

全能自动风冷冷沉淀凝血因子制备仪性能评价

杨青成¹ 柴声江¹ 侯治兵¹

[摘要] 通过设置不同风速及送风模式,以探讨风冷冷沉淀凝血因子制备仪最佳性能,明确该制备仪在制备冷沉淀凝血因子过程中各参数的设定。每次取 20 袋 200 mL 规格冰冻生理盐水,设置 5 种不同的风速及送风模式(实验组),监测冰冻生理盐水袋底部和顶部的温度变化,融化过程中液体随时被蠕动泵转移至空袋中,当融化至 40~50 mL 时,蠕动泵停止工作,闭合导管,记录融解时间;每次取 20 袋 200 mL 规格的新鲜冰冻血浆,用融化时间最短的 3 种模式制备冷沉淀凝血因子,测定冷沉淀凝血因子 FⅧ和纤维蛋白原(FIB)含量。5 种不同融解模式浆袋底部风场温度为 3.4~4.0℃,顶部风场温度为 4.0~6.0℃,除模式 1 顶部风场温度为 6.0℃外,其余温度均控制在(4.0±0.5)℃,模式 1 与其他 4 个模式比较,差异有统计学意义($P<0.01$);5 种模式融解时间为 96.9~315.8 min,前后 2 模式比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。模式 3、模式 4、模式 5 制备的冷沉淀凝血因子 FⅧ和 FIB 含量呈上升趋势,差异均无统计学意义。随机挑选符合制备冷沉淀凝血因子要求的 200 mL 新鲜冰冻血浆(FFP) 80 袋为对照组。对照组与实验组模式 3、模式 4、模式 5 制备的冷沉淀凝血因子 FⅧ和 FIB 含量比较,差异有统计学意义。模式 5 融解时间最短,制备的冷沉淀凝血因子 FⅧ和 FIB 含量最高,是最优模式,值得推广。

[关键词] 冷沉淀凝血因子;制备;质量;风速;风冷

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.06.015

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** B

Performance evaluation of all-round automatic air-cooled cryoprecipitate coagulation factor preparation instrument

YANG Qingcheng CHAI Shengjiang HOU Zhibing

(Xiangyang Central Blood Station, Xiangyang, 441021, China)

Corresponding author: HOU Zhibing, E-mail: 21487543@qq.com

Summary By setting different wind speeds and different blowing modes, the optimal performance of the air-cooled cryoprecipitate coagulation factor preparation instrument was discussed, and the parameter settings of the preparation instrument in the process of preparing cryoprecipitate coagulation factors were clarified. Take 20 bags of 200 mL specification frozen saline each time, set 5 different wind speeds and blowing modes, monitor the temperature changes at the bottom and top of the bag body, and transfer the liquid during the melting process to the empty bag by the peristaltic pump at any time. When 40-50 mL was injected, the peristaltic pump stopped working, the catheter was closed, and the melting time was recorded; 20 bags of FFP with a specification of 200 mL were taken each time, and the cryoprecipitate coagulation factor was prepared in the three modes with the shortest melting time, and the cryoprecipitate coagulation factor FⅧ and fibrinogen(FIB) content. Under the five different melting modes, the temperature of the bottom wind field of the pulp bag is 3.4-4.0℃, and the temperature of the top wind field is 4.0-6.0℃, respectively. Except for mode 1, the temperature of the top wind field is 6.0℃, and the other temperatures are controlled at(4.0±0.5)℃, mode 1 compared with the other four modes, the difference was statistically significant($P<0.01$); the melting time of the five modes was 96.9-315.8 minutes, respectively, compared with the two modes before and after, the difference was all statistically significant($P<0.01$). The contents of cryoprecipitate coagulation factor FⅧ and FIB prepared by mode 3, mode 4 and mode 5 in the experimental group showed an upward trend, and the comparison was not statistically significant. The content of cryoprecipitate coagulation factor FⅧ and FIB prepared by mode 3, mode 4 and mode 5 in the control group and the experimental group were statistically significant. Mode 5 has the shortest melting time and the highest content of cryoprecipitated coagulation factor FⅧ and FIB, which is the optimal mode and is worth popularizing.

