DOI:10.16016/j.2097-0927.202110184

两种方法制备自体富血小板血浆的质量及安全性比较分析

宋娜丽[1],王世春[1],易中梅[1],张 彬[1],刘 奇[1],李素梅[2],范娅涵[1],姚春艳[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院:输血科,中国人民解放军重庆血站[1];404300 重庆,重庆市忠县人民医院输血科[2]

[摘要] **目的** 比较血袋法与单采法制备富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)的质量及安全性。**方法** 回顾性分析2019年7月至2021年8月在陆军军医大学第一附属医院输血科自体PRP采集的患者66例,根据制备方式分为血袋组和单采组,其中血袋组30例制备47次,单采组36例制备36次。比较2组PRP产品中红细胞、白细胞、血小板及产品倍数。收集患者有无不良反应的记录,并进行安全性评价。**结果** 单采组制备时间、产品容量、产品浓度及产品倍数均优于血袋组,差异有统计学意义($P<0.01$);红细胞混入量2组比较差异有统计学意义($P<0.01$),血袋制备组少于单采制备组;白细胞混入量2组差异无统计学意义。两组患者均无不良反应。**结论** 单采组PRP产品血小板浓度高于血袋组且用时更短,推荐单采制备为首选,血袋制备为备选。

[关键词] 血袋法;单采法;自体富血小板血浆;血常规

[中图法分类号] R457.14 [文献标志码] A

Comparative analysis on quality and safety of autologous platelet-rich plasma collected and prepared by 2 methods

SONG Nali[1], WANG Shichun[1], YI Zhongmei[1], ZHANG Bin[1], LIU Qi[1], LI Sumei[2], FAN Yahan[1], YAO Chunyan[1]

[1]Department of Blood Transfusion, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Department of Blood Transfusion, Zhongxian People's Hospital, Chongqing, 404300, China

[**Abstract**] **Objective** To compare the quality and safety of platelet-rich plasma (PRP) by blood bag and monopheresis. **Methods** A retrospective analysis was performed on 66 patients treated with autologous PRP therapy in the blood transfusion department of First Affiliated Hospital of Army Medical University from July 2019 to August 2021. According to preparation procedure, they were divided into blood bag group ($n=30$, with 47 times of preparation) and monopheresis group ($n=36$, with 36 times of preparation). The counts of erythrocytes, leukocytes and platelets and product multiples in the PRP products were detected and compared between the 2 groups. Adverse reactions were recorded and safety was evaluated. **Results** The preparation time, product volume, product concentration and product multiple were significantly better in the monopheresis group than the blood bag group ($P<0.01$). The amount of mixed red blood cells was statistically less in the blood bag group than the apheresis group ($P<0.01$). There was no notable difference in the amount of mixed white blood cells between the 2 groups. No adverse reactions were seen in both groups. **Conclusion** The monopheresis PRP products have higher platelets concentration than those by blood bag and need shorter time of procedure group. Therefore, monopheresis is recommended as first choice and blood bag as the alternative.

[**Key words**] blood bag; monopheresis; autologous platelet-rich plasma; blood routine examination

Corresponding author: YAO Chunyan, E-mail:yaochunyan@tmmu.edu.cn

[通信作者] 姚春艳,E-mail:yaochunyan@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

自体富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是一种自体血液产品,经血液离心后获得,内含有大量的生长因子和其他细胞因子,可以有效促进组织细胞再生和修复,并具有多种免疫调节作用,相对没有任何明显的不良反应[1-2]。目前 PRP 的采集、制备方法主要有试管法、套装制备、血袋法及单采法[3-4]。血袋法和单采法均能在全封闭状态下采集、制备、分离。套装制备和试管法虽然操作简单,但均不能在封闭状态下分离、制备,存在一定的污染风险[5]。故本研究采用血袋和单采制备方法,并比较其在临床的技术应用方式、质量及安全性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析 2019 年 7 月至 2021 年 8 月在陆军军医大学第一附属医院输血科进行自体 PRP 采集的 66 例患者数据信息,其中治疗骨关节性疾病 26 例、脱发 14 例、面部美容用 11 例、口腔科种植牙用 2 例、创面修复 13 例;女性 42 例,男性 24 例。根据制备方式分为血袋组和单采组,其中血袋组 30 例制备 47 次,单采组 36 例制备 36 次。

