

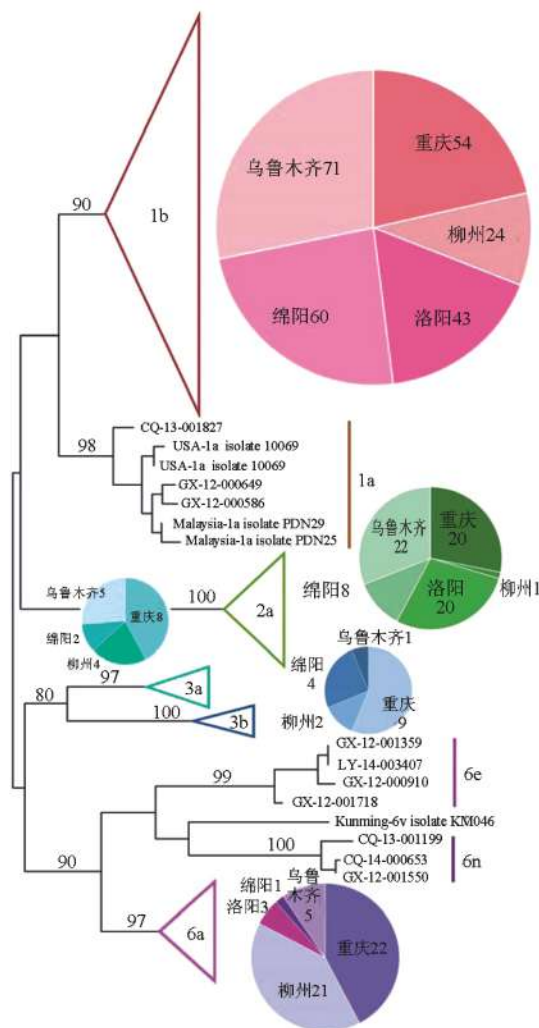


中国输血杂志®

ZHONGGUO SHUXUE ZAZHI

CHINESE JOURNAL OF BLOOD TRANSFUSION

2017年 第30卷 第5期



(See page 445)

ISSN 1004-549X



中国输血杂志编辑委员会



中国输血杂志

ZHONGGUO SHUXUE ZAZHI

月刊 1988年3月创刊 第30卷第5期 2017年5月25日出版

主管
国家卫生和计划生育委员会

主办
中国输血协会
中国医学科学院输血研究所

编辑
中国输血杂志编辑委员会

主编
刘忠

编辑部主任
蔡辉

出版
中国输血杂志编辑部
610052 成都市东三环路二段
龙潭总部经济城华彩路26号
电话:028-61648584
传真:028-83373857
网址:www.cjbt.cn
电子邮箱:cjbt@cjbt.cn

印刷
成都汇源文化发展有限公司

发行
国内:四川省报刊发行局
代号:62-186
国外:中国国际图书贸易总公司
代号:M7383

订阅
全国各地邮局
邮发代号 62-186

中国标准刊号
ISSN 1004-549X
CN 51-1394/R

广告经营许可证号
5100004000542

订价
16.00元/期 全年192.00元

版权归中国输血杂志编辑部所有

本刊刊载的所有文章不代表本刊编委会
及编辑部的观点,除非特别声明

目次

输血传染病专题

- 中国5个地区献血人群 HCV 基因型分布及进化分析
..... 张玉 高瞻 何苗等(443)
- 南京地区无偿献血人群 HBV 感染情况调查 ... 胡珀璐 鲍晶晶 何苗等(448)
- 绵阳地区无偿献血者中 HBsAg 真实流行情况调查:献血前快检以及献血后
筛查确证试验结果联合分析 黄梅 文秀琼 何苗等(451)
- 血浆 miR-122 在抗-HCV 阳性献血者中表达的动态分析
..... 王立林 杨宝成 李雪梅等(454)
- HEV 保护性抗体的制备与功能研究 许纪玲 何苗 杨永林等(459)
- 追踪分析化学发光在低风险人群 HCV 感染确证中的应用
..... 聂冬梅 曾劲峰 王立林等(463)
- 献血者 HEV 感染后 VP13 抗体的免疫应答研究
..... 蔡杰 何苗 杨永林等(466)
- 荧光定量检测梅毒筛查阳性献血者中生殖器溃疡病原体的研究
..... 高瞻 张玉 何苗等(470)

血站能力建设专题(下)

- 全国省市两级采供血机构临床血液供应情况的调查与分析
..... 周世航 梁晓华 范亚欣等(473)
- 全国省市两级采供血机构人力资源现状及趋势分析
..... 孟庆丽 董雯 梁晓华等(477)
- 全国省市两级采供血机构人员数量与采血量关系的调查与分析
..... 孟庆丽 高勇 梁晓华等(480)
- 全国省市两级采供血机构血液成分制备技术开展情况调查与分析
..... 潘凌子 孟庆丽 梁晓华等(482)
- 全国省市两级采供血机构信息化建设与管理的调查与思考
..... 王黎 孟庆丽 梁晓华等(486)
- 全国采供血机构非标量及凝块血液报废情况调查分析
..... 郑井滨 张丽 梁晓华等(488)
- 全国采供血机构加工制备环节血液报废情况分析
..... 郑井滨 张丽 梁晓华等(490)

基础医学与实验研究

- 弱 D72 血型的血清学特征及分子生物学分析
..... 姬艳丽 梁倩妮 骆宏等(493)
- 利用流式细胞仪检测两性霉素 B 依赖性抗体
..... 王嘉励 叶欣 夏文杰等(498)
- 外用人纤维蛋白粘合剂凝胶性能研究 蒋桂香 朱光祖 罗观文等(501)
- 羧甲基壳聚糖-血小板复合材料在兔耳动脉出血模型中止血作用的实验研究
..... 张卫 单桂秋 黎诚耀等(504)

临床研究

- 血浆输注治疗非甾体抗炎药相关性消化性溃疡并出血的临床转归回顾性研究
..... 黄雯 乐爱平 (508)

国产羟乙基淀粉用于 ANH 对老年全膝关节置换术患者肾功能的影响
 吴亚曹 爽 郭欣等(510)

组合应用输血相容性检测技术的研究
 张坤莲 黄旭颖 李剑平等(537)

调查研究

四川省 40 家综合医院临床用血情况调查与用血评估模式的初步探讨
 孔玉洁 尹湧华 刘忠等(513)

西宁市采供血发展现状分析及对策建议
 李向国 (517)

部队团体献血 ABO 血型初筛检测错误分析
 罗火桔 王凌峰 罗舒婷 (521)

合肥市无偿献血人群 HIV 筛查和确证结果及人口特征分析 高德玉 周学勇 管世鹤等(523)

核酸检测 HBV DNA 阳性献血者的追踪检测结果分析 来祝標 韩惠云 张国平 (525)

嘉兴市梅毒反应性献血者归队的可行性研究
 徐利强 李建华 王日春等(528)

深圳市宝安区适龄人群无偿献血认知情况及影响因素调查分析
 张健 郑欣 刘晋洪等(531)

经验与方法

悬浮红细胞在 22-25℃ 的活性变化
 陈会欣 王顺 (534)

个例报告

ABO 正反定型不合发现 IgM+IgG 抗-E 所致 HDN 产前漏诊 1 例
 周雪莹 曹昕瑞 徐敏等(539)

输血管理

PDCA 循环在机采血小板风险管理中的应用效果评价 庄彩梅 (541)

综述

血小板保存介质的研究进展
 乔鹏鑫 蓝紫涵 江千里等(545)

输血信息化

智慧输血信息管理系统在围术期血液管理中的应用探讨 孙波 葛东梅 刘姣等(548)

信息窗

2017 年本刊专题报道(465) 《临床输血进展》购书事宜(472) 《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》出版(485) 《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目(492) 《临床单病种输血》专著出版(516) 血型基因检测开放平台(530) 第一届两江输血医学论坛暨渝台输血医学学术交流会在重庆召开(550)

彩页索引

CompoMat 全自动血液成分分离机(费森尤斯卡比)	(封二)	中国输血杂志简介	(目次)
斯达必集血型仪(澳斯邦生物)	(首页)	一体化采血系统(达科为医疗)	(对文)
ORTHO 血型检测工作站(奥森多医疗)	(目次前)	Traceable 记录仪(赛默飞世尔)	(对文)
采供血设备(威高集团)	(目次前)	采供血设备(上海若骊生物)	(对文)
采供血设备(爱康生物)	(目次)	采供血设备(上海输血技术)	(对文)
采供血设备(美国血液技术)	(目次)	采供血设备(美国血液技术)	(封三)
谷丙转氨酶检测系统(艾康生物)	(目次)	凝聚胺试剂(贝索企业)	(封底)
中国科技核心期刊收录证书	(目次)		

