

6 例新冠肺炎康复者恢复期血浆采集回顾分析

邱亚娟¹, 张会平¹, 赵英俊², 吴芳¹, 杨勇³

1. 长沙血液中心, 湖南 长沙 410011; 2. 厦门大学附属东南医院, 福建 漳州 363000;

3. 长沙市中心医院, 湖南 长沙 410004

摘要: **目的** 探讨新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)康复者血浆(convalescent plasma, CP)采集的安全性。 **方法** 用血细胞分离机采集 COVID-19 康复者血浆, 观察采集前后血压(blood pressure, BP)、心率(heart rate, HR)和呼吸频率(respiratory rate, R)等生命体征的变化情况, 了解血常规和电解质等实验室检测指标的变化情况。 **结果** 采集前、后 COVID-19 康复者 BP、红细胞(red blood cells, RBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、红细胞压积(hematocrit, Hct)、血小板(platelet, Plt)、电解质中钙离子(calcium, Ca²⁺)、钠离子(sodium, Na⁺)、氯离子(chlorine, Cl⁻)、钾离子(kalium, K⁺)变化差异均无统计学意义($P>0.05$)。采集后心率(HR)和呼吸频率(R)较采集前增高, 且差异有统计学意义($P<0.05$), 但在正常参考值范围内。 **结论** 紧急情况下可以利用血细胞分离机采集 COVID-19 康复者血浆, 该方法安全性可以接受。

关键词: 新型冠状病毒; 肺炎; 康复者; 血浆

中图分类号: R457.1⁺3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2020)11-1373-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.11.025

新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019,

作者简介: 邱亚娟(1983-), 女, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 临床输血。

通信作者: 张会平, E-mail: 463642723@qq.com。

COVID-19)患者的临床特点是潜伏期长, 流行范围较广, 传染性强, 传播途径复杂和重症患者治疗困难等。为有效降低重症患者病死率, 国家卫生健康委办公厅印发了《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[1]

参考文献

- [1] 王笑笑, 刘倩, 张英奎, 等. 2016 年河北省妊娠期糖尿病患病率和流行病学特点分析[J]. 中国全科医学, 2018, 21(21): 2592-2596.
- [2] Johnson ST, Mladenovic AB, Davenport MH, et al. Healthy eating and active living after gestational diabetes mellitus (HEALD - GDM): rationale, design, and proposed evaluation of a randomized controlled trial[J]. Contemp Clin Trials, 2017, 61(9): 23-28.
- [3] 李双辉. 家庭医生制度下医护团队合作模式对妊娠糖尿病病人妊娠结局的影响[J]. 全科护理, 2019, 17(17): 2110-2112.
- [4] 段晓丽, 殷勤. QQ 群分期健康教育联合孕妇学校对孕产妇自我护理能力的影响[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(6): 866-867.
- [5] 陈彬, 杨树勤. 慢性病研究中的统计知识简介(二)[J]. 中国慢性病预防与控制, 1993, 1(3): 139-142.
- [6] 中华医学会妇产科学分会产科学组, 中华医学会围产医学分会妊娠合并糖尿病协作组. 妊娠合并糖尿病临床诊断与治疗指南(草案)[J]. 中华围产医学杂志, 2007, 10(4): 283-285.
- [7] 张作记. 行为医学量表手册[M]. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2005: 267-268.
- [8] 朱宇航, 郭继志, 罗盛, 等. 简易应对方式问卷在老年人群体中的修订及信效度检验[J]. 中国卫生统计, 2016, 33(4): 660-664.
- [9] 王月宾, 许禄云, 杨林顺, 等. 自我护理能力实施量表中文版在精神分裂症患者中的信效度[J]. 临床精神医学杂志, 2014, 24(2): 36-39.
- [10] 贺彤. 妊娠期糖尿病患者胰岛素抵抗与胰岛素分泌功能的变化及其对妊娠结局的影响[J]. 医学临床研究, 2013, 30(9): 1765-1767.
- [11] Koivusalo SB, Kristiina R, Klemetti MM, et al. Gestational diabetes mellitus can be prevented by lifestyle intervention: the Finnish gestational diabetes prevention study (RADIEL)[J]. Diabetes Care, 2015, 39(1): 126-127.
- [12] 姜玲, 刘杨. 结构式家庭治疗对妊娠糖尿病患者焦虑抑郁的影响[J]. 国际护理学杂志, 2015, 34(3): 313-314.
- [13] 凌文丽, 赵晶. 孕妇学校在缓解妊娠期糖尿病患者心理压力中的作用[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(13): 2838-2841.
- [14] 任微, 王新春, 覃继英. 以时效性激励理论为指导的延伸服务对妊娠期糖尿病患者血糖控制及分娩结局的影响[J]. 中国医药导报, 2019, 16(1): 176-179.
- [15] 汤锦燕, 肖燕兰, 余婉波. 实施阶段性心理干预和保健教育对初产妇临床分娩及产后康复效果研究[J]. 实用预防医学, 2015, 22(9): 1099-1101.
- [16] 王薇, 楼青青, 赵芳, 等. 中外糖尿病社会心理学评价比较: 来自糖尿病态度、愿望与需求研究的结果[J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 8(1): 29-34.
- [17] Mina TH, Lahti M, Drake AJ, et al. Prenatal exposure to very severe maternal obesity is associated with adverse neuropsychiatric outcomes in children[J]. Psychol Med, 2017, 47(2): 353-362.
- [18] 杨桂莲, 龚灿辉, 陈霞, 等. 不同年龄妊娠合并糖尿病患者营养治疗后妊娠结局的研究[J]. 实用预防医学, 2018, 25(3): 355-357.
- [19] Fett AKJ, Shergill SS, Krabbendam L. Social neuroscience in psychiatry: unravelling the neural mechanisms of social dysfunction[J]. Psychol Med, 2015, 45(6): 1145-1165.
- [20] 冯健, 肖江, 林莉. 孕期护理干预对妊娠期糖尿病孕妇妊娠结局的影响[J]. 上海预防医学, 2019, 31(4): 301-305.