1.2 采集制备前患者准备

1.2.1 患者身体评估 血小板>100×10^9/L,1 周内未服用影响血小板和凝血功能的药物,如阿司匹林等;无血液相关性疾病;无严重的心血管疾病和其他器质性病变(如尿毒症、肝衰竭等);全身无感染性病灶;无恶性肿瘤尤其是白血病;生命体征在正常范围内,女性患者避开生理期及前后 3 d;能够承受血袋法 50~400 mL 的采血量或单采法 400~500 mL 血量,体外循环 5~10 min。

1.2.2 饮食睡眠 清淡饮食,采集前一餐不食高脂高蛋白食物,保证睡眠充足。

1.2.3 血管条件 采集全血速度过慢且不顺利时会影响产品质量及增加患者痛苦,因此要求患者至少有 1 根血管充盈良好。

1.2.4 心理准备 采血前应与患者进行宣教、沟通,减轻其对采血的陌生感和恐惧感。

1.2.5 签署同意书 制备 PRP 前应告知患者注意事项并签署《富含血小板血浆治疗知情同意书》,明确治疗权益。

1.3 用物准备

热合机(达科为 CENTRON SE260)、一次性转移袋、医用离心机(湘仪 L420)、无菌接驳机(日本泰尔茂 TSCD-Ⅱ型)、血小板专用恒温振荡保存箱(苏州市医用仪器厂 XHZ-IB)、立式超低温保存箱(海尔 DW-86L828)、全自动血液分析仪(sysmex,SX-900i)。血袋采集制备需另外准备:一次性使用去白细胞采输血器(NGL/RF-XZ Q200、H400P)、CZK-Ⅱ型微电脑采液控制器(苏州市医用仪器厂)、FJ-Ⅱ型血液分浆夹(苏州市医用仪器厂)、大容量冷冻离心机(THermo6000i)。单采法采集制备需另外准备:全自动血细胞成分分离机(四川南格尔 NGL-XCF-3000)、一次性血细胞分离耗材(P-2000IE)、血液保存液Ⅰ(主要成分为:枸橼酸钠、枸橼酸、葡萄糖,四川南格尔生物科技有限公司)、钙剂(迪巧维 D 咀嚼片,300 mg/片);备心电监护仪、吸氧装置、急救车等。

1.4 环境准备

采集、分离、制备全过程须严格执行无菌操作规程。治疗室与成分制备室均应用空气消毒机消毒,操作台面及地面均用 0.1%的含氯制剂擦拭。

1.5 制备方法

1.5.1 血袋法制备要点 根据患者基本情况制定采血量,若采集全血量为非标准量(200 或 400 mL)应按照相应比例调整采集袋里的抗凝剂量。采集方法同健康献血员捐献全血流程[6]。采用白膜法制备 PRP,根据全血量确定离心力及时间。第 1 次离心力为 478~2 245×g,时间 8~15 min。将白膜层收集并解聚 30 min,进行第 2 次离心,离心力为 83~332×g,5~15 min,收集上层即为 PRP。在整个过程中温度均为 20~24 ℃。

1.5.2 单采法制备要点 应用全自动血细胞成分分离机加之配套的一次性血细胞分离耗材进行采集,采集前半小时给予钙剂口服,输入患者身高、体质量、性别、采前红细胞比容(red blood cell specific volume, Hct)、血小板,并调节采集参数,设置运行速度,采集与回输速度设置为 50~60 mL/min 为宜,抗凝剂与全血比例为 1∶10,血小板采集系数根据患者采集前血小板和 Hct 值设为 80~90,血小板采集容量根据医嘱及患者病情需要设置。采集结束即得自体 PRP。