本期责任编委(以姓名汉语拼音为序):安万新 蔡旭兵 陈会友 陈利民 陈强 陈勤奋 崔徐江 董伟群 樊晶
 范道旺 冯觉平 傅强 傅雪梅 高东英 郭永建 韩威 黄成垠 纪宏文
 江咏梅 乐爱平 李碧娟 李剑平 李聚林 李平 李维 李长清 李忠俊
 练正秋 梁晓华 林东军 刘嘉馨 刘铁梅 刘衍春 栾建凤 罗广平 骆群
 吕蓉 马峰 马廉 苗天红 聂咏梅 彭涛 钱宝华 秦莉 饶绍琴
 任芙蓉 邵超鹏 宋宁 苏毅 孙俊 孙启凤 汪传喜 汪德清 汪新民
 王保龙 王乃红 王迅 魏晴 魏亚明 吴涛 夏荣 向东 项红兵
 谢毓滨 邢颜超 许金波 阎石 杨江存 叶世辉 叶欣 尹文 于新发
 于洋 岳文 张贺秋 张曦 张循善 张燕 章金剛 章旭 赵国庆
 赵树铭 郑优荣 周虹 周华友 周俊 周小玉 周学勇(特邀) 周英
 朱培元 朱自严 邹汉武 邹嵘嵘

本期责任编辑:李弘武 本期责任校对:李宜蔓 英文审校:KA YI LI(李嘉怡)(美国)

协作出版单位(排名不分先后):北京市红十字血液中心 上海市血液中心 广州血液中心 福建省血液中心
 北京军区总医院 天津市血液中心 大连市血液中心 黑龙江省血液中心 山东省血液中心 青岛市中心血站
 浙江省血液中心 厦门市中心血站 南京红十字血液中心 江苏省血液中心 安徽省血液中心 江西省血液中心
 河南省红十字血液中心 长沙血液中心 广西血液中心 重庆市血液中心 成都市血液中心 陕西省血液中心
 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所

CHINESE JOURNAL OF BLOOD TRANSFUSION

Monthly Established in March 1988 Volume 30, Number 5 May 25, 2017

Responsible Institution

National Health and Family Planning
Commission of the People's Republic of China

Sponsor

Chinese Society of Blood
Transfusion & Institute
of Blood Transfusion,
Chinese Academy of
Medical Sciences

Editing

Editorial Board of
Chinese Journal of
Blood Transfusion

Editor-in-Chief

LIU Zhong

Managing Director

CAI Hui

Publishing & Mail-Order

Editorial Office of
Chinese Journal of
Blood Transfusion
P.O.Box 268, Chengdu 610052, China
Tel&Fax: 86-28-83373857
Website: www.cjbt.cn
Email: cjbt@cjbt.cn
Overseas Distributor:
China International Book Trading
Corporation
P.O.Box 399, Beijing, China
Code No.M7383

CSSN

ISSN 1004-549X
CN 51-1394/R

Copyright© by the Editorial Office of Chinese Journal of Blood Transfusion

All articles published represent the opinions of the
authors, do not reflect the official policy of the
publisher, unless this is clearly specified

CONTENTS

- The genotype distribution and phylogenetic analysis of HCV among blood donors in five regions of China**
..... ZHANG Yu, GAO Zhan, HE Miao, et al(443)
- Investigation of HBV infection among eligible volunteer blood donors in Nanjing City** HU Bolu, BAO Jingjing, HE Miao, et al(448)
- Hepatitis B Virus prevalence in Chinese blood donors: HBsAg reactive rates from pre-donation rapid test and post-donation screening test**
..... HUANG Mei, WEN Xiuqiong, HE Miao, et al(451)
- Dynamic monitoring of expression of miR-122 in anti-HCV positive blood donors** WANG Lilin, YANG Baocheng, LI Xuemei, et al(454)
- Preparation and function study of HEV protective antibody**
..... XU Jiling, HE Miao, YANG Yonglin, et al(459)
- Estimation of application value of CMIA in validation of anti-HCV positive blood donors by tracing analysis**
..... NIE Dongmei, ZENG Jinfeng, WANG Lilin, et al(463)
- Study on the antibody immune responses against HEV VP13 in blood donors** CAI Jie, HE Miao, YANG Yonglin, et al(466)
- Real-time PCR detection of genital ulcer disease (GUD) pathogens in syphilis positive blood donors**
..... GAO Zhan, ZHANG Yu, HE Miao, et al(470)
- Survey and analysis of clinical blood supply in blood collection services on provincial and city level in China**
..... ZHOU Shihan, LIANG Xiaohua, FAN Yaxin, et al(473)
- Status and trend analysis of human resources in blood collection services at provincial and city level in China**
..... MENG Qingli, DONG Wen, LIANG Xiaohua, et al(477)
- Relationship between the number of employees and the amount of blood collection in blood collection services on provincial and city levels in China** MENG Qingli, GAO Yong, LIANG Xiaohua, et al(480)
- Investigation and analysis of blood component preparation in provincial and municipal blood banks**
..... PAN Lingzi, MENG Qingli, LIANG Xiaohua, et al(482)
- Investigation and reflection on the informatization construction and management in blood collection services at provincial and municipal levels** WANG Li, MENG Qingli, LIANG Xiaohua, et al(486)

Investigation and analysis of the original whole blood discards in blood collection services in China	ZHENG Jingbin, ZHANG Li, LIANG Xiaohua, et al(488)
Analysis on blood discards during the process of blood component preparation in blood collection and supply agencies in China	ZHENG Jingbin, ZHANG Li, LIANG Xiaohua, et al(490)
The serological characteristic and genetic background of weak D type 72	JI Yanli, LIANG Qianni, LUO Hong(493)
Detection of Amphotericin-B-dependent antibodies by flow cytometry	WANG Jiali, YE Xin, XIA Wenjie, et al(498)
Research on gelation ability of fibrin sealant	JIANG Guixiang, ZHU Guangzu, LUO Guanwen, et al(501)
Hemostatic effects of absorbable carboxymethyl chitosan composite biomaterials associated with platelet rich plasma on the artery wound in rabbits	ZHANG Wei, SHAN Guiqiu, LI Chengyao, et al(504)
A retrospective study on the clinical outcomes of plasma infusion in patients with nonsteroid anti-inflammatory drugs induced peptic ulcer bleeding	HUANG Wen, LE Aiping(508)
Impact of acute normovolemic hemodilution with domestic hydroxyethyl starch on renal function in elderly patients with total knee arthroplasty	WU Ya, CAO Shuang, GUO Xin, et al(510)
Research on clinical blood transfusion and preliminary discussion of evaluation model of clinical blood use in forty general hospitals in Sichuan province	KONG Yujie, YIN Yonghua, LIU Zhong, et al(513)
Analysis and countermeasure suggestions on the development of current blood collection and supply in Xining City	LI Xiangguo(517)
Analysis of errors in ABO blood type screening of army blood donation groups	LUO Huoju, WANG Lingfeng, LUO Shuting(521)
Analysis on the results of screening and confirmation for anti-HIV-1/2 or HIV nucleic acid test and population characteristics in Hefei	GAO Deyu, ZHOU Xueyong, GUAN Shihe, et al(523)
Analysis of the results on tracking assay of the blood donors with positive HBV DNA in nucleic acid test	LAI Zubing, HAN Huiyun, ZHANG Guoping(525)
The feasibility study of reentry for blood Syphilis reaction donors in Jiaying	Xu Liqiang, Li Jianhua, Wang Richun, et al(528)
Investigation and analysis of influencing factors on cognition of blood donation in right-age population in Baoan District, Shenzhen.	ZHANG Jian, ZHENG Xin, LIU Jinhong, et al(531)
The active ingredients change of the suspended red blood cells at 22-25°C	CHEN Huixin, WANG Shun(534)
Study on the combination of compatibility testing method	ZHANG Kunlian, HUANG Xuying, LI Jianping, et al(537)
Hemolytic disease of the newborn due to IgG/IgM anti-E: A case Report by the Discrepancies of Forward and Reverse ABO Typing	ZHOU Xueying, CAO Xinrui, XU Min, et al(539)
Evaluation of effects of route PDCA on the risk management in apheresis platelet	ZHUANG Caimei(541)
Recent advances in platelet storage media	QIAO Pengxin, LAN Zihan, CHEN Qiufan, et al(545)
Application of smart blood transfusion information system in perioperative blood management	SUN Bo, GE Dongmei, LIU Jiao, et al(548)

中国输血杂志®

CHINESE JOURNAL OF BLOOD TRANSFUSION

第七届编辑委员会成员名单

Members of the 7th Editorial Board

顾问 Consultants

朱庆生 ZHU Qingsheng 高光明 GAO Guangming 倪道明 NI Daoming 严力行 YAN Lixing 李芳 LI Fang
杨成民 YANG Chengmin 田兆嵩 TIAN Zhaosong 吴国光 WU Guoguang 江朝富 JIANG Chaofu 刘文芳 LIU Wenfang
兰炯采 LAN Jiongcai 林武存 LIN Wucun 单藕琦 SHAN Ouqi 孙绍忠 SUN Shaozhong