收稿日期: 2020-05-14

和《新冠肺炎康复者恢复期血浆临床治疗方案(试行第二版)》(以下简称“指南”),指南明确对病情进展较快、重型和危重型 COVID-19 患者推荐采用康复者血浆治疗 COVID-19^[2]。截至 2020 年 3 月 6 日,长沙市累计报告 COVID-19 确诊病例 242 例,重症率 15.70%^[3]。长沙血液中心和长沙市公共卫生救治中心联合发布倡议书后,在长沙市范围内招募志愿捐献血浆的 COVID-19 康复者。本文就 6 例 COVID-19 康复者血浆采集前后生命体征及实验室检测指标进行回顾性分析。

1 对象与方法

1.1 研究对象 根据指南^[2],志愿者满足以下要求:

①聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测阴性;②2019-nCov-IgG 抗体滴度高于等于 1:160 或 2019-nCov 总抗体滴度高于等于 1:320;③健康征询、体检和血液检测均符合《单采血浆站技术操作规程(2011 版)》^[4]和《血站技术操作规程 2019 版》^[5]相关要求。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 MCS⁺血细胞分离机(美国 Haemonetics),希森美康 KX-21 血液分析仪(日本)、生化分析仪(日立)、ABI7500 荧光实时定量 PCR 仪、奥斯邦酶联免疫分析系统;2019-nCov PCR 试剂(湖南,圣湘生物科技股份有限公司),2019-nCov-IgG 试剂(北京,万泰生物科技有限公司),2019-nCov 总抗体试剂(北京,万泰生物科技有限公司)、ACD-A(费森尤斯卡比医疗用品有限公司,500 ml)。

1.2.2 标本采集 采用血细胞分离机血小板收集程序 LDPLPS,不用更换程序进行 COVID-19 康复者恢复期血浆采集,2~3 个循环可以及时有效补充 200~300 ml 血量,每一循环采集至淘洗阶段,按下停止键阻止进行血小板的收集,只收集 400 ml 血浆,然后回输其他血液成分到捐献者体内^[6]。采集时间约 25~35 min,抗凝剂用量约 80~110 ml,处理全血量约 800~1 000 ml,采集后的血浆转移并分装为 200 ml/袋,迅速放置 2℃~6℃ 冰箱内保存。采集前志愿者口服葡萄

糖酸钙溶液,医务工作者在采集前、后分别留取志愿者血样进行血常规及电解质检测。

1.2.3 2019-nCov-PCR 核酸检测 利用实时荧光定量 PCR 技术进行,对于 FAM 或 ROX 通道检测到典型的 S 型扩增曲线,且 Ct ≤ 40 的样本,报告为 2019-nCoV 病毒阳性;对于 FAM 且 ROX 通道均未检测到典型的 S 型扩增曲线(No Ct),或 Ct > 40, HEX 通道有扩增曲线,且 Ct ≤ 40 的样本,报告为 2019-nCoV 病毒阴性,详细步骤参照试剂说明书。

