

• 论 著 •

重庆市中心城区汇集浓缩血小板制备关键控制点确认探讨*

周琼, 杨冬燕[#], 骆展鹏, 卿芸, 贺冬梅, 林兰, 曾北南[△]

(重庆市血液中心血液制备科, 重庆 400052)

[摘要] 目的 探讨汇集浓缩血小板在制备过程中, 关键控制点和参数的确认, 以期提高汇集血小板的产品质量并优化制备过程。方法 随机选取街头采血 84 人份(每人份 400 mL), 采用白膜层(BC)方法, 静置过夜法保存 BC; (1) 根据全血血小板含量及 BC 回收率确定汇集浓缩血小板的 BC 份数; (2) 根据离心机性能、离心效果确认合适的离心参数; (3) 比较汇集浓缩血小板和机采血小板相关质量指标: 容量、血小板的含量、红细胞混入量、白细胞计数, 储存期末 pH 值、无菌实验。结果 (1) 采用 6 个新鲜 400 mL 全血制备 BC 混合来制备汇集浓缩血小板; (2) 离心机(美国 Thermo cryofuge 8) 第 1 次全血离心参数和第 2 次汇集 BC 离心参数分别为: 离心力 2 283、291 g; 加速均为 9 g; 减速均为 4 g; 时间均为 12 min, 第 3 次(减红细胞)离心参数: 离心力 145 g, 加速 9 g, 减速 4 g, 时间 5 min, 离心效果均得到了良好印证; (3) 对比同期单采血小板 14 份在采集第 1、5 天的检测结果, 汇集浓缩血小板的容量、血小板含量, 红细胞混入量高于机采血小板组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 白细胞计数和储存期末 pH 值差异均无统计学意义($P > 0.05$), 无菌实验结果均为无菌生长。汇集浓缩血小板各质量指标除容量外, 均在国标规定范围内。结论 把控好关键控制点能有效提高制备成功率。

[关键词] 汇集血小板; 白膜法; 离心参数; 关键控制点

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2023.24.002

中图法分类号: R457

文章编号: 1009-5519(2023)24-4145-03

文献标识码: A

Discussion on the confirmation of critical control points for the preparation of pooled concentrated platelets in the central city of Chongqing*

ZHOU Qiong, YANG Dongyan[#], LUO Zhanpeng, QING Yun, HE Dongmei, LIN Lan, ZENG Beinan[△]

(Department of Blood Preparation, Chongqing Blood Center, Chongqing 400052, China)

[Abstract] **Objective** To discuss the confirmation of critical control points and parameters in the preparation of pooled concentrated platelets, so as to improve the product quality of pooled platelets and optimize the preparation process. **Methods** A total of 84 street blood samples (400 mL each) were randomly selected. The buffy coat (BC) method was adopted, and BC was preserved by standing overnight. According to the whole blood platelet content and BC recovery rate, the BC fraction of pooled concentrated platelets was determined. According to the centrifuge performance and centrifugal effect, the appropriate centrifugal parameters was confirmed. The related quality indexes of pooled concentrated platelets and mechanically collected platelets, such as volume, platelet content, red blood cell mixing amount, white blood cell count, pH value at the end of storage and aseptic experiment, were compared. **Results** A total of six BC prepared from fresh 400 mL whole blood were mixed to prepare pooled concentrated platelets. The first whole blood centrifugal parameters and the second BC centrifugal parameters of the centrifuge (Thermo cryofuge 8, USA) were: centrifugal force 2 283 g and 291 g respectively; The acceleration was all 9 g; The deceleration was all 4 g; The time was all 12 min, and the parameters of the third centrifugation (reducing red blood cells) were centrifugal force of 145 g, acceleration of 9 g, deceleration of 4 g and time of 5 min, and the centrifugation effect was well confirmed. Comparing the test results of 14 platelets collected separately at the first and fifth days, the volume and content and the amount of red blood cells mixed in of pooled concentrated platelets were higher than those in the platelet collected by machine, with statistical significance ($P < 0.05$). There was no significant difference between white

* 基金项目: 九龙坡区科技局技术预见与制度创新项目(2022-3-007-Z)。

作者简介: 周琼(1980-)本科, 副主任护师, 主要从事输血护理工作。 [#] 共同第一作者。 [△] 通信作者, E-mail: 805935636@qq.com。

blood cell count and pH value at the end of storage ($P > 0.05$), and the results of aseptic test were all aseptic growth. All the quality indexes of pooled concentrated platelets were within the national standard except the volume.

Conclusion Good control of critical control points can effectively improve the success rate of preparation.

