

新型注射器型富血小板血浆提取装置的研制

李斌,吴坛光*,胡惠英,李建华,陈开文,李书庭,甘秋枝

(中部战区总医院麻醉科,武汉 430012)

[摘要] 目的:研制一种注射器型富血小板血浆(platelet-rich plasma,PRP)提取装置,以解决目前PRP提取装置技术上的不足。方法:该装置以临床使用的螺口注射器为基础进行改进,设计为杆芯活塞可拆装式结构,配合使用鲁尔接头设计的封堵帽。其组件包括外筒、杆芯、活塞、封堵帽、斜面注射针和头皮针等。对该装置密封性、所制备PRP的无菌性、血小板富集程度进行测试。结果:该装置密封性良好,可满足无菌操作要求,所制备PRP中血小板富集程度为5.5倍左右。结论:该装置操作简便、使用安全,有利于PRP疗法的临床推广应用。

[关键词] 富血小板血浆;富血小板血浆提取装置;注射器型;血小板富集程度;富血小板血浆疗法

[中国图书资料分类号] R318.6;TH788.4 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 1003-8868(2021)09-0100-04

DOI: 10.19745/j.1003-8868.2021198

Development of new type of syringe-like platelet-rich plasma extraction device

LI Bin, WU Tan-guang*, HU Hui-ying, LI Jian-hua, CHEN Kai-wen, LI Shu-ting, GAN Qiu-zhi

(Department of Anesthesia, General Hospital of Central Theater Command, Wuhan 430012, China)

Abstract Objective To develop a new type of syringe-like platelet-rich plasma (PRP) extraction device to eliminate the deficiencies of the existing devices in technology. **Methods** The device was formed based the clinically used screw syringe, which had a plunger-and-rod-core-detachable structure and a plugging cap compatible with Ruhr joint. The components of the device included a barrel, a rod core, a plunger, a plugging cap, a bevel needle, a scalp needle and etc. Tests were carried out on tightness of the device, sterility of the PRP prepared and platelet enrichment. **Results** The device was well sealed to meet the requirements of aseptic operation and the platelet enrichment in the prepared PRP was about 5.5 times. **Conclusion** The device developed gains advantages in easy operation and safety, and contributes to promoting PRP therapy clinically.

[Chinese Medical Equipment Journal, 2021, 42(9): 100-103]

Key words platelet-rich plasma; platelet-rich plasma extraction device; syringe-like; degree of platelet enrichment; platelet-rich plasma therapy

0 引言

富血小板血浆(platelet-rich plasma,PRP)是自体全血经离心后得到的血小板浓缩物,PRP被激活后可释放生长因子及细胞因子等多种生物活性物质,具有良好的促进组织修复再生作用。PRP疗法已经成为近年来国际上兴起的治疗软组织损伤的新型生物疗法^[1-4]。如何从自体血液里面提取不小于5倍血小板浓缩倍数、无污染的PRP是PRP疗法的关键。

现有的2种PRP提取装置分别为分离管型和注射器型^[5-7]。分离管型PRP提取装置需要在注射器和PRP提取器中反复转移血液,存在二次污染隐患,且提取流程对操作环境的消毒要求较高。注射器型PRP提取装置需要采用第二注射器从中空的第一注射器杆芯及锥形橡胶活塞的中心开口处抽取血液离心后的上清层,由于受所用活塞的锥形结构限制,导致位于活塞的中心开口水平面上的上清层无法抽出,使血小板富集程度降低,而橡胶活塞与血液的直接接触存在过敏反应的可能,不适用于有既往橡胶制品过敏史的患者。因此针对现有PRP提取装置技术上的不足,亟须研制一种操作简便、使用安全,能提高血小板富集程度的注射器型PRP提取装置,有利于PRP疗法的临床推广应用。

基金项目:军队后勤科研面上项目(CWH17J003)

专利:国家实用新型专利(ZL 201820691827.5)

作者简介:李斌(1975—),女,硕士,副主任医师,主要从事临床麻醉及疼痛治疗方面的研究工作,E-mail:632953633@qq.com。

通信作者:吴坛光,E-mail:357483999@qq.com

1 注射器型 PRP 提取装置设计

1.1 结构设计

注射器型 PRP 提取装置以临床使用的螺口注射器为基础进行改进, 设计为杆芯活塞可拆装式结构, 配合使用鲁尔接头设计的可拆装式封堵帽。其组件包括外筒、可在外筒内腔滑动且与外筒可拆卸连接的杆芯、可将外筒内腔密封的活塞、封堵帽、斜面注射针和头皮针(如图 1 所示)。活塞设于外筒的内腔且与杆芯可拆卸连接, 外筒的一端设有与内腔联通的端口且端口可与头皮针连接, 封堵帽用于将端口密封, 斜面注射针用于穿过封堵帽插入外筒内腔抽吸液体。