1.2.4 2019-nCov-IgG 抗体检测 利用酶联免疫法进行,在酶标仪 450 nm 和 630 nm 双波长测定吸光度(absorbance, A)。临界值 = 0.16 + 阴性对照孔 A 值均值,阴性对照 A 值 ≤ 0.10,阳性对照孔 A 值 ≥ 0.19,否则试验无效。样品 A 值 ≥ 临界值者为 2019-nCov-IgG 阳性。样品 A 值 < 临界值者为 2019-nCov-IgG 阴性,详细步骤参照试剂说明书。

1.2.5 2019-nCov 总抗体检测 利用双抗原夹心法酶联免疫吸附试验原理进行实验,在酶标仪 450 nm 和 630 nm 测定 A 值。临界值 = 0.16 + 阴性对照孔 A 值均值(阴性对照孔低于 0.03 者以 0.03 计算),阴性对照 A 值 ≤ 0.10,阳性对照孔 A 值 ≥ 0.19,否则试验无效。样品 A 值 ≥ 临界值者为 2019-nCov 阳性。样品 A 值 < 临界值者为 2019-nCov 阴性,详细步骤参照试剂说明书。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 21.0 软件进行分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验分析采集前后志愿者生命体征及生化指标的变化情况, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 志愿者基本情况 6 位男性普通型 COVID-19 志愿者,平均年龄 34.4 岁(29~41 岁),平均体重 76.8 kg(66~90 kg)。出院到捐浆时间平均 14 d(9~25 d),首发症状到捐浆时间 29.5 d(21~38 d),每位志愿者本次捐浆 400 ml,捐献血浆前后均无献血不良反应,见表 1。

表 1 6 例康复者捐献血浆情况

编号	年龄(岁)	性别	体重(kg)	采集量(ml)	献血不良反应	既往疾病	出院到捐浆时间间隔(d)	首发症状到捐浆时间(d)
康复者 1	40	男	78	400	无	无	9	26
康复者 2	29	男	67	400	无	无	11	26
康复者 3	41	男	75	400	无	无	12	21
康复者 4	30	男	66	400	无	无	15	32
康复者 5	29	男	85	400	无	无	12	34
康复者 6	38	男	90	400	无	无	25	38

2.2 志愿者核酸及抗体检测结果 6 名康复者新冠病

毒核酸检测均阴性,2019-nCov-IgG 抗体及 2019-nCov

总抗体效价结果,见表 2。

表 2 6 例康复者核酸及抗体检测结果						
项目	康复者 1	康复者 2	康复者 3	康复者 4	康复者 5	康复者 6
核酸检测结果	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
2019-nCov-IgG 抗体	1:80	1:640	1:80	1:320	1:80	1:160
2019-nCov 总抗体	1:640	1:640	1:320	1:1280	1:640	≥2560

2.3 志愿者生命体征及检测项目的变化情况 血浆采集前、后康复者血压、心率和呼吸等生命体征的变化情况 & 血常规和电解质等实验室检测指标的变化情况见表 3。经统计分析,采集后与采集前红细胞、血红蛋白、红细胞压积、血小板、Ca²⁺、Na⁺、Cl⁻、K⁺ 等指标差异均无统计学意义 (P>0.05);采集前、后的呼吸和心率存在差异,且差异均有统计学意义 (P<0.05),但在正常参考值范围内。

表 3 康复者血浆采集前后相关生命体征及血液学指标检测结果分析($\bar{x}\pm s$)

项目	采集前	采集后	t 值	P 值
呼吸(次/min)	16±0.8	17±0.7	-2.573	0.028
血压(mmHg)				
收缩压	121±12.9	129±9.2	-1.317	0.220
舒张压	75±9.9	84±4.8	-2.134	0.069
心率(次/min)	70±5.2	88±1.5	-5.186	0.002
血常规				
红细胞($\times 10^{12}/L$)	4.7±0.2	4.8±0.3	-2.13	0.836
血红蛋白(g/L)	150±7.0	147±4.6	0.824	0.432
红细胞压积(%)	45±1.4	47±1.3	-1.83	0.097
血小板($\times 10^9/L$)	240±24	246±19	0.515	0.619
电解质(mmol/L)				
Ca ²⁺	2.34±0.03	2.36±0.03	-1.076	0.307
Na ⁺	136±1.63	137±1.76	-0.850	0.415
Cl ⁻	98±2.06	99±2.25	-1.069	-0.310
K ⁺	4.3±0.33	4.3±0.29	-0.092	0.929