[Key words] Pooled platelet; Buffy coat method; Centrifugal parameters; Critical control point

随着临床医学技术的发展,血小板使用量快速上升,目前临床上以使用单采血小板为主,但单采血小板存在血源招募相对困难,献血者献血时间较长等因素限制,不能完全满足临床上的需求;全血资源比单采血小板来源机会多。因此,汇集浓缩血小板作为单采血小板的有效补充,逐步在全国部分血站开展制备。同时,由于汇集浓缩血小板的制备过程较复杂,影响因素较多,因此对其制备过程中的关键控制点的确认显得尤为重要。本文采用汇集白膜层(BC)的方法制备汇集浓缩血小板,并对其关键控制点进行确认,为建立汇集浓缩血小板的制备标准,提供实践基础^[1-4]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 血液来源 在本中心街头采集的符合国家《献血者健康检查标准》的无偿献血者全血中,抽取规格为每袋 400 mL,共 84 袋,并按 ABO 血型分类,于室温放置。常规采集去白细胞单采血小板 14 袋, $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 振摇保存,备用。

1.1.2 研究对象分组 汇集浓缩去白血小板设为实验组;去白细胞单采血小板设为对照组。

1.1.3 仪器与试剂 全自动血细胞分析仪 X-500i (日本 sysmex),大容量冰冻离心机 cryofuge 8 (美国 Thermo),全自动全血成分离心机 compomat G4 (德国 Fresenius Kabi),无菌导管接驳机 TSCD-II (日本 Terumo),贮血冰柜 (日本 Sanyo),血小板恒温保存箱 PC4200h (美国 Helmer),Coulter 计数仪 (美国 beckman coulter),四联采血袋 (山东威高),PFS-PL300 型白细胞过滤器 (南京双威),血小板贮存袋 (美国 Haemonetics),7230 型分光光度计 (上海分析仪器厂),血气仪 (德国西门子 RP500),流式细胞仪 (美国 BD accuri C6 plus),全自动微生物侦测系统

BACT-3D (美国 BioMérieux)。

1.2 方法

1.2.1 采用 BC 方法制备 汇集浓缩血小板 采集 6 h 内的新鲜全血用 BC 方法分离制备 BC,并根据本地区献血者血小板浓度及血小板回收率^[5]初步确定 BC 汇集袋数。

1.2.2 制备过程四联袋 采集的新鲜全血 400 mL,常温保存,4~6 h 内重离心(第 1 次离心),将离心后的全血转入血细胞分离机(G4),按设定程序分离出含血浆、白膜、红细胞的 BC 共约 85 mL,BC 在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 条件下静置。次日将 6 袋经检验合格的同血型的 BC 通过无菌导管接驳机汇集,轻轻混合均匀后离心(第 2 次离心)。分离制备出汇集浓缩血小板,如果产品中红细胞残留量较多,则需再次轻离心(第 3 次离心),减除红细胞,将最终分离的产品经滤白处理后,直接转入血小板专用保存袋震荡保存。

1.2.3 第 1 次全血重离心参数 离心力 2 283 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 10 min(分离 BC)前提下^[6];确定第 2 次离心参数为:离心力 291 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 12 min(分离血小板);第 3 次离心参数为离心力 145 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 5 min(去除残留红细胞),观察并评价离心效果。

1.2.4 研究对象理化指标检测 实验室检测容量、血小板含量及血小板回收率、白细胞残留量、红细胞混入量、储存期末 pH 和无菌实验。

1.3 统计学处理 应用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本均数 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 离心参数 第 1 次全血重离心参数、第 2 次 BC 轻离心参数、第 3 次减除残留红细胞时的离心参数。见表 1。

表 1 离心参数

项目	离心力(g)	加速(g)	减速(g)	时间(min)	目视分层效果	血小板回收率(%)	界限是否清楚	血小板聚集
第 1 次离心	2 283	9	4	10	较好	—	是	—
第 2 次离心	291	9	4	12	较好	—	是	—
第 3 次离心	145	9	4	5	较好	87.92	是	无

注:—表示无此项。

2.2 汇集浓缩血小板 汇集袋数用四联袋采集的新

鲜全血 400 mL,预估回收后的血小板含量,确定以 6

袋汇集制备为 1 个汇集浓缩血小板。汇集浓缩血小板的容量、血小板含量,红细胞混入量高于机采血小板组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组白细胞计数和储存期末 pH 值比较,差异均无统计学意义($P >$

0.05)。见表 2。

2.3 汇集浓缩血小板和机采去白血小板质量指标见表 3。

表 2 汇集浓缩血小板汇集袋数($n=96, \bar{x} \pm s$)