Key words cryoprecipitate coagulation factor; preparation; quality; wind speed; air cooling

¹襄阳市中心血站(湖北襄阳,441021)

通信作者:侯治兵,E-mail:21487543@qq.com

冷沉淀凝血因子是采用特定的方法将保存期内的新鲜冰冻血浆(FFP)在 1~6℃ 条件下融化后,分离出大部分的血浆,并将剩余的不溶解物质在 1 h 内速冻为固态的成分血。冷沉淀凝血因子含有高浓度的Ⅷ凝血因子和纤维蛋白原(FIB),临床用于治疗血友病、术后出血、严重外伤、弥散性血管内凝血、FIB 和凝血因子缺乏症等^[1],其疗效越来越被认可,临床需求量也越来越大^[2]。传统的制备方法主要为水浴或冰箱过夜融解 FFP,使用离心法或虹吸法分离出血浆,这些方法以人工操作为主,操作时间长、步骤繁琐,质量难以控制^[3]。当前有几款自动化程度较高的制备仪,由于是利用水浴融解,如果出现破袋,会造成同批次的其他血袋污染。为此,笔者研发在冰箱过夜融解新鲜冰冻血浆原理的基础上,利用冷风使 FFP 快速融化,用蠕动泵分离出血浆,自动化程度高,避免血袋破损带来污染的风险。制备冷沉淀凝血因子的关键因素是最短的融解时间和精准的温度控制,本文主要探讨在 4℃ 冷风环境下优化最佳的风速和送风模式等条件,以保证制备过程中温度稳定的情况下最短的时间制备冷沉淀凝血因子。

1 资料与方法

1.1 资料

随机挑选我站 2020 年 8 月采集制备的规格为 200 mL 符合制备冷沉淀凝血因子要求的 FFP 80 袋为对照组。血浆袋(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司),平板速冻机(深圳市爱康生物科技有限公司),-30℃ 低温冰箱(青岛海尔生物医疗股份有限公司),全自动风冷冷沉淀凝血因子制备仪(武汉致墨医疗有限公司),冰冻血浆解冻箱(KJX-III,苏州医用仪器厂),全自动血凝分析仪(BE-compact X,德国 BE 公司),电热恒温水浴箱(上海跃进医疗)。

1.2 方法

1.2.1 用冰冻生理盐水模拟新鲜冰冻血浆做融解实验 ①制备冰冻生理盐水袋:用我站制备 FFP 同厂家、同规格的 200 mL 浆袋(双联袋)注入 200 mL 生理盐水(导管用夹子夹住,空袋完好连接)100 袋,用平板速冻机速冻后放置于-30℃ 低温冰箱保存备用。②融化冰冻生理盐水:从-30℃ 低温冰箱取出冰冻浆袋,放置于室温约 5 min,待导管稍融解软化后,将冰冻浆袋移入 4℃ 恒温盒内,每个盒内仅放置 1 袋冰冻浆袋,悬挂在称重秤上,空袋放置在平台上,导管安放至蠕动泵内,按以下 5 种模式,每种解冻 20 袋,融解过程中的液体随时被蠕动泵转移至空袋中,记录浆袋内剩余重量,当剩余重量达到预设值(40~50 mL 血浆重量)时,蠕动泵停止工作,闭合导管,记录每袋浆袋底部、顶部风场

