

· 临床研究 ·

## 血浆病毒灭活后质量回顾性分析\*

王 飞, 卢舜华, 叶小演, 王桂萍, 古醒辉

(深圳市血液中心 518035)

**摘要:**目的 观察新鲜冰冻血浆在亚甲基蓝光化学法病毒灭活后总蛋白、Ⅷ因子和纤维蛋白原含量变化。方法 统计 2006 年 3 月至 2007 年 2 月随机抽检的 48 份新鲜冰冻血浆和 2007 年 3 月至 2008 年 2 月抽检的 48 份病毒灭活滤白新鲜冰冻血浆,经 37℃ 水浴融化后测定总蛋白、Ⅷ因子及纤维蛋白原含量,进行统计分析。结果 新鲜冰冻血浆经过亚甲基蓝光化学法病毒灭活后Ⅷ因子、纤维蛋白原含量明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );总蛋白含量无明显变化( $P > 0.05$ )。结论 血浆经亚甲基蓝光化学法病毒灭活处理能够提高输血安全性,同时部分血浆成分含量有一定下降。

**关键词:**亚甲基蓝;病毒灭活;血浆蛋白;凝血因子

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.15.045

中图分类号:R457.14

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)15-2043-02

## Plasma component variation after methylene blue virus inactivation treatment

WANG Fei, LU Shun-hua, YE Xiao-yan, et al.

(Shenzhen Blood Center, 518035, China)

**Abstract: Objective** To observe the variation of plasma total protein, concentrate Ⅷ factor and fibrogen after methylene blue virus inactivation treatment. **Methods** Using the data of 48 randomly selected fresh frozen plasma and 48 leukocyte-depleted fresh frozen plasma drawn from March 2007 to February 2008, we tested and made a retrospective statistics analysis on the changes of total protein, factor Ⅷ and fibrogen after thawed at 37° water bath. **Results** There was a small decrease in the level of factor Ⅷ and fibrogen. The difference was significant statistically. The level of total protein remains constant. **Conclusion** MB for plasma virus inactivation leads to significant improvement for blood safety while lower the level of plasma components.

**Key words:** methylene blue; virus inactivation; plasma protein; concentrate factor

随着临床输血技术的不断提高,成分血输注已广泛用于抢救和治疗患者,输血能够延续生命,但也会给患者带来传染疾病的危险。血液主要由血浆、血小板、白细胞和红细胞等成分组成,各种血液成分传播病毒的危险性不一样,其中白细胞传播病毒的风险最大,血浆次之。因此如何减少血浆输注的风险,提高血浆输注的安全性,一直是输血医学所关注的课题。近年来发展起来的血液成分病毒灭活技术,在提高输血安全性方面具有一定的作用。亚甲基蓝光化学法(methylene blue photochemistry, MB-P)病毒灭活血浆作为目前惟一获准用于临床的光化学血浆病毒灭活技术<sup>[1]</sup>,已应用于我国部分血站。亚甲基蓝属于吩噻嗪类染料,既可与细胞膜上的脂质和蛋白质结合,又可与核酸结合,经过一定波长的光照后,可产生活跃的氧原子,破坏病毒脂包膜和阻止其复制。该方法可灭活细胞外的脂包膜病毒,对于细胞内的病毒不具灭活作用,因此采用 MB-P 灭活血浆中病毒的同时,还需对血浆中白细胞进行滤除<sup>[2]</sup>。目前国内对该方法的研究报道多见于新鲜血浆,但对病毒灭活滤白后新鲜冰冻血浆的成分变化的报道尚不多见。作者对 MB-P 进行病毒灭活滤白后的新鲜冰冻血浆中的总蛋白、Ⅷ因子及纤维蛋白原含量变化进行了统计分析,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源与制备** 标本均为本中心 2006 年 3 月至 2008 年 2 月无偿献血标本,采血 6~8 h 内将 400 mL 全血制备成 200 mL 新鲜冰冻血浆或病毒灭活滤白新鲜冰冻血浆。2006 年 3 月至 2007 年 2 月随机抽检 48 份新鲜冰冻血浆,为亚甲基

蓝(MB)灭活前组;2007 年 3 月至 2008 年 2 月随机抽检 48 份 MB-P 病毒灭活滤白新鲜冰冻血浆,为 MB 灭活后组,两组均进行总蛋白、Ⅷ因子及纤维蛋白原含量测定,将两组数据平均值进行比较。