项目	原始血容量 (mL)	平均原始血 PC 含量($\times 10^9$ L ⁻¹)	BCPC 含量	BC 回收率 (%)	5 袋原始总 PC 含量($\times 10^9$ L ⁻¹)	6 袋原始总 PC 含量($\times 10^9$ L ⁻¹)	7 袋原始总 PC 含量($\times 10^9$ L ⁻¹)
检测值	503.10 \pm 7.07	78.14 \pm 17.72	75.96 \pm 17.47	99 \pm 21	387.84 \pm 42.29	464.62 \pm 45.39	542.94 \pm 48.24
预估回收后血小板含量	—	—	—	—	221.58	251.19	278.22

注:—表示无此项。

表 3 保存期内汇集浓缩去白血小板与机采血小板质量指标比较($n=14, \bar{x} \pm s$)

项目	容量(mL) ^a	血小板含量 ($\times 10^{11}$ /袋) ^a	红细胞混入量 ($\times 10^9$ /袋) ^a	白细胞计数 ($\times 10^6$ /袋)	储存期末 pH 值	无菌实验
汇集浓缩去白血小板	352.100 \pm 12.900	3.700 \pm 0.340	0.170 \pm 0.047	0.053 \pm 0.057	6.94 \pm 0.08	无菌生长
机采血小板	273.200 \pm 10.200	2.560 \pm 0.240	0.085 \pm 0.016	0.070 \pm 0.081	6.91 \pm 0.33	无菌生长

注:^a $P < 0.05$ 。

3 讨 论

制备方法的成败取决于关键控制点的把控,汇集浓缩血小板制备的关键控制点主要包括制备方法的选用、汇集袋数,几次离心的参数及效果的选择、其他质量指标评价。

3.1 方法选用 选择适宜、较为成熟的技术。汇集浓缩血小板制备方法主要有富浆法和白膜法,其中白膜法制备浓缩血小板,在重庆市中心城区运用多年,较为成熟^[5-6],故选用白膜法。有研究报道,采用室温过夜汇集 BC 法制备的血小板含量较即时汇集 BC 法制备的血小板含量高^[2],因此采用静置过夜法来制备汇集浓缩血小板。

3.2 汇集袋数 根据重庆市中心城区献血人群全血血小板含量和 BC 回收率来预测汇集浓缩血小板的血小板计数,“五混一”方式中血小板计数有可能处于下限或不足,“七混一”方式造成太高,血液资源浪费,同时增加抗原性,因此确定采用 6 袋汇集成一份方式汇集浓缩血小板。

3.3 离心参数 选择不同离心机型号,即便是同一型号、新购进的和使用多年的机器,且维护状况、参数一致,离心效果也不一定相同,需要自己摸索最优离心参数^[7]。根据离心效果来确定离心参数。第 1 次离心参数:离心力 2 283 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 10 min 是制备浓缩血小板一直沿用的,且离心效果好,继续使用。在选择第 2 次汇集 BC 离心参数时,通过对比①(离心力 291 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 10 min)和②(离心力 291 g,加速 9 g,减速 4 g,时间

12 min)时,②离心效果更佳。汇集浓缩血小板中红细胞残留量较多时,则需再次轻离心(第 3 次离心)减少红细胞残留量,对比离心力 291 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 5 min;离心力 145 g,加速 9 g,减速 4 g,时间 5 min;离心参数红细胞去除效果虽然较好,但有较为明显的血小板聚集现象;则在红细胞去除和不引发血小板聚集综合离心效果上更佳。

3.4 其他质量指标评价 从实验中可以看出,汇集浓缩血小板的容量、血小板含量,红细胞混入量高于机采血小板组;白细胞计数和储存期末 pH 值在两组间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。(1)容量:汇集浓缩血小板容量明显高于机采血小板,也超过了国家标准,在实验之初,为保证血小板回收率,对之前沿用的机器制备浓缩血小板分离程序未进行修改(2 U 容量 50~76 mL),导致容量超标,这将作为下一步首要解决问题。(2)血小板含量:明显高于机采血小板组,即使排除容量超标因素,按比例递减,汇集浓缩血小板的含量也高于机采血小板组。(3)红细胞混入量:浓缩血小板组高于机采血小板组,但均在国标规定范围内。(4)白细胞计数:与机采血小板组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。汇集浓缩血小板使用专用血小板白细胞过滤器,特点白细胞清除率高,残留少,有效成分回收率也高。对汇集浓缩血小板进行滤除白细胞处理,可以减少各种输血不良反应的发生,同时利用血小板白细胞过滤器进行滤白处理,方便又快捷^[8]。(5)储存期末 pH 值和无菌实验,两组均无显著差异,符合国标规定范围。 (下转第 4153 页)

2014,34(2):157-162.