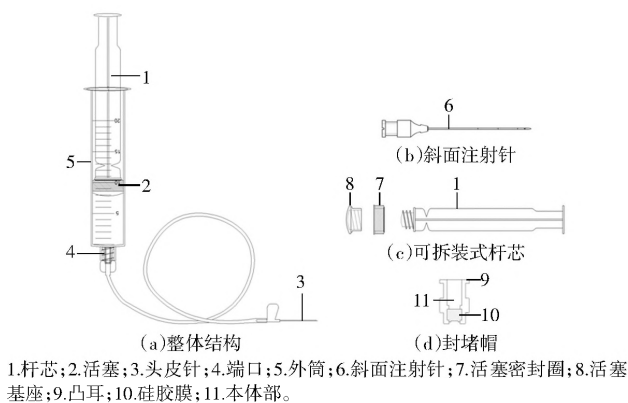


图 1 注射器型 PRP 提取装置结构示意图

活塞包括活塞密封圈和螺母结构的活塞基座, 活塞密封圈套接在活塞基座上, 杆芯末端为螺栓结构, 与活塞基座间形成可拆卸的螺栓连接。活塞密封圈采用橡胶材质制成, 活塞基座采用聚丙烯材质制成。端口外围设有螺口套, 封堵帽包括具有中空腔体的本体部、位于本体部底部将中空腔体的下端口密封的硅胶膜以及设于本体部两侧的凸耳, 本体部可与外筒底端的端口套接, 使本体部的中空腔体与外筒的内腔连通, 凸耳用于与螺口套配合连接进而实现封堵帽与端口的连接密封。凸耳设计为外螺纹结构, 可与螺口套内壁的内螺纹螺纹连接。

1.2 结构转换

本装置设计为一次性使用医用耗材, 可以根据临床治疗需要, 提供 20 或 50 mL 2 种规格。其注射器拆除杆芯, 安装封堵帽后, 可转为密闭离心管结构, 置于配套的离心机中使用。反之, 安装杆芯, 拆除封堵帽则还原为注射器结构, 可连接注射针采血或注射, 如图 2 所示。

2 注射器型 PRP 提取装置使用方法

采用二次离心法^[7-8]制备 PRP, 配套使用 DT5-2 型低速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司)

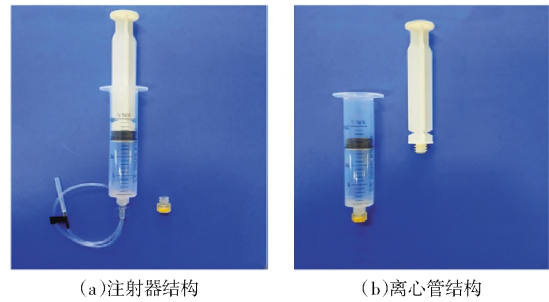


图 2 注射器型 PRP 提取装置的结构转换图

进行离心, 20 mL 规格的注射器型 PRP 提取装置需加用离心机适配器, 血液离心过程如图 3 所示。



图 3 血液离心过程图

2.1 采血

采用本装置抽取 20 mL 枸橼酸钠抗凝静脉血, 抗凝剂与血液体积比为 1:9。

2.2 一次离心

拆卸杆芯安装封堵帽, 将注射器转换为离心管, 使两边离心管平衡。第一次离心转速为 1 500 r/min (377g), 持续 10 min。离心后血液分为 3 层: 上层为贫血小板血浆, 中层为黄衣层(即浓缩的血小板), 下层为红细胞层[如图 4(a)所示]。重新安装杆芯并拆卸封堵帽, 将离心管转换为注射器, 推出下层大部分的红细胞(剩余约 0.5 mL 红细胞)。

2.3 二次离心

将注射器再次转换为离心管, 重新使两边离心管平衡。第二次离心转速为 1 800 r/min (500g), 持续 10 min。离心后血液分为 2 层, 用规格为 10 mL 且针头为斜面的注射器穿过封堵帽的硅胶膜, 抽取上层约 3/4 的血浆, 下层即为含少量红细胞的 PRP, 体积约为 2.5 mL[如图 4(b)所示]。经全血细胞计数检测, 所制备的 PRP 中血小板浓度平均值为静脉全血血小板浓度平均值的 5.5 倍。

2.4 注射

重悬并充分混匀 PRP, 将离心管转换为注射器结构, 即可进行局部注射。

3 产品测试

3.1 实验试剂和主要仪器

注射器型 PRP 提取装置由武汉普创模型技术



(a)一次离心后分层 (b)二次离心后分层

图4 血液离心后分层情况

有限公司依据本课题组提供的设计图 3D 打印,经低温等离子体灭菌后备用。实验涉及仪器与试剂包括枸橼酸钠抗凝剂(四川南格尔生物科技有限公司),DT5-2 型低速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司),P20002K-精密电子秤(常州锐品精密仪器有限公司),LK/KS150-A1 型过氧化氢低温等离子体灭菌器(成都老肯科技股份有限公司),BACT/ALERT 3D 全自动细菌分枝杆菌培养箱(美国 Bio-merirux 公司),BC-6800 全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