**1.2 主要仪器与试剂** SORVAL 3BP 离心机(美国 Thermo 公司)、722s 分光光度计(中国上海分析仪器厂)、四通半自动血凝仪(法国 DIAGNOSTICA STAGO)、ZBK-YBM-01 型医用血浆病毒灭活柜及耗材(淄博中保康医疗器具有限公司)、日立 7080 全自动生化分析仪(日本日立公司)、APTT 测定试剂(法国思达高公司)、纤维蛋白原检测试剂(成都协和生物技术中心)及蛋白检测试剂(上海科华生物技术公司)等。

**1.3 MB-P 病毒灭活血浆** 将全血 400 mL 离心分离制备成 200~230 mL 液体血浆,在无菌条件下,将血浆与一次性使用病毒灭活装置配套用输血过滤器连接,血浆通过输血过滤器中的 MB 添加元件后流入光照袋内。将含有 MB 的血浆平铺支架上放入照射仪内,在光照强度 31 800 Lux、温度 4℃、摆动条件下,血浆经 1 μmol/LMB 作用 30 min,进行病毒灭活处理,操作过程严格按 ISO9000 质量标准操作规程进行。

**1.4 凝血因子和总蛋白含量检测** 凝血因子活性测定采用血凝仪,严格依据检测试剂说明书操作;血浆蛋白测定采用双缩脲法,应用全自动生化分析仪测定。

## 2 结果

MB-P 病毒灭活前、后凝血因子及总蛋白含量降低,见表 1。

\* 基金项目:深圳市科技局课题资助项目(200803114)。

表 1 MB-P 病毒灭活血浆前、后凝血因子及总蛋白水平检测结果( $\bar{x} \pm s, n=48$ )

组别	n	总蛋白 (g/L)	Ⅷ因子 (IU/mL)	纤维蛋白原 (mg/mL)
MB 灭活前组	48	60.8±7.49	0.94±0.05	1.87±0.04
MB 灭活后组	48	59.4±6.98	0.75±0.04	1.37±0.05
t	—	0.31	0.0114	2.356
P	—	>0.05	<0.05	<0.05

—:表示无此项。

### 3 讨 论

临床用血来源以无偿献血者捐献为主,从低危人群中采集血液是保障血液安全的前提,血液检测是保证血液安全的重要手段。目前,由于对献血者和所献血液加强了筛查,与输血(全血和各种血液成分)相关的病毒传播的危险明显减少,但是这种筛查也有局限性<sup>[3]</sup>。尽管血液检测技术水平不断提高,血液的输注仍存在风险。其原因:(1)检测方法具有一定的局限性,还不能检出少数血液中感染的病毒和微生物,尤其是对于“窗口期”的血液,存在漏检的可能性;(2)一些可能通过输血传播的病毒还未列入常规血液检测项目,也威胁着血液输注的安全;(3)新的致病因子不断出现,可能在研究出检测方法前,已威胁着血液输注的安全。由于“窗口期”和漏检率的存在,绝对安全的血液仅占有所有输血的 40%左右。因此对血液制品进行病毒灭活处理,可以有效减少经血液输血传播的病原体,但对经病毒灭活处理的血液,其成分损伤可接受程度尚无统一认识,一般以血液保存期内血液成分活力和功能降低的允许范围作为参考<sup>[4]</sup>。

MB-P 病毒灭活法是通过导管相连的光敏剂添加器向血浆中添加 MB 的,MB 与病毒的基因核酸以及病毒的脂质包膜相结合,在光照下诱导氧化损伤作用发生,使病毒灭活,通过吸附过滤器滤除 MB 和白细胞,制成病毒灭活血浆。吸附过滤器内设置纤维过滤膜层和活性炭吸附层<sup>[5]</sup>,其主要通过阻滞作用、表面张力、电荷排斥力来滤除 MB 和白细胞。因过滤器孔径比凝血因子大,血浆过滤过程中阻滞作用可以不考虑,滤材的表面张力和电排斥力在滤除 MB 和白细胞时可能对凝血因子和蛋白有一定的吸附作用,造成血浆中纤维蛋白原和Ⅷ因子的损失。MB-P 灭活血浆病毒是一种最安全、有效的适合于临床用单袋血浆灭活病毒的方法。此方法灭活病毒的效果已得到大量实验证实<sup>[6]</sup>。