名誉主编 Honor Editor-in-Chief

郑忠伟 ZHENG Zhongwei 王憬惺 WANG Jingxing

主编 Editor-in-Chief

刘忠 LIU Zhong

副主编 Associate Editor-in-Chief (以下按姓名汉语拼音排序)

安万新 AN Wanxin 蔡旭兵 CAI Xubing 戴苏娜 DAI Suna 傅雪梅 FU Xuemei 付涌水 FU Yongshui
郭永建 GUO Yongjian 何涛 HE Tao 胡伟 HU Wei 李剑平 LI Jianping 刘江 LIU Jiang
刘景汉 LIU Jinghan 马峰 MA Feng 逢淑涛 PANG Shutao 裴雪涛 PEI Xuetao 秦敬民 QIN Jingmin
宋秀宇 SONG Xiuyu 孙常翔 SUN Changxiang 孙俊 SUN Jun 汪德清 WANG Deqing 王双林 WANG Shuanglin
王兆福 WANG Zhaofu 王震 WANG Zhen 许建荣 XU Jianrong 杨文玲 YANG Wenling 叶世辉 YE Shihui
赵国庆 ZHAO Guoqing 周俊 ZHOU Jun 朱永明 ZHU Yongming

编委 Members of Editorial Board

中国 (China)

白连军 BAI Lianjun 陈长荣 CHEN Changrong 陈会友 CHEN Huiyou 陈嘉林 CHEN Jialin 陈强 CHEN Qiang
陈勤奋 CHEN Qinfen 陈青 CHEN Qing 崔徐江 CUI Xujiang 戴宇东 DAI Yudong 邓志辉 DENG Zhihui
董伟群 DONG Weiqun 窦桂芳 DOU Guifang 樊晶 FAN Jing 范道旺 FAN Daowang 冯觉平 FENG Jueping
冯晓燕 FENG Xiaoyan 傅强 FU Qiang 甘茂周 GAN Maozhou 高东英 GAO Dongying 高明 GAO Ming
葛红卫 GE Hongwei 宫锋 GONG Feng 宫济武 GONG Jiwu 高东英 GAO Dongying 桂嵘 GUI Rong
韩威 HAN Wei 韩颖 HAN Ying 何军 HE Jun 侯继锋 HOU Jifeng 胡丽华 HU Lihua
黄成根 HUANG Chengyin 纪宏文 JI Hongwen 贾永前 JIA Yongqian 江咏梅 JIANG Yongmei 蒋天伦 JIANG Tianlun
蒋学兵 JIANG Xuebing 焦淑贤 JIAO Shuxian 靳艳华 JIN Yanhua 孔长虹 KONG Changhong 赖福才 LAI Fucui
乐爱平 LE Aiping 黎诚耀 LI Chengyao 李碧娟 LI Bijuan 李长清 LI Changqing 李翠莹 LI Cuiying
李建斌 LI Jianbin 李金明 LI Jinming 李聚林 LI Julin 李平 LI Ping 李维 LI Wei
李勇 LI Yong 李志强 LI Zhiqiang 李忠俊 LI Zhongjun 练正秋 LIAN Zhengqiu 梁晓华 LIANG Xiaohua
廖辉 LIAO Hui 林东军 LIN Dongjun 刘风华 LIU Fenghua 刘嘉馨 LIU Jiaxin 刘进 LIU Jin
刘素芳 LIU Sufang 刘铁梅 LIU Tiemei 刘衍春 LIU Yanchun 陆志刚 LU Zhigang 栾建凤 LUAN Jianfeng
罗广平 LUO Guangping 骆群 LUO Qun 吕榕 LV Rong 马刚 MA Lian 马曙轩 MA Shuxuan
毛伟 MAO Wei 孟庆宝 MENG Qingbao 孟忠华 MENG Zhonghua 苗天红 MIAO Tianhong 穆士杰 MU Shijie
聂咏梅 NIE Yongmei 欧阳锡林 OUYANG Xilin 彭涛 PENG Tao 戚海 QI Hai 钱宝华 QIAN Baohua
钱开诚 QIAN Kaicheng 秦莉 QIN Li 邱艳 QIU Yan 饶绍琴 RAO Shaoqin 任芙蓉 REN Furong
戎霞 RONG Xia 单桂秋 SHAN Guiqiu 邵超鹏 SHAO Chaopeng 沈行峰 SHEN Xingfeng 宋宁 SONG Ning
苏毅 SU Yi 孙玉英 SUN Yuying 唐长玖 TANG Changjiu 田亚平 TIAN Yaping 汪传喜 WANG Chuaxi
汪新民 WANG Xinmin 王保龙 WANG Baolong 王海平 WANG Haiping 王洪波 WANG Hongbo 王鸿捷 WANG Hongjie
王乃红 WANG Naihong 王全立 WANG Quanli 王同显 WANG Tongxian 王学锋 WANG Xuefeng 王文迅 WANG Wenxun
王燕宁 WANG Yanming 王毅 WANG Yi 魏晴 WEI Qing 魏亚明 WEI Yaming 文爱清 WEN Aiqing
文军 WEN Jun 吴谨 WU Jin 吴涛 WU Tao 奚永志 XI Yongzhi 夏荣 XIA Rong
向东 XIANG Dong 项红兵 XIANG Hongbing 肖南 XIAO Nan 肖小璞 XIAO Xiaopu 谢亦武(香港) Vincent Xi-Wu XIE
谢毓滨 XIE Yubin 邢颜超 XING Yanchao 徐华 XU Hua 徐卫平 XU Weiping 许金波 XU Jinbo
阎石 YAN Shi 杨宝成 YANG Baocheng 杨江存 YANG Jiangcun 徐卫平 XU Weiping 叶明亮 YE Mingliang
叶欣 YE Xin 尹建平 YIN Jianping 尹文 YIN Wen 于群 YU Qun 于笑难 YU Xiaonan
于新发 YU Xinfu 于洋 YU Yang 岳文 YUE Wen 詹林盛 ZHAN Linsheng 张贺秋 ZHANG Heqiu
张兰 ZHANG Lan 张曦 ZHANG Xi 张循善 ZHANG Xunshan 张燕 ZHANG Yan 张印则 ZHANG Yinze
张哲 ZHANG Zhe 章金钢 ZHANG Jingang 章旭 ZHANG Xu 曾劲峰 ZENG Jinfeng 赵树铭 ZHAO Shuming
郑山根 ZHENG Shanggen 郑优荣 ZHENG Yourong 周虹 ZHOU Hong 周华友 ZHOU Huayou 周吉成 ZHOU Jicheng
周小玉 ZHOU Xiaoyu 周英 ZHOU Ying 朱发明 ZHU Faming 朱明 ZHU Ming 周培元 ZHU Peiyuan
朱易萍 ZHU Yiping 朱永宝 ZHU Yongbao 朱自严 ZHU Ziyang 庄辉 ZHUANG Hui 朱培元 ZHU Peiyuan
邹峥嵘 ZOU Zhengrong 尹建平 YIN Jianping 尹文 YIN Wen 于群 YU Qun 于笑难 YU Xiaonan
外籍 (International)

陈利民 Limin Chen(Canada) Hua Shan(USA) Tongmao Zhao(USA) Yanyun Wu(USA) Yanhua Li(USA)

本期关注

血液管理的实质,是要确保输血这种特殊、现今仍无可替代的临床治疗手段(方式)得到适当的供血(量)、能够安全使用并具有合理的疗效。目前输血最主要的方式,异体(不同个体间的)输血——一(数)名个体(健康献血者)捐献的血液,经过相关病原体物质(传染因子)筛查合格后,输注给血型相合的另一名个体(受血者/患者)——决定了血液管理事业/输血行业“社会公益-高成本”的二重属性,而当下输血所正面临的难题、瓶颈,如伴随医疗机构及其水平能力迅猛扩增而来的临床用血需求量的膨胀、新发输血病原体的出现及其所带来的对新的血液筛查/检测技术手段的亟需,以及人们更多耳闻的季节性、区域性的临床用血紧缺[血站(献)采-供血不足与其构成了“缺血”这枚硬币的两面],无不源于这种二重属性的内在矛盾和张力,而且随着社会人口结构的变化,特别是老龄化社会的加快到来,献(供)血量将越来越难以有效提升,而用血需求量能否得到“适当”满足也将会成为一个大大的“?”。

在血液/输血事业这种发展态(定)势中,血站居于“中心”环节、处在“焦点”位置(或言这也是一种“中国特色”)。如何缓解和松弛上述矛盾和张力,加强血站能力建设,如血站人财物力的投入、软硬件设施的配置,献血者终身服务,包括献血者权益的维护与保障,临床供血(品种)的多样性与对临床合理、节约用血的技术支持等,是上期与本期“血站能力建设专题”试写的答案,美中不足的是该专题未涉及“血液安全”——血液管理的三个最重要的“关口”之一,其最主要的“关卡”由血站把持。好在本期推出的“输血传染病专题”可谓与之是“弥补”或相得益彰之作!《中国5个地区献血人群HCV基因型分布及进化分析》一文的作者,收集了来自国内5个不同血站的802(人)份抗-HCV阳性标本,通过对其HCV core基因片段的扩增与测序,以及大量的实验统计学分析,弄清了5地献血人群HCV基因型和亚型分布与进化情况:在一些地方原本没有或罕见的HCV基因型出现或增加,如靠近南部沿海的广西柳州与地处内陆的重庆,HCV-2a已为6b所取代。

这意味着无论是从HCV防控宣传措施,还是对丙肝或(和)HCV感染者的对症治疗,都须在卫生行政主管部门的重新部署与协调下尽快作出调整!