3.2 实验设计

本研究获得中部战区总医院伦理委员会审批通过,入选健康志愿者 30 例。纳入标准:符合《中华人民共和国献血法》和《献血体格检查标准》的相关规定;年龄 18~65 周岁,男女不限;血常规检查正常,本人自愿签署知情同意书并遵循研究方案的要求。排除标准:孕期及哺乳期妇女;采血前 2 周内吸烟饮酒史;既往有传染性疾病、影响血小板计数或功能的疾病史和药物服用史;体检医生认为有不能采血的其他疾病者。退出和终止标准:采血中出现晕厥等严重不良反应;受试者要求退出本研究;研究者认为受试者不宜继续参加本研究。

3.3 注射器型 PRP 提取装置的密封性检测

取注射器型 PRP 提取装置 30 套,各抽取枸橼酸钠抗凝静脉血 20 mL,组装为离心管结构并以精密电子秤称重平衡后,置于 DT5-2 型低速台式离心机,分别在相对离心力为 500g、1 000g、2 000g 和 4 000g 离心 10 min,观察离心前后血液体积的变化和密闭圈封堵帽周围血液的泄漏情况。

3.4 注射器型 PRP 提取装置所制备 PRP 的无菌性检测

30 例健康志愿者每例抽取 20 mL 外周静脉枸橼酸钠抗凝全血,以二次离心法(第一次离心 1 500 r/min×10 min,第二次离心 1 800 r/min×10 min)制备 PRP,取 2 mL PRP 行细菌培养(作为实验组),抽取 2 mL 外周静脉全血行细菌培养(作为对照组)。抽血和提取

PRP 均在医院治疗室内完成,注意手卫生和无菌操作,细菌培养瓶瓶口采用 0.5% 的医用活力碘消毒 3 次。血细菌培养采用 BACT/ALERT 3D 全自动细菌分枝杆菌培养箱,持续观察 5 d 无阳性结果则视为血培养阴性。

3.5 注射器型 PRP 提取装置所制备 PRP 的血小板富集程度检测

30 例健康志愿者每例抽取 20 mL 外周静脉枸橼酸钠抗凝全血,以二次离心法(第一次离心 1 500 r/min×10 min,第二次离心 1 800 r/min×10 min)制备 PRP,取 2 mL PRP 行血常规检查(作为实验组),抽取 2 mL 外周静脉全血行血常规检查(作为对照组)。血常规检查采用 BC-6800 全自动血液细胞分析仪。血小板富集程度=PRP 中血小板浓度/自体全血中血小板浓度。

3.6 统计学方法

应用 Prism 5.0 统计软件进行统计学分析,各测量指标的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组数据的比较采用 t 检验,样本率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

4 结果

4.1 一般资料

招募的 30 例健康志愿者包括男性 13 例、女性 17 例,年龄 17~54 岁,均在 2 min 内完成静脉采血,采血过程中未见不适反应。

4.2 装置密封性检测结果

离心前后比较,30 套提取装置内的血容量未见减少,活塞密封圈周围未见血液泄漏,封堵帽未见形变,封堵帽底部及与注射器乳头鲁尔接头连接处无血液泄漏,表明注射器型 PRP 提取装置密封性良好。

4.3 制备 PRP 的无菌性检测结果

实验组和对照组在 5 d 的血细菌培养周期内,均未见细菌生长,表明本装置及提取 PRP 过程均满足无菌操作要求。

4.4 制备 PRP 中血小板浓度及富集程度检测结果

实验组血小板浓度为 $(1\ 101 \pm 248) \times 10^9/L$,显著高于对照组血小板浓度 $[(204 \pm 40) \times 10^9/L]$,组间比较差异有统计学意义($P < 0.001$)。所制备 PRP 中血小板富集程度为 (5.52 ± 0.77) 倍。既往研究表明^[9],血小板富集程度介于 2~6 倍之间的 PRP 对组织修复的促进作用最为显著,因此本装置所提取 PRP 可以达到临床治疗所需的有效浓度。