1.5.3 PRP 的分装、保存及发放 ①分装 PRP 产品充分混匀后根据治疗次数经无菌接驳机分装成相应份数,贴好标签。②5 d 内使用的可保存于血小板震荡保存箱。5 d 后使用的则保存于-80 ℃低温冰箱,保存期 1 年[7]。③冰冻 PRP 发放前置于 37 ℃水浴箱融化,随即送往临床尽快使用。

1.6 数据收集

收集两组制备前患者血常规计数及 PRP 产品量、血细胞计数。收集血袋组制备所用的采血量、离心力、离心时间、温度;收集单采组制备所用的抗凝剂用量、

时间以及全血处理量。收集两组患者采集、制备过程中是否出现口唇发麻、心慌、气闷、出冷汗、穿刺点血肿等症状,制备前后患者的血压与心率。

1.7 采血后注意事项

采集之后嘱咐患者按压穿刺点 10~15 min,穿刺点敷料应保留至少 4 h,弹性绷带 2~4 h 后才能拆开,24 h 内保持穿刺部位的清洁干燥,不剧烈运动,补充水分。休息 30 min 左右,确认穿刺部位无异常渗血、出血及其他不良反应后再离开[7]。

1.8 细菌培养

按照 PRP 采集总数的 20% 比率抽取 PRP 产品 1 mL,在百级净化超净工作台中,放入硫基乙酸酯培养基中,置于 20~24 ℃培养箱中培养 7 d,观察结果[6]。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计学软件,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用独立样本 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般情况

66 例患者根据制备方式分为血袋组和单采组,其中血袋组 30 例,单采组 36 例。比较两组年龄、体质量、性别、疾病等一般临床资料,血袋组平均年龄明显高于单采组($P<0.01$),其余指标两组比较差异无统计学意义。见表 1。

表 1 两种方法制备 PRP 患者的一般情况 [$\bar{x}\pm s$, 例(%)]

临床资料	血袋组($n=30$)	单采组($n=36$)
年龄/岁	45.77±12.33	35.92±11.81[a]
体质量/kg	59.30±10.42	59.30±10.56
性别		
男性	14(46.67)	10(27.78)
女性	16(50.33)	26(72.22)
基础疾病		
骨关节性疾病	15(50.00)	11(30.55)
脱发	0	14(38.89)
面部美容	1(3.33)	10(27.78)
创面修复	12(40.00)	1(2.78)
种植牙	2(6.67)	0

a: $P<0.01$,与血袋组比较

2.2 PRP 的产品质量

采用血袋组制备共计 47 次,单采组制备 36 次。单采组制备时间、产品容量、产品浓度及产品倍数均优于血袋组,差异有统计学意义($P<0.01$),两组产品红细胞混入量比较差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 2。

2.3 不良反应

采集制备过程中通过监测生命体征与严密观察护理,两组患者均无不良反应。

2.4 无菌试验

按照细菌培养的方法观察结果,两组 PRP 产品均为无细菌生长。

3 讨论

PRP 是一种自体血液衍生产品,含有超过生理浓度数倍的血小板,因获取过程创伤较小、具有生物学治疗潜能等方面的优点。被应用于组织再生、伤口愈合、韧带修复、脱发以及医美[8-10]。与无偿捐献单采血小板筛查标准(血小板≥150×10^9/L)不同[11],PRP 治疗面对临床患者,均为小剂量制备,患者血小板>100×10^9/L 也能达到采集效果。两种方法制备自体 PRP,均在全封闭状态下进行,年龄偏大、体质量轻、心脏功能不好(>Ⅱ级)、血管条件相对较差的患者使用血袋法制备;对于临床 PRP 需求量大、患者血管好、心脏功能好等适宜体外循环的患者使用单采法制备。

