خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۱ شماره ۴ زمستان ۹۳ (۲۸۵-۲۸۱)

مقاله پژوهشی

بررسی زمان تاخیری از جداسازی پلاسما تا انجماد بر فعالیت فاکتور VIII در پلاسمای تازه منجمد

آزاده امیدخدا[۱]، فاطمه نادعلی[۲]، پگاه بابادی‌وند[۳]، مریم سهل‌البیع[۴]، صدیقه امینی کافی‌آباد[۵]

چکیده

سابقه و هدف

پلاسما فرآورده‌ای مهم در جهت تولید فاکتورهای انعقادی کنسانتره به شمار می‌آید. فاکتور VIII یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ناپایدار موجود در پلاسما می‌باشد که فعالیت آن به عنوان شاخص کیفی این فرآورده مطرح می‌شود. از این رو مطلوب‌سازی کلیه مراحل تهیه پلاسما به منظور اجتناب از کاهش فاکتور VIII، امری ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه، تاثیر زمان تاخیری از جداسازی پلاسما تا انجماد بر روی فعالیت فاکتور VIII در پلاسمای تازه منجمد بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مقطعی ۳۰ واحد خون کامل در کیسه‌های اطفال جمع‌آوری و پلاسمای آن جدا گردید. پلاسمای جدا شده به سه قسمت مساوی تقسیم و یکی از ۳ کیسه پلاسما، پس از ۱ ساعت(گروه اول)، دیگری پس از ۲ ساعت(گروه دوم) و سومی بعد از ۶ ساعت(گروه سوم) منجمد شدند. سپس فعالیت فاکتور VIII به روش لخته بررسی شد. یافته‌ها توسط آزمون t زوج تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میانگین فعالیت فاکتور VIII در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب ۱/۷۸ ± ۰/۴ IU/mL ، ۱/۷۲ ± ۰/۴ IU/mL و ۱/۵۰ ± ۰/۳ IU/mL بود.

نتیجه گیری

برای تهیه پلاسمای تازه منجمد، بایستی پلاسمای جدا شده از خون کامل حداکثر در عرض ۲ ساعت منجمد گردد. اگر چه افزایش این زمان تا ۶ ساعت، فعالیت فاکتور VIII را کاهش داده و تفاوت معناداری در میزان این فاکتور نسبت به مواردی که زمان جداسازی به ۱ یا ۲ ساعت کاهش می‌یابد، دیده می‌شود اما فعالیت فاکتور VIII در فرآورده نهایی در حد قابل قبول می‌باشد.

کلمات کلیدی: پلاسمای تازه منجمد، زمان، فاکتور VIII، انجماد

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۳
تاریخ پذیرش: ۹۳/ ۳/۲۴

۱- PhD خون‌شناسی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران ـ تهران ـ ایران
۲- PhD خون‌شناسی و بانک خون ـ دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران ـ تهران ـ ایران
۳- کارشناس زیست‌شناسی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران ـ تهران ـ ایران
۴- کارشناس ارشد بیوشیمی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران ـ تهران ـ ایران
۵- مؤلف مسؤول: متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-30]

مقدمه

از آن‌جایی که پلاسما فرآورده ای مهم در جهت تولید فاکتورهای انعقادی کنسانتره به شمار می‌آید، مطلوب‌سازی کلیه مراحل تهیه آن به منظور اجتناب از کاهش فاکتور VIII، به عنوان شاخص کیفی این فرآورده ضروری می‌باشد(۲، ۱). از عوامل مؤثر بر میزان و فعالیت فاکتور VIII می‌توان به زمان بین اهدا تا انجماد پلاسما و مدت زمان لازم برای انجماد و سرعت انجماد اشاره کرد (۱۰-۳). بنابراین طولانی شدن زمان بین اهدا تا انجماد، زمان بین جداسازی پلاسما از خون کامل تا انجماد، کاهش دما در فرآیند انجماد و مدت زمان لازم برای انجماد می‌تواند تاثیر به‌سزایی در کاهش این فاکتور داشته باشد. اگر چه برخی از راهنماهای موجود در مورد چگونگی انجماد پلاسما، به جزییات انجماد از جمله مدت زمان جداسازی پلاسما تا انجماد نمی‌پردازند، اما طبق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی(WHO) ، نگهداری پلاسما قبل از انجماد در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲ تا ۴ ساعت، سبب کاهش معنادار فاکتور VIII نمی‌شود(۷). از طرفی به منظور معتبرسازی فرآیند انجماد پلاسما در کشور، نیاز به اطلاعاتی جامع و دقیق در مورد چگونگی فرآیند انجماد این فرآورده می‌باشد. از این رو در این مطالعه، تاثیر زمان تاخیری از جداسازی پلاسما تا انجماد بر فعالیت فاکتور VIII در پلاسمای تازه منجمد مورد بررسی قرار گرفت تا با مشخص شدن این زمان، معتبرسازی زمان بین جداسازی پلاسما تا انجماد در فرآیند انجماد پلاسما در کشور صورت گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه پلاسما:

مطالعه انجام شده از نوع مقطعی بود. برای انجام این مطالعه از کیسه اطفال کمپانی JMS (سنگاپور) و با شماره کاتالوگ ۱۲۰۵۰۵۰۰۸ استفاده گردید. این کیسه‌ها دارای ۴ کیسه می‌باشند. علت استفاده از این کیسه‌ها آن است که هر کیسه پلاسما به سه قسمت مساوی تقسیم می‌شود تا بتوان تغییرات میزان فعالیت فاکتور VIII را در زمان‌های مختلف از جداسازی پلاسما تا انجماد بر روی نمونه‌های یکسان مورد ارزیابی قرار داد. روش کار به این ترتیب بود که ۳۰ اهداکننده به طور تصادفی انتخاب شدند. خونگیری از این اهداکنندگان در کیسه‌های خون ویژه اطفال انجام گردید. از آن جایی که میزان این فاکتور به گروه خون وابسته می‌باشد، از گروه خونی A ، ۱۰ کیسه، از گروه خونی B ، ۱۰ کیسه و از گروه خونی O نیز ۱۰ کیسه مورد آزمون قرار گرفت. بلافاصله پس از خونگیری، هر کیسه سانتریفوژ و پلاسمای آن با استفاده از دستگاه جداکننده از کمپانی LMB technologist (آلمان) جدا و وارد اولین کیسه جانبی گردید. سپس این پلاسما وزن و به سه قسمت مساوی تقسیم شد. به طوری که ۱/۳ از حجم پلاسما در اولین کیسه جانبی نگه داشته شد و ۲/۳ مابقی به صورت مساوی به دومین و سومین کیسه جانبی منتقل گردید. سپس یکی از ۳ کیسه پلاسمای به دست آمده از روش فوق، پس از ۱ ساعت(گروه اول)، دیگری پس از ۲ ساعت(گروه دوم) و سومی بعد از ۶ ساعت(گروه سوم) در بلاست فریزر سینا ابتکار(ایران) منجمد شدند. از آن جایی که بایستی ضخامت و حجم کیسه‌ها که در یک دستگاه بارگذاری می‌شوند یکسان باشند، تمامی کیسه‌های این مطالعه در بلاست فریزری جداگانه از سایر واحدهای پلاسمایی قرار گرفته، در کمتر از یک ساعت دمای مرکز واحد پلاسما به ۳۰-۰ درجه سانتی‌گراد رسید. فرآیند انجماد مطابق دستورالعمل‌های سازمان انتقال خون صورت گرفت.

اندازه‌گیری فاکتور VIII :

اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII به روش لخته با استفاده از کیت دیاگنوستیکا استاگو(فرانسه) با شماره کاتالوگ ۱۱۱۴۲۰ انجام شد. اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII، یک ماه پس از تولید پلاسمای تازه منجمد صورت گرفت. به این منظور این فرآورده در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد ذوب و به محض ذوب شدن، کیسه از بن ماری خارج و در حمام ۴ درجه گذاشته شد. سپس از این کیسه حجم مورد نظر در لوله پلاستیکی ریخته شده و میزان فاکتور VIII به روش لخته از طریق دستگاه دیاگنوستیکا استاگو با مدل Start R (آمریکا) بررسی شد.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-30]

آنالیز آماری :

با آزمایش t زوج، میانگین فعالیت فاکتور VIII بین دو گروه از سه گروه بررسی گردید. p value کمتر از ۰/۰۵ معنادار محسوب شد.