国内常用的血浆制品主要包括新鲜冰冻血浆、普通冰冻血浆、冷沉淀等。FFP 除含有正常人血浆蛋白成分外,还含有不稳定凝血因子Ⅷ等,作为血浆置换治疗的置换液<sup>[7-9]</sup>。新鲜冰冻血浆于置换后期输注能更多地置换出含毒素或抗体的血浆,减少新鲜冰冻血浆的用量<sup>[10]</sup>,在治疗和预防出血性疾病及大剂量输血所致的凝血功能障碍方面具有非常重要的作用。本研究结果显示,经 MB-P 进行血浆病毒灭活后,总蛋白含量虽然有所下降,但差异无统计学意义,与文献报道结果一致<sup>[11]</sup>。Ⅷ因子和纤维蛋白原含量有一定程度下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与黄文杰等<sup>[12]</sup>报道结果一致,但仍提示本研究在以下几个方面需要加以改进:(1)每组观察的例数均为 48 例,

统计标本量不够大,需扩大研究标本数量,以期得出更有意义的结果;(2)冷冻后的标本检测对检测者的操作要求较高,这可能会影响实验结果;(3)本研究是假设随机抽检的结果代表每个月每袋新鲜冰冻血浆的Ⅷ因子含量,而Ⅷ因子含量还受时间、温度等诸多因素的影响<sup>[13]</sup>。另有研究报道,新鲜冰冻血浆中Ⅷ因子成分与性别无关,与血型有关,即 O 型血浆中Ⅷ因子含量低于 A 型血浆<sup>[14]</sup>。

通过对新鲜冰冻血浆和病毒灭活滤白新鲜冰冻血浆质量的回顾性分析发现,虽然部分成分含量降低,但检测值符合新鲜冰冻血浆的质量标准。作者建议用于制备冷沉淀原料血浆的新鲜冰冻血浆不需进行病毒灭活处理;如患者需要输注Ⅷ因子或纤维蛋白原治疗时,首选冷沉淀制品;科学合理使用血浆制品,杜绝滥用血浆现象。

### 参考文献:

- [1] 钱开诚. 血液成分病毒灭活研究的进展[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(增刊): 36.
- [2] Jeffrey MC. A new paradigm for preventing transfusion-transmitted infections[J]. American J Clinical Pathology, 2007, 128: 945.
- [3] 李忠平. 临床输血浆病毒灭活的研究进展[J]. 国外医学输血及血液学分册, 2001, 24(2): 157.
- [4] 张钦辉. 临床输血学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 322.
- [5] 蔡杰, 胡俊妍, 陈映娥, 等. 白细胞滤器对新鲜冰冻血浆凝血因子及血浆蛋白的影响[J]. 中国热带医学杂志, 2006, 6(1): 123.
- [6] 陆萍, 凌冰, 季育华. 亚甲蓝光化学法灭活血制品中巨细胞病毒的研究[J]. 中国输血杂志, 2005, 18(4): 290.
- [7] 罗娟, 李忠俊. 血浆置换在出血功能异常治疗中的临床应用[J]. 重庆医学, 2007, 36(24): 2497.
- [8] 萧燕梅, 杨江英, 曹伟红. 致命白毒山伞中毒早期血浆置换救治的临床护理[J]. 海南医学, 2009, 10: 160.
- [9] 黄强, 秦小超, 王宇, 等. 血浆置换治疗重型肝炎常见不良反应的分析与防治[J]. 广西医学, 2009, 31(1): 81.
- [10] 刘凤君, 林武存, 赵树铭. 血浆置换治疗重症疾病患者 47 例临床应用分析[J]. 重庆医学, 2009, 38(12): 1425.
- [11] 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.
- [12] 黄文杰, 范恩勇, 孙海英. 亚甲蓝光化学法病毒灭活血浆对凝血因子的影响[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(18): 2193.
- [13] 杨江存, 李芒会, 于青. 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.
- [14] Claude O, Cecile D, Maite G, et al. Coagulation function in fresh-frozen plasma prepared with two photochemical treatment methods: methylene blue and amotosalen[J]. Transfusion, 2008, 48: 108.

(收稿日期: 2009-09-16 修回日期: 2010-01-11)