与血袋组比较,单采组具备如下特点:①制备过程耗时短($P<0.01$),节省治疗时间。②采集量大[(32.00±5.12)mL],可一次制备多次使用。③产品倍数高。在本研究中两组均达到专家共识所推荐的血小板浓度(500~1 000)×10^9/L[5];血袋组产品红细胞混入量<单采组($P<0.01$),有以下两点原因:①在利用血袋采集白膜法制备时能够运用合适的离心力及离心时间;②实验中使用的全自动血细胞成分分离机与进口机器比较,收集血小板时,对红细胞的识别精确度不够;白细胞混入量,两组比较无统计学差异,但两组均高于专家共识所推荐的单采制备 PRP 产品中白细胞混入量<1×10^8/L 的标准[5],其质量与其他文献报道一致[12]。白细胞可

表 2 两种方法制备 PRP 的产品质量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	全血量/mL	采前患者血小板/10^9·L^{-1}	容量/mL	血小板/10^9·L^{-1}	WBC/10^9·L^{-1}	RBC/10^{12}·L^{-1}	产品倍数
血袋组	47	132.60±74.73	226.74±64.26	19.85±14.92	1066.96±470.01	0.99±0.87	0.04±0.03	4.84±1.74
单采组	36	448.31±46.76	227.33±44.65	32.00±5.12[a]	1690.86±518.46[a]	1.26±1.22	0.09±0.04[a]	7.40±1.56[a]

a: $P<0.01$,与血袋组比较

以帮助机体清除局部病原体、增加抗感染能力[13],但它释放的 IL-1β、TNF-α、IL-6 及 IL-8 等炎性因子又可能会抑制某些组织的修复或抑制修复过程中的某一时期。PRP 白细胞的混入对治疗效果的影响尚未明确,还需更多前瞻性临床研究来证实[14]。因此,本研究中所制备的 PRP 产品均未进行去白处理。

本研究所用的两种制备方法过程中所有患者均无不良反应。但需注意,无论采用单通道的单采法还是血袋法采集,离体的血液都无法及时回输至患者体内,因此过程中均须严密观察、护理患者,避免不良反应发生,尤其是体质量较少、年纪偏大的患者。采用血袋法分离 PRP 之后,可将余下的红细胞及血浆混匀以预存自体血的方式回输至患者体内,既不浪费血液资源,又能保证患者安全[15]。其次,在单采时伴有抗凝剂枸橼酸钠的输入,枸橼酸钠与血中游离钙螯合,可使血中钙离子减少,故单采前半小时应先给予口服钙剂[16]。

综上所述,单采组一次制备可多次使用,产品血小板浓度高且用时更短,分离 PRP 之后的血液成分均可回输至患者体内,故推荐单采制备为首选,血袋制备为次选。

参考文献:

[1] KAUSHIK A, KUMARAN M S. Platelet-rich plasma: the journey so far ! [J]. Indian Dermatol Online J, 2020, 11(5): 685-692. DOI: 10.4103/idoj.IDOJ_369_19.

[2] GENTILE P, GARCOVICH S. Systematic review—the potential implications of different platelet-rich plasma (PRP) concentrations in regenerative medicine for tissue repair[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(16): E5702. DOI: 10.3390/ijms21165702.

[3] GUPTA V, PARIHARA S, PATHAK M, *et al*. Comparison of platelet-rich plasma prepared using two methods: manual double spin method versus a commercially available automated device[J]. Indian Dermatol Online J, 2020, 11(4): 575-579. DOI: 10.4103/idoj.idoj_653_19.

[4] SRINIVASAN V R, REKHA M, EDSOR E, *et al*. Assessment of quality of platelet-rich plasma produced with desktop centrifuge and comparison with standardized commercially available platelet-rich plasma[J]. J Pharm Bioallied Sci, 2020, 12(Suppl 1): S607-S612. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_163_20.

[5] 中国输血协会临床输血管理学专业委员会. 自体富血小板血浆制备技术专家共识[J]. 中国输血杂志, 2021, 34(7): 677-683. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2021.07.001.
Professional Committee of Clinical Transfusion Management of China Transfusion Association. Expert consensus on preparation technology of autologous platelet rich plasma[J]. Chin J Blood Transfus, 2021, 34(7): 677-683. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2021.07.001.