یافته‌ها

میانگین فعالیت فاکتور VIII در گروه اول(انجماد پلاسما یک ساعت پس از جداسازی) IU/mL ۰/۴ ± ۱/۷۸، در گروه دوم(انجماد پلاسما دو ساعت پس از جداسازی) IU/mL ۰/۴ ± ۱/۷۲ و در گروه سوم(انجماد پلاسما ۶ ساعت پس از جداسازی) IU/mL ۰/۳ ± ۱/۵۰ بود(جدول ۱). هم چنین میانگین فعالیت فاکتور VIII در گروه خونی B بیشتر از دو گروه دیگر بود(جدول ۲).

جدول ۱: میانگین فعالیت فاکتور VIII و p value در سه گروه

گروه‌های مورد بررسی	میانگین فاکتور VIII (IU/mL)	p value
گروه اول	۱/۷۸ ± ۰/۴	۰/۰۷۵
گروه دوم	۱/۷۲ ± ۰/۴	
گروه اول	۱/۷۸ ± ۰/۴	۰/۰۰۰۱
گروه سوم	۱/۵۰ ± ۰/۳	
گروه دوم	۱/۷۲ ± ۰/۴	۰/۰۰۰۱
گروه سوم	۱/۵۰ ± ۰/۳	

جدول ۲: میانگین فعالیت فاکتور VIII در سه گروه با توجه به گروه خون

گروه‌های مورد بررسی		میانگین فاکتور VIII (IU/mL)
گروه اول	B	۲/۱۵ ± ۰/۳
	O	۱/۴۴ ± ۰/۲
	A	۱/۷۶ ± ۰/۲
گروه دوم	B	۲/۱۲ ± ۰/۴
	O	۱/۳۵ ± ۰/۲
	A	۱/۶۹ ± ۰/۲
گروه سوم	B	۱/۸۶ ± ۰/۳
	O	۱/۲۱ ± ۰/۲
	A	۱/۴۳ ± ۰/۲

آنالیز آماری نشان داد که بین فعالیت فاکتور فوق در کیسه‌های منجمد شده گروه اول و گروه دوم اختلاف معناداری وجود ندارد اما بین کیسه‌های منجمد شده گروه سوم با گروه اول و گروه دوم اختلاف معناداری وجود دارد(p value < ۰/۰۰۰۱)(جدول ۱).

بحث

از آن جایی که فعالیت فاکتور VIII به عنوان شاخص کیفی فرآورده‌های پلاسمایی مطرح می‌باشد، مطلوب‌سازی کلیه مراحل تهیه پلاسما به منظور اجتناب از کاهش فعالیت این فاکتور امری ضروری به نظر می‌رسد. پروسه انجماد، نقش بسیار مهمی در پایداری فاکتور VIII ایفا می‌کند. بر این اساس تعدادی از مقاله‌ها تاثیر سرعت انجماد (تند و کند) را بر کیفیت پلاسمای تولیدی مورد بررسی قرار دادند. بنابر نتایج الاین و همکارانش؛ انجماد کند(۲۰- درجه سانتی‌گراد) در نهایت سبب شکل‌گیری کرایو E می‌شود که دارای وزنی در حدود دو برابر کرایو گرفته شده با انجماد سریع است. پلاسمای حاوی کرایو سنگین‌تر، از فعالیت فاکتور VIII کمتری برخوردار می‌باشد. بر این اساس راهنمای اروپا پیشنهاد می‌کند که پلاسما در دمای ۳۰- یا کمتر منجمد می‌گردد(۱۰). کارلبجورگ و همکارانش نیز به بررسی زمان بین اهدا تا انجماد پلاسما پرداختند و نشان دادند که فعالیت فاکتور VIII در پلاسما، به مدت ۲ ساعت پایدار می‌باشد و از آن به بعد میزان این فاکتور کاهش می‌یابد(۱۱). در سال ۲۰۰۰، اسمیت و همکارانش به بررسی دما بر روی فاکتور VIII پرداختند و اعلام کردند که نگهداری خون برای ۸، ۱۵ و ۲۴ ساعت قبل از فریز کردن، سبب کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان فاکتور VIII می‌گردد(۱۲). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ توسط اسوارد نیلسون و همکارانش صورت گرفت، فاکتورهای مؤثر بر میزان فعالیت فاکتور VIII مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که زمان بین اهدا تا فریز شدن پلاسما، مدت زمان لازم برای فریز شدن و سرعت فریز شدن بر روی میزان و فعالیت فاکتور VIII مؤثر می‌باشند(۵). هم چنین آن‌ها نشان دادند که میزان فاکتور VIII ، با افزایش زمان تاخیری برای انجماد از ۲ به ۴