其实献血者本是HCV感染的低流行人群,目前献血者筛查中主要采用的间接法第3代抗-HCV酶免检测方法虽然特异性>95%,但在低微人群中检出的假阳性率最高超过6成,在血源紧缺频现、献血人群比例提升愈难的背景下,如此“被阳性”无论对献血者本人,还是血站都是绝不可接受的。“输血传染病专题”中的《血浆miR-122在抗-HCV阳性献血者中表达的动态分析》的作者基于此,以miR-122——肝脏特异性miRNA——为检测指标,动态分析了其在酶免法检测为抗-HCV阳性的献血者血浆中的表达水平,得出了miR-122的表达确与血浆中的HCV RNA(有无和多寡)“密切关联”的结论,值得跟进研究和探讨。

血站开展血液安全研究工作既具有“天然”的优势(如具有大量的献血者标本和临床送检的特殊或疑难标本),又可获得“宏观”的意义(如其所建立的“方法”、“手段”往往同时荫及献血者和受血患者)。本期“基础医学与实验研究”中《弱D72血型的血清学特征及分子生物学分析》、《利用流式细胞仪检测两性霉素B依赖抗体》便是很好的注脚。前者在揭示弱D抗原具有完整表位的同时,提出了最终确证该类个体是否会产生抗-D的研究设想和方向;后者则在日常对临床送检标本的检查过程中,摸索建立了流式细胞术检测检测药物依赖性血小板抗体的标准方法。

固然,从世界到中国、从血站到医院、从献血者到受血者,血液安全性的空前提升已惠顾了无数个人与家庭,乃至全社会和整个国家,但许多与输血相关的疾病(病原体引起或各种原因诱致血液免疫触发的输血传染病或输血反应)发生的机理、机制尚不明了,甚或未引起我国输血管理者与输血工作者的足够关注与重视。因而血液安全同血液适当的供应、血液输注的有效一样“始终在路上”,也永远是血液管理的重中之重!

中国 5 个地区献血人群 HCV 基因型分布及进化分析*

张玉^{1,2} 高瞻^{1,2} 杨亚闪^{1,2} 何苗^{1,2△} (1.中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所,四川 成都, 610052; 2. 四川血液安全和血液代用品国际科技合作基地)

摘要:目的 了解国内不同地区献血人群中 HCV 基因型、亚型分布及系统发育情况以及不同地区人群中 HCV 流行病毒株。**方法** 收集来自重庆、新疆乌鲁木齐、河南洛阳、四川绵阳和广西柳州 5 地无偿献血人群的抗-HCV 阳性血浆标本 802(人)份,采用逆转录巢式 PCR 对其 HCV core 基因片段扩增并测序;应用 MEGA 6.0 软件构建 HCV 分子进化树并对其进行基因分型,用 Arlequin 和 DNAsp 软件对不同地区不同 HCV 基因型做群体动力学研究。采用 SPSS Statistics 17.0 软件来分析 HCV 基因亚型和人口统计学特征的相关性。**结果** 5 个地区献血者抗-HCV 阳性血浆标本获得 HCV core 基因片段成功扩增的比例为 52.24% (419/892),其中重庆为 47.37% (116/247)、乌鲁木齐为 54.17% (104/192)、绵阳为 64.35% (74/115)、洛阳为 38.95% (67/172)、柳州为 76.32% (58/76);所有阳性 PCR 产物经双向测序后均获得核苷酸序列,共检测出 8 个 HCV 基因亚型:HCV-1a 0.72% (3/419)、1b 59.90% (251/419)、2a 16.95% (71/419)、3a 4.53% (19/419)、3b 3.82% (16/419)、6a 12.41% (52/419)、6e 0.95% (4/419)、6n 0.72% (3/419),未检测到 HCV-4 和 5 型。5 地献血人群中比例较高的 2 种 HCV 基因亚型:重庆为 1b 46.55% (54/116)、6a 18.97% (22/52),乌鲁木齐为 1b 67.62% (71/104)、2a 21.90% (22/104)、洛阳为 1b 64.18% (43/67)、2a 29.85% (20/67),绵阳为 1b 80.00% (60/75)、2a 10.67% (8/75),柳州为 1b 41.38% (24/58)、6a 36.21% (21/58)。HCV 基因亚型和年龄、民族之间有明显的差异($P < 0.05$)。**结论** 本组我国 5 个地区献血人群 HCV 基因亚型丰度较高,以 1b 为主,2a 次之,其余呈散在分布或未检出;不同地区人群的优势基因型均以 1b 比例为最高,其次分别是 2a 或 6a。HCV 基因亚型和年龄、民族存在相关性。

关键词:丙型肝炎病毒;HCV 基因;基因亚型;系统发育;群体遗传;献血者;重庆;乌鲁木齐;洛阳;绵阳;柳州

中图分类号:R446.1 R512.6⁺3 Q503 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0443-06

The genotype distribution and phylogenetic analysis of HCV among blood donors in five regions of China ZHANG Yu^{1,2}, GAO Zhan^{1,2}, YANG Yashan^{1,2}, HE Miao^{1,2}. 1.Institute of Blood Transfusion, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Chengdu, Sichuan, 610052, China; 2.Sichuan Blood Safety and Blood substitute International Science and Technology Cooperation Base. Corresponding author: HE Miao

Abstract: Objective To investigate HCV genotype and subtype distribution and phylogenetic analysis in different regions of China, and HCV strain among population from different regions. **Methods** A total of 802 plasma sample, positive to anti-HCV, from Chongqing, Xinjiang Urumqi City, Luoyang, Henan Province, Mianyang, Sichuan Province and Liuzhou, Guangxi blood donors are collected, and then HCV Core gene fragment is amplified using reverse transcription nested PCR and sequenced; To build HCV molecular evolutionary tree using MEGA 6.0, and determine its genotype and subtype; To perform the group dynamics research of HCV genotypes in different regions using Arlequin and DNAsp; To analyze the relationship between HCV genotype and demographics using SPSS 17.0. **Results** The percentage of being successfully amplified HCV Core gene fragment from Anti-HCV positive plasma sample of donors from five regions was 52.24% (419/892); Chongqing 47.37% (116/247), Urumqi 54.17% (104/192), Mianyang 64.35% (74/115), Luoyang 38.95% (67/172) and Liuzhou 76.32% (58/76); All positive PCR products were Bidirectional sequenced, and then nucleotide sequences were acquired. There are eight HCV subtypes: HCV-1a 0.72% (3/419), 1b 59.90% (251/419), 2a 16.95% (71/419), 3a 4.53% (19/419), 3b 3.82% (16/419), 6a 12.41% (52/419), 6e 0.95% (4/419) and 6n 0.72% (3/419), and HCV-4 and 5 were undetected. The top two HCV subtypes among blood donors of five regions: 1b 46.55% (54/116) and 6a 18.97% (22/52) in Chongqing; 1b 67.62% (71/104) and 2a 21.90% (22/104) in Urumqi; 1b 64.18% (43/67) and 2a 29.85% (20/67) in Luoyang; 1b 80.00% (60/75) and 2a 10.67% (8/75) in Mianyang; 1b 41.38% (24/58) and 6a 36.21% (21/58) in Liuzhou. There is significant difference between HCV subtype and age and ethnicity ($P < 0.05$) **Conclu-**

sion China has an abundance of HCV subtypes among blood donors with mainly 1b and then 2a, and the others are diffusively distributed or undetected; The dominant genotype in population of different regions is 1b and then 2a or 6a. There was a significant correlation between HCV genotype and age and ethnicity.

