果的影响[J]. 检验医学,2014,29(4):402-404.

- [7] 王成河. 血清分离胶对临床生化工作的负面影响[J]. 实用医技杂志,2014,21(3):281-282.
- [8] 阴斌霞,黄芳,高宁,等. 肝素锂抗凝血浆与血清样品 28 项生化检验项目的可比性分析[J]. 实用医技杂志,2006,13(18):3167-3169.
- [9] 谭云昌. 血清与血浆中常规生化指标测定结果分析[J]. 中国误诊学杂志,2007,7(19):4522-4523.
- [10] 王宋兴,曾劲峰,古醒辉,等. 两种 TP 抗体检测试剂的质量评价[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(7):930-931.
- [11] 黄敏,柯苑,马成平,等. 2 种 ELISA 试剂检测性能统计分析[J]. 临床血液学杂志:输血与检验,2014,27(5):879-882.

(收稿日期:2015-09-28)



欢迎投稿
欢迎订阅