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-30]

ساعت، کاهش معناداری پیدا نمی‌کند اما با افزایش زمان به ۶ ساعت، این اختلاف معنادار می‌شود. کاهش فعالیت فاکتور VIII در مطالعه‌ای که خون‌های اهدایی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ تا ۲۴ ساعت نگهداری شدند نیز دیده شده است(۱۳). در گزارشی دیگر سرانو نشان داد که فعالیت فاکتورVIII و سایر فاکتورها با افزایش زمان نگهداری کاهش می‌یابد(۱۴).

نتایج این تحقیق نیز با نتایج به دست آمده از مطالعه‌های قبلی هم‌خوانی دارد و نشان می‌دهد که از نظر فعالیت فاکتور VIII بین کیسه‌های انجماد شده پس از ۱ ساعت و ۲ ساعت، اختلاف معناداری وجود ندارد اما بین کیسه‌های منجمد شده پس از ۶ ساعت با ۱ و ۲ ساعت، اختلاف معناداری وجود دارد. اما با این وجود میزان فاکتور VIII در هر سه کیسه از حد مجاز یعنی ۰/۷ IU/mL کمتر نمی‌شود و هر سه کیسه از فاکتور VIII قابل قبولی برخوردار می‌باشند. به عبارت دیگر اگر چه مدت زمان نگهداری پلاسما از زمان جدا شدن تا فریز بر میزان فاکتور VIII تاثیر دارد و با کاهش زمان تاخیری از جداسازی پلاسما تا انجماد پلاسما به ۲ ساعت می‌توان کیفیت پلاسماهای تولیدی را بهبود بخشید، اما این زمان تا ۶ ساعت نیز قابل افزایش می‌باشد. از محدودیت‌های این مطالعه نیز می‌توان به حجم کمتر پلاسما به دلیل تقسیم شدن در سه کیسه اشاره کرد که در انجماد سریع‌تر کیسه‌ها نقش دارد اما با توجه به این که این حجم کم در مورد هر سه کیسه برقرار است لذا هنگامی که سه کیسه مقایسه می‌شوند، تنها پارامتر متغیر هم‌چنان تفاوت زمان بین جداسازی و انجماد می باشد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه می‌توان پیشنهاد کرد که اگر چه برای تهیه پلاسمای تازه منجمد، پلاسمای جدا شده از خون کامل حداکثر در عرض ۲ ساعت منجمد می‌گردد اما افزایش این زمان تا ۶ ساعت، فعالیت فاکتور VIII را به عنوان شاخص کیفی این فرآورده در حد قابل قبول حفظ می‌کند.