Key words: Hepatitis C virus; HCV sequence; Subtype; Phylogeny; Population genetics; Blood donors; Chongqing; Urumqi; Luoyang; Mianyang; Liuzhou

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是引起丙型肝炎(简称丙肝)的病原体,属于黄病毒科的肝炎病毒属;像其他正链 RNA 病毒一样, HCV 基因组编码 1 个长度大约 3 000 个氨基酸左右的多聚蛋白,其顺序为 5'-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-3',侧链为分别由 341 和 27 个碱基组成的 5'和 3'非翻译区构成^[1-2]。HCV 基因组具有高度的基因异质性,序列多样性可高达 30%^[3]。按照 HCV 基因序列的不同,其可分为 7 种不同的基因型和 90 多种亚型^[4-5];其中 6 型具有最高的基因多样性,已有 24 种亚型(6a-6xa)被分类^[6-7]。HCV 基因型分布与地理和人口统计学特征有关联,可能与其来源、传播途径及人群的遗传背景有关^[8]。由于人口流动性增加以及传播方式的多样化, HCV 基因型分布也在逐渐发生改变^[9];亚型共感染和基因重组的情况在某些地区已频繁出现^[10-11]。HCV 曾一度严重威胁到了我国的输血安全^[12-13],故在我国输血(献血者与受血者)必检的传染病指标。尽管目前 HCV 在献血人群中的流行率已有了明显下降,但我国不同 HCV 基因型和亚型的总体分布情况目前仍不清楚。通过了解不同地区人群 HCV 基因亚型的分布可获得 HCV 传播途径信息,进而制定有针对性的预防措施;另外,鉴于丙肝的临床治疗效果和 HCV 基因型密切相关,因此了解 HCV 基因型和亚型分布,对 HCV 感染者的治疗、评估预后以及疫苗研发等都具有指导意义。为此,我们对国内 5 个地区献血人群中 HCV 检测不合格的血浆标本作了 Core 片段的基因扩增,以及核酸序列测定和基因分型,以了解中国各地区人群 HCV 基因型分布和群体遗传情况,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 802(人)份抗-HCV 确证实验阳性的血浆标本来自 2012-2014 年重庆市血液中心、乌鲁木齐血液中心、洛阳市中心血站、绵阳红十字中心血站和广西血液中心(柳州)(EDTA 抗凝, -20℃ 保存),通过冷链运输至本所,于 2015 年 9 月开始本实验。

1.2 主要试剂和仪器 HCV 总 RNA 提取试剂盒(QIAamp viral mini Kit,批号 148052914,德国 QIAGEN);逆转录试剂盒(Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit,批号 15448420,德国 Roche);PCR 预混液(批号#TSE001,成都擎科生物技术有限公司);DEPC 水(批号 C420BA0011,上海生工生物工程有限公司);琼脂糖(批号 0000232575,美国 Invitrogen)。PCR 仪(ABI Applied Biosystems,批号 4375786,美国 Thermo Fisher);凝胶成像系统(Image Quant 300,美国 GE Healthcare)。

1.3 引物设计试验 所需的 4 条引物内、外轮扩增引物参照文献[14]方法设计(表 1),最终 HCV core 基因扩增产物长度为 401 bp。

表 1 扩增 HCV Core 基因引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	位置	作用
Core-1	AGGCCTGTGGTACTGCCTGATA	276-298	上游外引物
Core-2	GTATGTACCCCATGAGGTCCGGC	736-757	下游外引物
Core-3	CGGGAGGTCTCGTAGACCCGT	317-336	上游内引物
Core-4	AGGGTATCGATGACCTTACCCA	698-718	下游内引物

1.4 HCV RNA 提取 取抗-HCV 阳性的血浆 140 μL/份,应用 HCV 总 RNA 提取试剂盒(膜吸附法)提取 HCV RNA,严格按照试剂盒说明书操作。

1.5 逆转录巢式 PCR 扩增(RT nested-PCR) 用逆转录试剂盒做逆转录试验,严格按照试剂盒说明书操作。HCV Core 基因扩增条件:2 次均用 50 μL 反应体系,第 1 次为 94℃ 5 min, 94℃ 30s、52℃ 30s、72℃ 40s, 35 个循环, 72℃ 10 min;第 2 次除 30 个循环外,其余反应条件同第 1 次;每次试验均设有阴性对照,以 DNAaseRNAase-free H₂O 作为模板,检测是否有核酸污染。

1.6 琼脂糖凝胶电泳 巢式 PCR 产物用 20g/L 的琼脂糖做凝胶电泳,恒定电压 110 V,时间 25 min,应用全自动凝胶成像系统分析。

1.7 核苷酸序列测定 PCR 产物委托擎科生物技术有限公司成都分公司(Qingkebiological technology co. LTD, Chengdu Office)做纯化和序列双向测定。

1.8 分子进化分析和基因分型 将所有序列采用 MEGA 6.0 软件^[15]核对测序结果及序列拼接,将拼接好的 HCV 序列与 HCV 基因型标准序列(Genbank 号)(做比对图 1);选择 Mega 6.0 软件的 Kimura 两参数方法(应用其中的 Neighbor-joining 法)将所测定的 Core 基因序列和从 GeneBank 数据库中选定的 Core 区域代表性 HCV 型/亚型基因一起构建基因进化树,根据进化树以及已知的参照序列鉴定所测定序列的基因型和亚型。

1.9 群体遗传分析 采用 DNAsp v5.0^[16]计算不同 HBV 亚型的单体型数量(haplotype)、核苷酸多态性(nucleotide diversity)和平均两两碱基数量差异(the mean number of pairwise differences)。为了验证各地区不同 HCV 基因亚型在近期的扩张情况,采用软件 Arlequin v3.0 (CMGP, University of Berne)检测不同基因亚型的 Tajima's D 和 Fu's Fs 值,如果计算出的值为负值,则认为该群体在近期内经历了扩张^[17-18]。

1.10 统计学分析 采用 Spss Statistics17.0 统计软件处理数据,计数数据比较采用卡方检验,做 HCV 基因亚型和人口统计学特征(年龄、性别、民族、职业、教育水平、婚姻状态)相关性计算, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 地献血人群抗-HCV 阳性标本目的条带扩增 802(人)份抗-HCV 阳性标本中,成功扩增 419 例,扩增率 52.24%[重庆 47.37%(116/247)、洛阳 38.95%(67/172)、绵阳 64.35%(74/115)、柳州 76.32%(58/76)、乌鲁木齐

54.17% (104/192)], 其中男性献血者 241 人、女性献血者 178 人, 年龄 19-56(38.5±10.7) 岁。

2.2 5 地献血人群抗-HCV 阳性标本 *HCV Core* 基因的逆转录巢式 PCR 扩增 各取 5 μL PCR 产物和 DNA 分子标准 D2000 同时于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, *Core* 基因在 401 bp 位置获得清晰单一的阳性条带, 阴性对照则无阳性条带(图 1); 所有阳性 PCR 产物做序列测定且获得测序结果(图 2)。

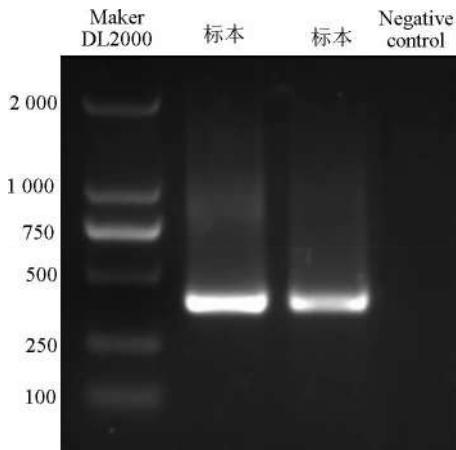


图 1 *HCV Core* 基因 PCR 阳性条带与阴性对照电泳

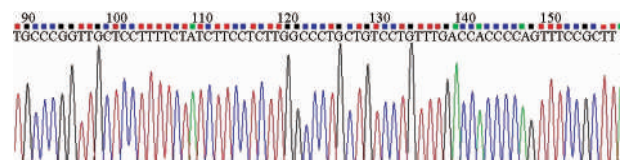


图 2 *HCV Core* 基因 PCR 产物测序

2.3 5 地献血人群 *HCV* 基因亚型及其人口统计学特征 见表 2。

表 2 重庆、乌鲁木齐、洛阳、绵阳及柳州献血者中带 *HCV* 基因者的人口结构学特征和基因亚型相关性 (%)

	<i>HCV-1b</i> (n=251)	<i>HCV-2a</i> (n=71)	<i>HCV-3a</i> (n=19)	<i>HCV-3b</i> (n=16)	<i>HCV-6a</i> (n=52)	
性别	男/女	150/101	40/31	10/9	10/6	26/26
年龄(岁)*	≤20	3(75)	0(0)	0(0)	0(0)	1(25)
	21-	85(63)	30(23)	7(5)	3(5)	9(7)
	31-	33(48)	3(4)	7(10)	6(9)	20(29)
	41-50	99(64)	25(16)	4(3)	6(4)	20(29)
	>50	31(65)	13(27)	1(2)	1(2)	2(4)
民族*	汉族	226(63)	65(18)	15(4)	13(4)	38(11)
	回族	2(50)	1(25)	0(0)	1(25)	0(0)
	维吾尔族	13(68)	3(16)	3(16)	0(0)	0(0)
	壮族	2(12)	0(0)	1(6)	1(6)	13(76)
教育水平	高中以上	69(59)	25(22)	7(6)	2(2)	13(11)
	初中及高中	149(63)	36(15)	9(4)	14(6)	27(12)
	小学及以下	3(30)	3(30)	0(0)	0(0)	4(40)
职业	学生	33(67)	10(21)	2(4)	0(0)	4(8)
	商人	35(66)	8(15)	2(4)	2(4)	6(11)
	工人	21(47)	11(25)	2(5)	2(5)	8(18)
	农民	51(70)	10(14)	2(3)	1(1)	9(12)
	自由职业者	56(56)	20(20)	6(6)	6(6)	12(12)