温度和融解时间。

模式 1:冰冻浆袋与恒温环境内壁间隔 20 mm,自然冷却风场,近似静风,温度恒温环境 4℃。模式 2:冰冻浆袋与恒温环境内壁间隔 20 mm,顶部风入口,垂直风速 1 m/s,底部回风口,温度恒温环境 4℃。模式 3:冰冻浆袋与恒温环境内壁间隔 20 mm,浆袋左右(较宽面)入口,风速 1 m/s,底部回风口,血浆袋较宽表面方向水平对称风场,温度恒温环境 4℃。模式 4:冰冻浆袋与恒温环境内壁间隔 20 mm,浆袋左右(较宽的面)4℃ 恒温板上有数量为 16×10 的微孔阵列、口径为 3 mm 的入风口,高压(4 bar 风压)对称风场,风速 4 m/s,底部回风口,温度恒温环境 4℃。模式 5:冰冻浆袋与恒温环境内壁间隔 20 mm,浆袋左右(较宽面)直接接触 4℃ 恒温板,顶部设定向下风速 1 m/s 扰流风,底部回风口,温度恒温环境 4℃。

1.2.2 FFP 制备冷沉淀凝血因子 实验组:用冰冻生理盐水溶解时间最短的 3 种模式,每种模式用 20 袋规格为 200 mL FFP 制备冷沉淀凝血因子,用速冻机速冻后保存于低温冰箱。对照组:按照《血站技术操作规程(2019 版)》用冰冻血浆解冻箱融解虹吸法制备,取 20 袋规格为 200 mL 的 FFP 制备冷沉淀凝血因子,用速冻机速冻后保存于低温冰箱。

1.2.3 检测 FⅧ和 FIB 含量 按照仪器和试剂盒说明书,对实验组和对照组制备的冷沉淀凝血因子的 FⅧ和 FIB 含量进行测定。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 21.0 分析数据,数据资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用独立样本 *t* 检验和单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 种不同风冷融解模式融解效果

5 种不同融解模式下浆袋底部风场温度为 3.4~4.0℃,5 种模式两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);顶部风场温度为 4.0~6.0℃,模式 1 与其他 4 种模式比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),模式 2 和模式 5 两两比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);融解时间为 96.9~315.8 min,前后 2 种模式比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),见表 1。

2.2 2 组制备的冷沉淀凝血因子效果比较

模式 3、模式 4、模式 5 制备的冷沉淀凝血因子 FⅧ和 FIB 含量呈上升趋势,差异无统计学意义。对照组与实验组模式 3、模式 4、模式 5 制备的冷沉淀凝血因子 FⅧ和 FIB 含量比较,差异均有统计学意义,见表 2。

表1 5种不同融解模式效果比较

	模式1	模式2	模式3	模式4	模式5
底部风场温度/°C	4.00±0.23	3.80±0.19	3.40±0.21	3.60±0.26	3.60±0.18
顶部风场温度/°C	6.00±0.39	4.00±0.29	4.20±0.26	4.20±0.25	4.20±0.21
融解时间/min	315.8±21.5	164.3±13.2	144.6±10.5	117.7±5.3	96.9±3.5

表2 对照组和实验组制备效果比较

	模式3	模式4	模式5	F	P	对照组	F	P
融解时间/min	146.1±15.1	109.3±10.5	95.5±8.7	99.2	<0.001	75.5±13.2	120.5	<0.001
FⅧ/(IU·2U ⁻¹)	132.7±36.6	139.3±41.8	143.9±28.7	0.48	0.62	91.3±25.2	10.2	<0.001
FIB/(mg·2U ⁻¹)	252.3±56.2	261.9±64.5	268.3±48.9	0.38	0.39	193.2±55.6	7.4	<0.001