References:

1- Farrugia A. Plasma for fractionation: safety and quality issues. Haemophilia 2004; 10(4): 334-40.
2- Carlebjörk G, Blombäck M, Pihlstedt P. Freezing of plasma and recovery of factor VIII. Transfusion 1986; 26(2): 159-62.
3- Myllylä G. Factors determining quality of plasma. Vox Sang 1998; 74 Suppl 2: 507-11.
4- Hellstern P, Bach J, Haubelt H, Hitzler WE, Mathis S, Vogt A. The impact of the intensity of serial automated plasmapheresis and the speed of deep-freezing on the quality of plasma .Transfusion 2001; 41(12): 1601-5.
5- Swärd-Nilsson AM, Persson PO, Johnson V, Lethagen S. Factor influencing factor VIII activity in frozen plasma. Vox Sang 2006; 90(1): 33-9.
6- Omidkhoda A, Tabatabaei MR, Atarodi K, Karimi K, Rahimi Froushani A, Pourfathollah AA. A comparative study of the effects of temperature, time and factor VIII assay type on factor VIII activity in cryoprecipitate in Iran. Blood Transfuse 2011; 9(4): 394-9.
7- WHO Expert Committee on biological standardization. World Health Organ Tech Rep Ser 2007; (941): 1-340.
8- Rock GA, Tittley P. The effect of temperature variations on cryoprecipitate. Transfusion 1979; 19(1): 86-9.
9- Carlebjörk G, Blombäck M, Åkerblom O. Improvement of plasma quality as raw material for factor VIII:C concentrates. Storage of whole blood and plasma and interindividual plasma levels of fibrinopeptide A. Vox Sang 1983; 45(3): 233-42.
10- What are the critical factors in the production and quality control of frozen plasma intended for direct transfusion or for fractionation to provide medically needed labile coagulation factors? Vox Sang 1983; 44(4): 246-59.
11- Carlebjörk G, Blombäck M, Akerblom O. Improvement of plasma quality as raw material for factor VIII: C concentrate. Storage of whole blood and plasma and inter individual plasma levels of fibrinopeptide A. Vox Sang 1983; 45(3): 233-42.
12- Smith JF, Ness PM, Moroff G, Luban NL. Retention of coagulation factors in plasma frozen after extended holding at 1-6 degrees C. Vox Sang 2000; 78(1): 28-30
13- Cardigan R, Lawrie AS, Mackie IJ, Williamson LM. The quality of fresh-frozen plasma produced from whole blood stored at 4 degrees C overnight. Transfusion 2005; 45(8): 1342-8.
14- Serrano K, Scammell K, Weiss S, Culibrk B, Levin E, Gyöngyössy-Issa M, *et al*. Plasma and cryoprecipitate manufactured from whole blood held overnight at room temperature meet quality standards. Transfusion 2010; 50(2): 344-53.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-30]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 11(4): 281-285

Original Article

The effect of the delayed interval between the separation of plasma and freezing on FVIII activity in FFP

Omidkhoda A.[1,2], Nadali F.[1,2,3], Babadivand P.[1,2], Sahlolbeii M.[1,2], Amini Kafi-Abad S.[1]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[2]Tehran Regional Educational Blood Transfusion Center, Tehran, Iran
[3]School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Plasma is an important product for the preparation of coagulation factor concentrates. FVIII is one of the labile coagulation factors in plasma and its activity is used as a quality marker of plasma; therefore, it is important to optimize plasma production in order to avoid a reduction of FVIII activity. In this study, the effect of the delayed interval from plasma production to freezing on factor VIII activity in FFP in Iran was evaluated.

Materials and Methods

Thirty whole blood units in pediatric bags were collected and their plasma aliquotes were separated. The plasma was then divided into three parts equally. The first, second, and third parts were frozen within 1 hour, 2 hours and 6 hours of separation, respectively. FVIII activity was then measured by the one-stage clotting assays.

Results

The average rates of factor VIII activity in the first, second, and third groups were 1.78 ± 0.4 IU/mL, 1.72 ± 0.4 IU/mL, and 1.5 ± 0.3 IU/mL, respectively

Conclusions

To provide fresh frozen plasma, it is necessary to freeze plasma within 2 hours after whole blood separation. Although any increase in this time to 6 hours is associated with the significant decline in factor VIII activity compared to 1 and 2 hours, it remains within the acceptable level.

Key words: Fresh Frozen Plasma, Time, Factor VIII, Freezing

Received: 14 Mar 2014
Accepted: 14 Jun 2014

Correspondence: Amini Kafi-Abad S, MD. Specialist in Pathology. Associate Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601558; Fax: (+9821) 88601542
E-mail: *s.amini@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-30]