* 采用精确检验 χ^2 值分别为 45.85、52.52, $P < 0.05$

2.4 5 地献血人群 *HCV* 基因分子进化分析和基因分型 本组 5 地 419 例献血者 *HCV* 基因型主要为 1b 型, 其次为 2a 型, 另有 6a、3a、3b、6e、6n 及 1a 依次呈散在分布; 优势 *HCV* 基因型, 绵阳、乌鲁木齐和洛阳献血人群为 1b 和 2a, 重庆和

柳州献血者则为 1b 和 6a(图 3)。

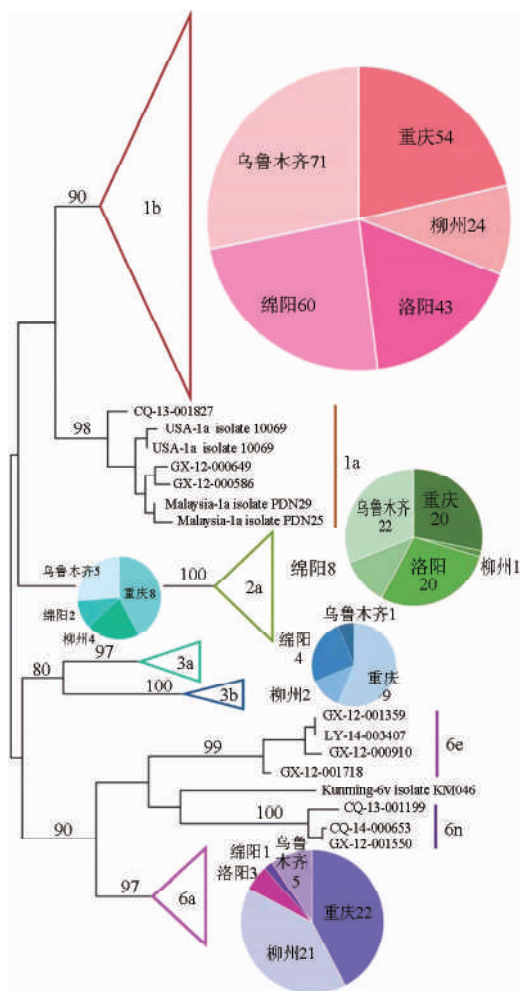


图 3 重庆、乌鲁木齐、洛阳、绵阳及柳州献血人群中 *HCV Core* 基因序列构建的进化树

2.5 5 地献血人群 *HCV* 基因型及其亚型的群体遗传学分析 本组 *HCV* 基因型中的 1b 和 6a 亚型的 *HCV* 病毒群体呈明显扩张(表 3)。

表 3 重庆、乌鲁木齐、洛阳、绵阳及柳州献血人群 *HCV* 基因不同亚型群体的扩张特征

	n	单体型数量 (Hap)	Tajima'sD	P	Fu'sFs	P
<i>HCV-1b</i>	251	178	-1.480 31	<0.005	-24.060 17	<0.01
<i>HCV-2a</i>	71	55	-0.830 21	>0.05	-24.200 50	<0.01
3a	19	17	-0.672 18	>0.05	-5.380 85	<0.05
3b	16	15	-1.271 93	>0.05	-6.204 25	<0.05
6a	52	44	-1.807 12	<0.01	-25.443 73	<0.01

注: $P < 0.05$ 代表群体有明显扩张; $P < 0.01$ 代表群体有非常明显的扩张

3 讨论

常用的 *HCV* 基因分型方法包括核苷酸序列测定法、型特异性引物扩增法、限制性片段长度多态性分型法(RFLP)、型特异性探针杂交法和基因芯片等, 其中核苷酸序列测定法为 *HCV* 基因分型的金标准^[19]。 *HCV* 基因组的多个不同区域已被用来做基因分型, 尽管 *HCV-5'* 端非翻译区由于其高度保守性常被用于临床实验室的常规基因分型, 但其局限性是不

能很好地将 *HCV*-1、6 基因型以及 1-4 和 6 基因型中的一些亚型区分^[7,20]。现在最常用的 3 个区分 *HCV* 基因型的测序区有 *Core*、*E1* 和 *NS5B* 片段,其精确性和灵敏度都较高,且不同区域的测序分型结果略有差异^[7,21]。在本实验中,我们取 *HCV* 基因组的 *Core* 区域——其为高度变异区,存在许多有意义的位点——做扩增和基因分型,很好地区分了基因亚型。本次研究共 802 人(份)血浆,成功扩增分型的有 419 例,其他标本未能扩增分型的原因考虑为:1)病毒载量较低;2)原确证试验存在假阳性结果;3)由于保存时间较长和冻融的问题,导致不能成功扩增。所有的可能原因考虑进去后,我们得到 52% 的扩增分型率,可用于进一步的进化分析。

丙肝感染者的 *HCV* 准确分型与其临床治疗效果密切相关。研究显示 *HCV*-2、3 型的应答率较高,可取得 70%–80% 持续病毒学应答(sustained virological response, SVR),而 1、4 型仅可取得 40%–50% SVR^[22–25]。我们前期的研究得出慢性 *HCV* 感染者的病毒载量和 *HCV* 基因型密切相关的结果,如 *HCV*-1*b* 和 6*a* 型感染者的病毒载量高于 2*a*、3*a* 和 3*b* 型感染者^[26]。欧洲肝病协会也曾建议 *HCV*-6*a* 型感染者需采取和 1*b* 型一样的治疗方案^[27]。本研究不但了解了国内部分地区献血人群中 *HCV* 基因型、亚型分布,而且可预测相应 *HCV* 感染者的临床应答,并凭藉基因型结果为患者的临床治疗方案,如 *HCV*-1 和 6 型患者应用高剂量的干扰素提供依据。

HCV-1-3 型在全球范围内广泛流行;在我国主要流行的 *HCV* 基因型包括 1*b*、2*a*、3*a*、3*b* 和 6*a*,其中 1*b* 和 2*a* 又是最主要的 2 种基因型,尤其在我国的北部和西部地区人群中较常见^[14,28];6 型主要见于港澳地区,近期在广东沿海一些地区,6*a* 也已取代 2*a* 成为当地第 2 流行的 *HCV* 病毒株^[6,14,29]。本组中重庆和广西柳州地区献血人群的 *HCV*-6*a* 型同样是仅次于 1*b* 型的优势基因型(图 1),而较早报道的重庆和广西献血人群中 2 种主要 *HCV* 基因型分别为 3*a*、2*a* 和 1*b*、1*a* 以及 3*a* 和 2*a*^[30–31]。我们分析造成这种改变的原因可能是:1) *HCV*-6*a* 于上世纪 60 年代从越南传入我国广西造成流行;2) 先前 2 项研究的 *HCV* 成功分型的标本量较少(仅分别为 22/34 和 41/355 例);3) 先前 2 项研究的时间分别是 20 和 10 年前,此后各地人口的流动性越来越大、*HCV* 传播方式的多样性也越来越强。实际上我们以前的 1 项回顾性研究便显示了广西地区临床慢性丙肝患者中前 2 位的 *HCV* 基因亚型即是 1*b* 和 6*a* 型^[26]。本次实验还分别检出 3 例 *HCV*-6*n*(重庆 2 例、柳州 1 例)和 4 例 6*e*(柳州 3 例、洛阳 1 例),这 2 种基因亚型原本较少见,而以往重庆、广西献血人群中亦鲜见^[30–31]。这可能与同样与人口的流动性、吸毒人群复杂的关系以及 *HCV* 的交叉感染等有关^[32]。未来新的 *HCV* 基因型病毒可能在献血人群中的扩散值得重视和高度警惕。

关于 *HCV* 基因(亚)型和人口统计学特征的关系,以往大多数的国内研究认为 *HCV* 基因型与感染者的性别和年龄不具相关性^[33–34]。我们本次研究的结果也显示各 *HCV* 基因型在男女性别之间的分布相同,但在不同年龄感染者之间却有一定差异($P < 0.05$):在 21–30 岁和 41 岁及以上的年龄组中,*HCV*-1*b* 和 2*a* 亚型较常见,而在 31–40 岁的人中 1*b* 和 6*a* 更多(表 3)。由于我们未调查献血人群的 *HCV* 传播途径,