[6] 国家卫生健康委员会. 血站技术操作规程(2019 版)[EB/OL]. [2019-12-31]. https://www.sbc.org.cn/upload/default/20190510/ef3ea3b66c019765da22a863be40f7ab.pdf.
National Health Commission. Technical operating procedures for blood stations(2019 version)[EB/OL]. [2019-12-31]. https://www.sbc.org.cn/upload/default/20190510/ef3ea3b66c019765da22a863be40f7ab.pdf.

[7] 单桂秋, 林放, 张爽, 等. 血小板拓展应用研究的认识与思考[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(6): 555-557. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2016.06.001.
SHAN G Q, LIN F, ZHANG S, *et al*. Understanding and thinking of platelet expansion and application research[J]. Chin J Blood Transfus, 2016, 29(6): 555-557. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2016.06.001.

[8] GUPTA S, PALICZAK A, DELGADO D. Evidence-based indications of platelet-rich plasma therapy[J]. Expert Rev Hematol, 2021, 14(1): 97-108. DOI: 10.1080/17474086.2021.1860002.

[9] FANG J, WANG X, JIANG W, *et al*. Platelet-rich plasma therapy in the treatment of diseases associated with orthopedic injuries[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2020, 26(6): 571-585. DOI: 10.1089/ten.TEB.2019.0292.

[10] CAO Y Q, ZHU X X, ZHOU R X, *et al*. A narrative review of the research progress and clinical application of platelet-rich plasma[J]. Ann Palliat Med, 2021, 10(4): 4823-4829. DOI: 10.21037/apm-20-2223.

[11] 赵树铭,史春梦,李忠俊.实用临床输血学[M].北京: 人民卫生出版社, 2015: 43.
ZHAO S M, SHI C M, LI Z J. Practical clinical blood transfusion[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2015: 43.

[12] 向仁雪, 吴建君, 王嘉嘉, 等. 手工与全自动法制备富血小板血浆的质量及治疗膝关节疾病的疗效分析[J]. 中国输血杂志, 2021, 34(7): 695-698. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2021.07.006.
XIANG R X, WU J J, WANG J J, *et al*. Autologous platelet-rich plasma(PRP) for treatment of knee arthritis: a comparative study between PRP prepared by manual and auto-

maticplatelet apheresis[J]. Chin J Blood Transfus, 2021, 34(7): 695-698. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2021.07.006.

[13] 李泰然, 陶凯, 陈胜, 等. 自体单采富血小板血浆修复慢性难愈合创面临床应用[J]. 创伤与急危重病医学, 2020, 8(5): 364-367. DOI: 10.16048/j.issn.2095-5561.2020.05.14.
LI T R, TAO K, CHEN S, *et al*. Clinical application of autologous single collection platelet-rich plasma in repairing chronic refractory wounds[J]. Trauma Crit Care Med, 2020, 8(5): 364-367. DOI: 10.16048/j.issn.2095-5561.2020.05.14.

[14] 刘培焱, 周琦, 管俊, 等. 富血小板血浆制剂中白细胞在临床中的作用及其制备[J]. 中国输血杂志, 2020, 33(7): 725-729. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2020.07.024.
LIU P Y, ZHOU Q, GUAN J, *et al*. Clinical effects of leukocytes within platelet-rich plasma preparations[J]. Chin J Blood Transfus, 2020, 33(7): 725-729. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2020.07.024.

[15] 易中梅, 蒋天伦, 徐霞. 1例术前自体血小板凝胶联合全血的预存应用[J]. 重庆医学, 2017, 46(2): 287-288. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.02.051.
YI Z M, JIANG T L, XU X. Preoperative application of auto logous platelet gel combined with whole blood in 1 cases[J]. Chongqing Med, 2017, 46(2): 287-288. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.02.051.

[16] 林惠凤. 实用血液净化护理[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
LIN H F. Practical blood purification nursing[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2005.

(**收稿**:2021-10-28;**修回**:2021-12-03)

(编辑 张 维)