5 结语

装置的密封性是确保 PRP 提取过程无外源性污染的重要前提条件。本研究结果显示,20 mL 规格

的注射器型 PRP 提取装置抽取 20 mL 血液后,可承受 DT5-2 型低速台式离心机以最高离心力 4 000g 离心 10 min,未见形变和血液泄漏,提示其密封性良好。评价 PRP 品质的关键指标是 PRP 中血小板富集程度,其血小板浓度达到自体全血中血小板浓度的 3~5 倍,即视为合格品质的 PRP。本装置所制备的 PRP 中血小板富集程度为 5.5 倍左右,符合该关键指标要求。所提取的 PRP 血培养未见细菌生长,提示本产品在普通治疗室按标准操作流程操作即可确保制备 PRP 的无菌安全性,便于广大基层部队卫生队在普通诊室开展 PRP 技术对急慢性训练伤的治疗。未来将进一步观察不同离心参数对创伤应激状态患者提取 PRP 质量的影响。

[参考文献]

[1] GENTILE P, SCIOLI M G, BIELLI A, et al. Concise review: the use of adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet rich plasma in regenerative plastic surgery[J]. Stem Cells, 2017, 35(1): 117-134.
 [2] ISOHE K, WATANEBE T, KAWABATA H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor

plasma-derived fibrin (PPTF)[J]. Int J Implant Dent, 2017, 3(1):17.
 [3] MASUKI H, OKUDERA T, WATANEBE T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF) and concentrated growth factors (CGF)[J]. Int J Implant Dent, 2016, 2(1): 19.
 [4] EREN G, GÜRKAN A, ATMAMA H, et al. Effect of centrifugation time on growth factor and MMP release of an experimental platelet-rich fibrin-type product[J]. Platelets, 2016, 27(5):427-432.
 [5] 王书军,温从吉,李诗言. 不同装置制备的富血小板血浆中细胞及细胞因子成分的比较[J]. 中华关节外科杂志:电子版, 2016, 10(6):592-597.
 [6] 潘红娟,王雅丽,吕爽,等. 富血小板血浆制备方法稳定性的研究[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(6):1 008-1 010.
 [7] 宣力,田举,宣敏,等. 二次离心法制备富血小板血浆中血小板相关参数的分析[J]. 华南国防医学杂志, 2017, 31(8):514-517.
 [8] 卫愉轩,张昭远,范峥莹,等. 中国富血小板血浆临床制备方法的研究进展[J]. 中华关节外科杂志:电子版, 2020, 14(2):196-200.

(收稿:2021-01-07 修回:2021-05-24)

(◀◀上接第 73 页◀◀)

分值相同的情况下,依然能选出最优呼吸机,也反映了利用该数学模型甄选呼吸机的优势。此外,最终胜出的呼吸机价格优势指标值都不是最低分,而且价格优势指标权重处于 8 项指标权重中的中等水平,所以该数学模型可以计算出性价比相对较高的呼吸机。

5 结语

运用本文提出数学模型进行众多产品选择时,应首先进行聚类分析,筛选出优秀的一类呼吸机,以减少繁重的计算工作量,提高效率。在聚类分析中,呼吸机评价指标设定的主观性较强,引入信息熵可使评价指标设定更客观。因此基于聚类分析与信息熵的灰色关联分析法建立的数学模型所选出的最优呼吸机具有更高的可信度。此外,该数学模型也适用于其他产品的采购,并不局限于采购呼吸机。

这种通过数学模型得出最优产品的方法对指标权重设定虽然有一定的合理性,但也需要注意该数学模型还有进一步优化的可能,同时在指标选型和权重设定方面还有一定的局限性和主观性。在对待评产品分类和评价方法选择上有很多方法,每种方法都有自己的优缺点,需要针对具体的问题进行设计,尤其在

产品评价指标权重的设定问题上有待进一步的研究。

[参考文献]

[1] 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知[EB/OL]. (2020-03-05)[2021-02-05]. https://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/zl/szkb_11803/jszl_11815/202003/t20200305_214142.html.
 [2] 尤荣开,缪心军,陈玉熹. 常用急救仪器设备使用与维护[M]. 北京:人民军医出版社, 2013:234-251.
 [3] 祁建伟,严静. 医疗设备管理与技术规范[M]. 杭州:浙江大学出版社, 2018:126-130.
 [4] 李天庆,陈学斌,王华庆. 呼吸机运行可靠性现状分析及应对措施[J]. 医疗卫生装备, 2019, 40(3):73-77.
 [5] 刘宏程,张芳. 儿科呼吸机的选型与技术参数要求[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(9):801-802.
 [6] 曹荣桂,赵自林. 医学装备管理分册[M]. 北京:人民卫生出版社, 2011:53-54.
 [7] 江明尹,孙冬杰,李强,等. 基于灰色关联的呼吸机人因不良事件数据挖掘分析[J]. 医疗卫生装备, 2020, 41(9):66.
 [8] 李春葆,李石君,李筱驰. 数据仓库与数据挖掘实践[M]. 北京:电子工业出版社, 2014:270-292.

(收稿:2021-02-10 修回:2021-05-15)