根据以往的相关报道推测或与吸毒途径感染 *HCV* 较多相关,因而引起年轻人 *HCV*-3、6 型感染的比例增加^[19];而对 21–30 岁的人(占献血人群最大比例)来说,其本来应当属低危人群,可能是抽样偏差造成了 *HCV* 基因型的分布差异。在汉族献血人群中,*HCV*-1*b* 和 2*a* 为主要的基因亚型(占本组 4 个民族中的 93% 和 94%),而 6*a* 型更常见于壮族,造成这一现象可能的原因是不同民族生活习惯不尽相同,*HCV* 的感染途径也不尽相同^[35]。除此之外,*HCV* 基因型和感染者职业、婚姻状态和教育水平均无明显的相关性。虽然本次研究涉及的标本量较大,结果具有一定代表性,但是 *HCV* 基因型和某些统计学特征关系的确切机制亟待进一步研究。

我们所作的群体遗传学计算结果显示,*HCV*-6*a* 基因亚型呈明显扩张的趋势,1*b*、3*a* 和 3*b* 也都有不同程度扩张(表 3)。有研究发现,*HCV*-3 和 6 型比例较之前有所上升^[36–38],说明这 2 种亚型的 *HCV* 感染人群同样处在扩张阶段。据报道,在静脉吸毒人群中,*HCV*-6 和 3 型较常见,其人群感染率高于普通丙肝患者,且在某些地区发现有一半以上的静脉吸毒者感染了 *HCV*-6 型病毒株^[39]。随着人口流动性增加和 *HCV* 传播途径的改变,一些地区和一些人群的 *HCV* 基因型分布正在经历一些变化^[11];我们的实验证实了献血人群中 *HCV*-3、6 型感染正在处于扩张阶段。因此,一方面要做好 *HCV* 防护的宣传工作,防止正在扩张的 *HCV* 群体感染更多的人;另一方面,建议已经被检测出 *HCV* 感染的献血者早去医院做对症治疗。目前我国主要的丙肝或 *HCV* 感染治疗是聚乙二醇干扰素和利巴韦林的标准疗法,但是 *HCV* 基因型是指导治疗周期、评估疗效和预后的 1 个重要的因素^[40–41]。该疗法对一般为 *HCV*-2、3 基因型的丙肝患者和 *HCV* 感染者治疗效果较好,而 *HCV*-1 基因型为难治型,患者或感染者获得的持续病毒效应较低^[40];但是最近国内原研的 4 个效果较好的直接抗病毒药物已申请上市,因而不久的将来国内初治、*HCV*-1 基因型的患者有望达到持续病毒效应 >90%^[42]。对于 *HCV*-6 基因型的丙肝患者,我们先前的研究显示,1*b* 和 6*a* 型病毒载量均高于其他亚型^[26],因此推荐用和 1*b* 型相同的治疗方法,但是其在真实世界中的效果仍需要进一步证实。鉴于在献血人群中某些 *HCV* 基因型出现了扩张,而目前尚无相应的 *HCV* 疫苗,因而形势已然严峻,故希望我们的研究能为国家卫生行政主管部门实时制定和调整公共卫生政策,如为感染了不同 *HCV* 基因型的患者提供相应的抗病毒治疗措施提供依据。

本研究为丙肝患者或 *HCV* 感染者的临床治疗及预测、预后也提供了一定的指导依据,同时给予研制和开发针对不同地区、不同 *HCV* 基因(亚)型的 *HCV* 以一定的启示。最重要的是揭示了国内不同地区献血人群 *HCV* 基因型分布发展变化,并发现了广西(柳州)和重庆的献血人群中新的 *HCV* 基因型增加,使得 *HCV* 感染的防控与治疗更加严峻和复杂。当然,上述研究也存在不足之处:1)未对 *HCV* 基因组的 *E1* 或 *NS5B* 片段做相应的扩增分型,下一步我们拟对这 2 个片段做相应的分型,一方面补充这 5 个地区献血人群中 *HCV* 基因型和亚型的分布的相应数据,另一方面也可以从中发现一些 *HCV* 重组和混合感染的可能,为进一步的基础研究作铺

垫;2) 未将首次和重复献血者进行区分, 进而没有对 2 个群体 HCV 基因型分布进行比较, 下一步拟对献血人群的献血次数做区分, 期望发现重要意义的研究结果, 且作为未来进一步研究的重点和方向。

参 考 文 献

- [1] Moradpour D, Penin F, Rice C. Replication of hepatitis C virus. *Nat Rev Microbiol*, 2007, 5(6): 453-463.
- [2] Reed KE, Rice CM. Overview of hepatitis C virus genome structure, polyprotein processing, and protein properties. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2000, 242(1): 55-84.
- [3] Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol*, 1993, 74 (Pt 11): 2391-2399.
- [4] Ye Y, Yan YS, Chen G, et al. Molecular epidemiology of hepatitis C virus among different groups of people in the province of Fujian, China. *Arch Virol*, 2013, 158(3): 611-618.
- [5] Gu L, Tong W, Yuan M, et al. An increased diversity of HCV isolates were characterized among 393 patients with liver disease in China representing six genotypes, 12 subtypes, and two novel genotype 6 variants. *J Clin Virol*, 2013, 57(4): 311-317.
- [6] 肖桂娥, 魏绍静, 张复春, 等. 广州地区丙型肝炎患者 HCV 基因分型研究. *热带医学杂志*, 2014(05): 589-594+598.
- [7] Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 2005, 42(4): 962-973.
- [8] Nakano T, Lu L, Liu P, et al. Viral gene sequences reveal the variable history of hepatitis C virus infection among countries. *J Infect Dis*, 2004, 190(6): 1098-1108.
- [9] 熊陶, 胡爱荣, 蒋素文, 等. 浙江省东部地区丙型肝炎病毒基因分型的研究. *中华医院感染学杂志*, 2015(22): 5139-5141.
- [10] Lei C, Kou J. HCV genotype investigation among former blood donors in dingxi, Gansu. *Journal of Clinical Hepatology*, 2013, 32(5): 377-379.
- [11] 黄辉红, 周元平, 杨洁, 等. 联合分析 HCV 种属信息区和高度保守区序列确定广东地区 HCV 基因型和亚型. *广东医学*, 2010, 31(7): 825-828.
- [12] 杨冬明, 叶双林. 职业献血员 HCV 感染血清流行病学分析. *江苏预防医学*, 1995(4): 19-20.
- [13] 韩辉明, 安建红. 孝感地区 2000~2006 年无偿献血者血液筛查五项指标结果分析. *公共卫生与预防医学*, 2009, 20(1): 90-91.
- [14] Lu L, Nakano T, He Y et al. Hepatitis C virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants. *J Med Virol*, 2005, 75(4): 538-549.
- [15] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [16] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [17] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 1989, 123(3): 585-595.
- [18] Fu YX, Li WH. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 1993, 133(3): 693-709.
- [19] 唐维. 广西地区丙型肝炎病毒的基因分型及其临床意义[D]. 广西医科大学, 2014.
- [20] Murphy DG, Willems B, Deschenes M, et al. Use of sequence analysis of the NS5B region for routine genotyping of hepatitis C virus with reference to C/E1 and 5' untranslated region sequences. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(4): 1102-1112.
- [21] Bukh J, Miller R H, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis*, 1995, 15(1): 41-63.
- [22] Zhao S, Liu E, Yu H, et al. Comparison of peginterferon and interferon in treating Chinese patients with chronic hepatitis C. *Hepato-gastroenterology*, 2008, 55(84): 1047-1054.
- [23] 毕蔓茹, 康岚, 张坤, 等. 不同基因型 HCV 临床意义及干扰素治疗效果探讨. *中国医学前沿杂志*, 2015, 7(6): 76-79.
- [24] Omata M, Kanda T, Yu ML. et al. APASL consensus statements and management algorithms for hepatitis C virus infection. *Hepatol Int*, 2012, 6(2): 409-435.
- [25] Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, et al. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the study of liver diseases. *Hepatology*, 2011, 54(4): 1433-1444.
- [26] Zhang Y, Chen LM, He M. Hepatitis C Virus in mainland China with an emphasis on genotype and subtype distribution. *Virol J*, 2017, 14(1): 41.
- [27] EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*, 2014, 60(2): 392-420.
- [28] Ding X, Gu H, Zhong ZH, et al. Molecular epidemiology of hepatitis viruses and genotypic distribution of hepatitis B and C viruses in Harbin, China. *Jpn J Infect Dis*, 2003, 56(1): 19-22.
- [29] Fu Y, Wang Y, Xia W, et al. New trends of HCV infection in China revealed by genetic analysis of viral sequences determined from first-time volunteer blood donors. *J Viral Hepat*, 2011, 18(1): 42-52.
- [30] 葛宪民, 王树声. 广西吸毒者, 肝病患者及献血员丙型肝炎病毒血清学基因型和基因型的分子生物学研究. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1996, 10(4): 312-317.
- [31] 赵树铭, 李兵, 胡建, 等. 重庆地区无偿献血人群丙型肝炎病毒流行病学调查. *重庆医学*, 2006, 35(11): 964-966, 968.
- [32] 王佳佳, 唐筛娣, 丁伟良, 等. 不同感染途径丙型肝炎患者 HCV 基因分型. *中国公共卫生*, 2013(06): 809-811.
- [33] Peng J, Lu Y, Liu W, et al. Genotype distribution and molecular epidemiology of hepatitis c virus in Hubei, central China. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137059.
- [34] Song S, Gui W, Li X. HCV genotype analysis among 169 HCV injectors in Wuhan. *Pract J Clin Med*, 2015, 19(1): 36-38.
- [35] 陈兆云. 新疆 652 例汉、维、哈族 HCV 感染者病毒基因型研究 [D]. 新疆医科大学, 2015.
- [36] 肖桂娥, 魏绍静, 张复春, 等. 广州地区丙型肝炎患者 HCV 基因分型研究. *热带医学杂志*, 2014, 14(5): 589-594, 598.
- [37] 李威, 曾艳丽, 刘俊平, 等. 河南地区慢性丙型肝炎患者丙型