3 讨论

冷沉淀凝血因子含有高浓度不稳定的Ⅷ凝血因子, FⅧ半衰期为12~24 h。FFP融化后, Ⅷ因子活性随时间改变而有明显的降低, 12 h后其活性衰减41.17%, 24 h后其活性衰减42.82%, 因此, 制备冷沉淀凝血因子过程中, 环境温度、融解时间的有效控制直接影响到冷沉淀凝血因子产品质量。冰冻浆袋在融解的过程中, 需要热能交换, 热能交换越快, 融解越快, 损失的凝血因子越少, 产品质量越高。本研究的原理就是利用冷风快速交换冰冻浆袋表面的热能, 使其快速融解; 且每袋浆袋解冻的过程中均为独立的空间, 温度可控, 破袋易于处理, 不会污染其他袋体。表1可知, 模式1为自然冷却风场, 近似静风, 温度恒温环境4°C, 冰冻浆袋表面的热能基本靠空气分子自由运动来交换, 交换速度极其缓慢, (315.8±21.5) min才解冻完毕, 且其顶部风场温度高达(6.00±0.39)°C, 与其他4种模式比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 说明模式1顶部风场温度过高, 融解时间过长, 不可接受。模式2为顶部风入口, 垂直风速1 m/s, 底部回风口, 温度恒温环境4°C, 由于风向是垂直风, 即从冰冻浆袋顶部往下吹, 风与冰冻浆袋接触面有限, 交换能量也有限, 故融解时间也很长。模式3与模式2比较, 风速相同, 但风的接触面更大, 为浆袋左右(较宽面)入口, 浆袋较宽表面方向水平对称风场, 因此, 融解时间相对要短。模式4为浆袋左右(较宽面)4°C恒温板上有数量为16×10的微孔阵列, 口径为3 mm的入风口, 4 bar风压对称风场, 风速4 m/s, 底部回风口, 与模式3相比, 仍为左右对称风, 但风速增加, 热能交换速度更快, 融解时间缩短到(117.7±5.3) min。模式5为浆袋左右(较宽面)直接接触4°C恒温板, 顶部设定向下风速1 m/s扰流风, 底部回风口, 温度恒温环境4°C, 这种方式冰冻浆袋热能交换面更大、受温更均匀, 仅需(96.9±3.5) min即完成融解。模式2至模式5, 顶部风场温度、底部风场温度均可控, 但融解时间相差很大, 前后2模式比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。说明模式5为最优模

式, 工作人员接受度高。

表2可知, 实验组制备冷沉淀凝血因子所需时间比对照组要长, 与模式5比较, 时间仅延长20 min, 在可接受的范围内, 且实验组自动化操作, 不需要人员值守, 减轻工作强度, 全程操作可控, 数据可追溯, 有利于全面质量管理。实验组与对照组制备的冷沉淀凝血因子FⅧ和FIB含量均符合《全血及成分血质量要求》(GB 18469-2012); 来源于400 mL全血制备的冷沉淀凝血因子FⅧ≥80 IU, FIB≥150 mg。2组FⅧ和FIB含量比较差异有统计学意义($P < 0.001$)。实验组模式3、模式4、模式5制备的冷沉淀凝血因子FⅧ和FIB含量均差异无统计学意义, 但随着制备时间的缩短, FⅧ和FIB含量呈增长趋势, 因此, 模式5是最优模式。

《血站技术操作规程(2019版)》规定冷沉淀凝血因子制备时FFP置于2~6°C冰箱中过夜融化或在1~6°C水浴装置中融化。本研究利用2~6°C冰箱中过夜融化的原理, 结合风冷达到快速融解的目的, 将融解时间由大约8 h缩短到(95.5±8.7) min; 产品质量明显提高, FⅧ含量达(143.9±28.7) IU/2U, FIB(268.3±48.9) mg/2U; 每袋独立融解制备, 避免了破袋导致的污染; 自动化程度高, 规范化操作, 无人值守, 解决了成分制备工作人员紧张问题, 提高了工作效率和制备过程的可追溯性, 值得血站推广应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 傅国英, 徐雪梅, 江素君, 等. 速冻设备与速冻时间对制备冷沉淀质量的探讨[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(7): 836-837.
- [2] Green L, Bolton-Maggs P, Beattie C. British Society of Haematology Guidelines on the spectrum of fresh frozen plasma and cryoprecipitate products: their handling and use in various patient groups in the absence of major bleeding[J]. Br J Haematol, 2018, 181(1): 54-67.
- [3] 周丽, 余晋林, 吴伟珊, 等. 全自动冷沉淀制备仪的制备质量和效率评价[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(9): 1017-1019.

(收稿日期: 2021-05-01)