- [13] 曹东义. 新中国中医药曲折发展史: 回眸 70 年, 展望新时代[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(8): 757-759.
- [14] 邓玉霞, 唐振香, 李燕. 通乳散结汤治疗乳腺增生病肝郁痰凝证临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2018, 34(12): 1442.
- [15] 宋赫. 疏肝化癥胶囊联合化疗治疗气滞痰凝型乳腺癌的临床研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2018.
- [16] 杨琳, 任利, 张开征. 中药配方颗粒治疗肝郁痰凝型乳腺增生症的临床效果[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(11): 139-141.
- [17] 邵荣江, 宋晓冬, 卢宏亮, 等. 中西医结合治疗气滞痰凝型良性甲状腺结节的效果[J]. 中国城乡企业卫生, 2021, 36(6): 4-7.
- [18] 宋志超. 柴归汤联合穴位贴敷对气滞痰凝型桥本甲状腺炎临床疗效观察[D]. 济南: 山东中医药大学, 2021.
- [19] 杨乾韬, 田朝晖, 杨耀, 等. 疏肝健脾化痰方联合左甲状腺素治疗肝郁痰凝型多发性良性甲状腺结节的疗效观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(11): 2092-2096.
- [20] 陈涛, 陈丰. 加味柴桂温胆汤治疗肝郁痰阻型抑郁症 50 例[J]. 福建中医药大学学报, 2010, 20(5): 63-64.
- [21] 赵志勇. 二陈平胃散加减治疗气郁痰阻型难治

性胃食管反流病的临床疗效观察[J]. 中国现代药物应用, 2022, 16(7): 150-152.

- [22] 宋吉美, 房国伟, 朱建德, 等. 柴胡有效成分及其类方治疗桥本甲状腺炎作用机制研究进展[J]. 山西中医, 2020, 36(10): 57-59.
- [23] 赵丽, 张成, 潘倩倩, 等. 半夏的化学成分和药理活性的研究[J]. 广州化工, 2022, 50(8): 15-17.
- [24] 王峰, 王宝凯, 曲更宝, 等. 柴胡疏肝散加减对乳腺增生患者局部症状及血清性激素水平的影响[J]. 陕西中医, 2021, 42(7): 853-856.
- [25] 梁国强. 半夏厚朴汤辅助治疗气郁痰阻型胃食管反流病患者的效果[J]. 中国民康医学, 2021, 33(23): 107-109.
- [26] 邵丽, 周春雨, 毛梦迪, 等. 四逆散治疗抑郁症研究进展[J]. 中医学报, 2022, 37(6): 1198-1203.
- [27] 李琳瑜, 张兰. 张兰教授论治桥本甲状腺炎经验总结[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(2): 145-146.
- [28] 邹倩, 赵勇, 左新河. 左新河治疗气滞痰阻型甲状腺结节经验[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(6): 53-55.
- [29] 李康丽, 魏华. 魏华运用中医综合治疗甲状腺良性结节经验[J]. 中医药导报, 2022, 28(2): 200-203.

(收稿日期: 2023-04-16 修回日期: 2023-08-12)

(上接第 4147 页)

总之, 在开展新项目和新技术时, 确认工作非常重要, 随着技术的更新换代, 方法确认是开展质量监测和工作的前提条件和基本要求^[9]。因此, 对开展新项目和新技术进行方法查新, 借鉴数据, 结合自身条件、设备, 注意关键控制点和关键环节, 方法确认着重于方法能不能用, 确认结果合格后, 还需严密监测, 对影响结果的因素进行系统性评价。

参考文献

- [1] 王舒莹, 李晓明, 杨涛, 等. 不同模式汇集白膜层法制备浓缩血小板的临床应用[J]. 临床输血与检验, 2017, 19(2): 127-128.
- [2] 陈麟凤, 刘景汉. 手工汇集血小板的应用前景-制备新技术与临床新实践[J]. 临床输血与检验, 2016, 18(5): 409-411.
- [3] 罗晓娟, 李飞. 汇集浓缩血小板并滤除白细胞后的质量指标探讨[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(12): 1511-1513.

- [4] 段本荣. 单采血小板与手工分离血小板质量及输注效果的对比研究[J]. 中国医药指南, 2015, 13(25): 154.
- [5] 邓莉, 余利华, 杨冬燕, 等. 白膜法手工制备血小板与机制血小板的质量分析[J]. 临床输血与检验, 2018, 20(1): 18-19.
- [6] 黎美君, 马姗姗, 李明海, 等. 混合滤白浓缩血小板质量研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(16): 2319-2320.
- [7] 傅玉斌, 汤静儿, 李锦城, 等. 影响献血者捐献机采血小板的相关因素分析[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(4): 406-408.
- [8] 王红, 吴瑕, 钟锐, 等. 全血制备浓缩血小板的汇集及滤除白细胞的多中心研究[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(10): 990-994.
- [9] 付伟超, 郝凤霞. 检测实验室方法验证和方法确认探讨[J]. 轻工标准与质量, 2018(4): 59-61.

(收稿日期: 2023-03-18 修回日期: 2023-07-06)