3 讨论

《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》对于 COVID-19 治疗以抗病毒、康复者血浆治疗、免疫治疗、血液净化和呼吸、循环等方法为主。但传染性疾病在大流行暂无特效药的情况下,康复者血浆治疗作为危重症患者治疗的一种方法,血站应义不容辞地承担采集恢复期血浆任务。

此次采集的是符合招募条件的志愿者血浆,本研究表明捐献者在采集血浆的过程中血压平稳,说明采集对即时血容量影响不大。呼吸频率、心率虽增加,但在正常范围内,增加的可能原因是与捐献者的心理因素影响和心血管系统调节有关^[7]。采集前每位康复者口服葡萄糖酸钙溶液,避免 Ca²⁺ 被枸橼酸盐螯合^[8],使血 Ca²⁺ 维持在正常范围内,康复者血常规及电解质均无明显异常,1 周后电话回访捐献血浆的 COVID-19 康复者们,其心率、呼吸均正常。使用 MCS⁺ 血细胞分离机单采血浆,利用血小板采集程序相同的工作原理,每

一个采血循环,分离机以 5 500 r/min 速度旋转,血液成分因密度差异分层,将首先分离出约 100~200 ml 血浆。在程序运行过程中,每一个采血循环血浆分离出以后手动阻断程序,阻止收集血小板,以达到只收集血浆的目的,不影响康复者血红蛋白和血小板水平。整个采集时间、全血处理量及抗凝剂消耗量均比单采一个治疗量血小板少,可达到全自动血浆成分采集机相类似的效果,可作为特殊情况下血浆的采集。既往研究表明 SARA 患者从出现症状、体征到血清中检测出特异抗体 IgG 约 21 d^[9],中东呼吸综合征在发病后 11~15 d 可检测到抗体,发病后 21 d 抗体检出率在 90% 以上^[10],本研究 6 例康复者既往体健,首发症状到血浆采集均大于 21 d,这也符合“指南”中康复者捐献血浆距首发症状时间大于 3 周的条件。在采集前应完善 2019-nCov-PCR、IgG 抗体或总抗体检测,以提高采集血浆的合格率,本 6 例捐献者新冠病毒总抗体滴度均大于 320,也符合“指南”中要求 IgG 抗体滴度 ≥160 或总抗体滴度 ≥320。康复者治愈出院到捐献恢复期血浆平均时间 14 d(9~25 d),康复者产生抗体效价的高低可能与个体差异、不同临床分型、不同的治疗方法有关,因捐献者采集样本数量太少,需要在今后的工作中更进一步研究影响抗体效价的关键因素。

本研究不足之处,未对采集中 COVID-19 康复者凝血功能及免疫球蛋白进行检测,重症 COVID-19 患者可能出现凝血功能障碍,虽然 6 例康复者均为普通型,其血小板在采集前后均正常,血浆采集中抗凝剂是否会对凝血功能影响,免疫球蛋白是否会发生改变,有待进一步研究。

参考文献

[1] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[Z]. 2020-03-03.

[2] 国家卫生健康委办公厅,中央军委后勤保障部卫生局. 新冠肺炎康复者恢复期血浆临床治疗方案(试行第二版)[Z]. 2020-03-04.

[3] 陈水连,周银柱,张恒,等. 长沙市新型冠状病毒肺炎流行特征分析[J]. 实用预防医学,2020,27(5):527-529.

[4] 国家卫生健康委办公厅.《单采血浆站技术操作规程》(2011 版)[Z]. 2011-03-28.

[5] 国家卫生健康委办公厅.《血站技术操作规程》(2019 版)[Z]. 2019-04-28.

[6] 胡宇音,王晓平,陈筱华. 机采血小板采集方法改进的探讨[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版),2010,23(2):119-120.

[7] 陈会友,江朝富,崔徐江. 血细胞分离机采集 SARS 康复者血浆安全性的探讨[J]. 中国输血杂志,2013,16(4):229-230.

[8] 李军,夏代全,李明海. 如何降低机采血小板献血者献血不良反应的发生[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(13):1895-1896.

[9] 张印则,兰炯采,朱远林,等. SARS 与输血[J]. 临床输血与检验,2003,5(4):274-276.

[10] 马苗苗,沈晓玲,谭文杰. 中东呼吸综合征冠状病毒血清学检测方法研究进展[J]. 中国病毒病杂志,2018,8(2):156-160.