肝炎病毒基因型分布研究. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015 (6): 538-539.

[38] 周召刚, 曾藤, 徐华, 等. 重庆地区丙型肝炎病毒基因型分布及临床意义. 重庆医科大学学报, 2015, 40(3): 383-387.

[39] Fu Y, Qin W, Cao H, et al. HCV 6a prevalence in Guangdong province had the origin from Vietnam and recent dissemination to other regions of China: phylogeographic analyses. PLoS One, 2012, 7(1): e28006.

[40] Dua A, Desai SS, Kumar N, et al. Epidemiology and treatment strategies of iliac vein thrombophlebitis. Vascular, 2015, 23(6):

599-601.

[41] Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med, 2002, 347(13): 975-982.

[42] Abstracts of the 26th Annual Conference of APASL, February 15-19, 2017, Shanghai, China. Hepatol Int, 2017, 11(Suppl 1): 1-1093.

(2017-03-04 收稿, 05-21 修回)

本文编辑: 蔡辉

• 论著 •

南京地区无偿献血人群 HBV 感染情况调查

胡珀璐^{1,2} 鲍晶晶² 印澄² 石洁² 何苗^{1△}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所, 四川 成都 610052 ; 2. 南京红十字血液中心)

摘要:目的 了解南京地区无偿献血者 HBV 感染人群分布情况, 分析 HBV 在不同性别、年龄、城乡差异等方面的感染情况。**方法** 选取南京红十字血液中心 2015 年 01 月-2016 年 01 月期间金标乙肝试纸快检合格后的无偿献血者的血液标本 66 742 份, 分别行 ELISA 和 NAT 筛查实验, 对无偿献血者进行年龄、性别、教育程度、民族、婚姻状况、区域、献血情况与 HBV 筛查阳性结果分析。**结果** 本研究 66 742 例无偿献血者中, HBV 筛查总阳性 225 例 (0.34%), ELISA 阳性 180 例 (0.27%), NAT 阳性 45 例 (0.07%); 无偿献血者 HBV 阳性率与年龄段、性别、教育程度和婚姻状况无关 ($P>0.05$); 而不同地区无偿献血者在 HBV 阳性检出率, 城市明显高于农村 ($\chi^2=4.496, P<0.05$); 汉族与其他民族相比, 无偿献血者 HBV 阳性率较高, 且差别有统计学意义 ($\chi^2=4.523, P<0.05$)。**结论** 南京地区无偿献血者 HBV 阳性率仍有一定比例, 使用 NAT 方法可以大大缩短“窗口期”, 显著降低因 ELISA 漏检而导致的输血后乙肝病毒感染发生率, 需大力普及 ELISA+NAT 的应用, 进一步降低输血过程中乙肝病毒的传播风险。

关键词: 南京地区; 乙肝病毒; 无偿献血人群; 酶联免疫吸附; 核酸技术

中图分类号: R512.6⁺2 R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0448-04

Investigation of HBV infection among eligible volunteer blood donors in Nanjing City HU Bolu, BAO Jingjing, YIN Chen, SHI Jie, HE Miao. 1. Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences Peking Union Medical College, Chengdu 610052, China; 2. Red Cross Blood Center of Nanjing. Corresponding author: HE Miao.

Abstract: Objective To understand the distribution and demographic characteristics of HBV (hepatitis B virus) infection among blood donors in Nanjing City. **Methods** Rapid testing, ELISA and the nucleic acid technology (NAT) screening were used to detect HBV infection among 66 742 blood samples collected from Nanjing Red Cross blood center from January 2015 to January 2016. Analysis was conducted on age, gender, education, nationality, marital status, region, blood donation and positive results of HBV screening. **Results** In this study, among 66 742 cases of volunteer blood donors, a total of 225 cases (0.34%) were HBV screening positive, 180 (0.27%) were ELISA positive, 45 (0.07%) were NAT positive. There were no effects of age, gender, education and marital status on the incidence of HBV infection ($P>0.05$). The infection rate in urban donors was statistically higher than those in rural donors ($\chi^2=4.496, P<0.05$) and also Han donors also had higher HBV infection risk than donors of other ethnic groups ($\chi^2=4.523, P<0.05$). **Conclusion** The positive rate of blood donors in Nanjing HBV still occupies a certain proportion. The use of NAT method can greatly shorten the window period. It can significantly decrease the rates of failure of ELISA detection on post transfusion hepatitis B virus infection and also popularize ELISA+ NAT application, in order to further reduce the transmissible risk of hepatitis B virus.

Key words: Nanjing city; Hepatitis B virus; blood donors; ELISA; nucleic acid technology

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.002

△通信作者: 何苗 (1981.10-), 男, 副研究员, 硕士生研究生导师, 主要从事输血安全领域研究, 电话: 028-61648552, Email: mesal022@126.com

乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus) 是引起我国国民慢性肝炎和肝硬化的主要病原体, 有调查显示我国普通人群的

乙型肝炎病毒流行率约为 7.2%^[1]。乙型肝炎病毒可以通过血液传播^[2],因此是国内外输血安全领域最为关注的焦点之一。为保证输血安全,降低因输血而导致 HBV 感染,必须从血液采集源头开始。南京红十字血液中心作为南京地区主要的采供血机构,严格执行国家相关法规,自 2012 年采用两遍 ELISA+一遍 NAT 对献血者乙型肝炎病毒进行筛查,提高了临床用血安全。因此本研究通过利用本地区无偿献血人群 HBV 常规筛查数据,获得了本地区献血人群最新 HBV 感染的情况,以及进一步了解将 NAT 用于血液初筛的意义,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 01 月-2016 年 01 月期间南京红十字血液中心无偿献血的 66 742 份血液标本作为研究对象(重复献血者仅统计一次)(表 1,2)。

表 1 南京地区 2015-2016 年无偿献血者 HBV 感染情况

献血人数	总阳性(%)	ELISA		NAT	
		阳性(%)	阳性(%)	阳性(%)	阳性(%)
66 742	225(0.34)	179(0.27)	46(0.07)		

表 2 南京地区 2015-2016 年献血员人口统计学特征

分组	献血人数	HBV 总阳性人数	HBV 不合格人数比例(%)
年龄(岁)			
≤30	26 814	91	40.2
31-40	19 446	63	29.1
41-50	15 428	55	23.1
>50	5 054	16	7.6
性别			
男	34 710	117	52.0
女	32 032	108	48.0
教育程度			
基础教育	8 034	26	12.0
中等职业技术教育	23 184	80	34.7
普通高等教育	35 416	119	53.1
其他	108	0	0.16
民族			
汉族	63 111	220	94.6
其他民族	3 631	5	5.4
婚姻状况			
单身	36 009	124	54.0
已婚	30 733	101	46.0
数据缺失	156	0	0
区域			
城市	45 361	181	68.0
农村	21 381	44	32.0
献血情况			
初次献血	20 303	162	72.0
重复献血	46 439	63	28.0

1.2 试剂 ELISA 检测试剂 乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂盒(酶联免疫法)上海科华生物工程股份有限公司和英科新创(厦门)科技有限公司产品。NAT 检测试剂 乙型肝炎病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光法)上海科华生物工程股份有限公司。以上试剂均为中国药品生物鉴定所检合格产品,且在有效期内使用。

1.3 检测方法 采用 2 种国产试剂 ELISA 检测试剂对无偿献血者的血液标本做 HBsAg 检测,对 2 种试剂均无反应性的标本及其中 1 种试剂有反应性的标本进行 NAT 检测(HBV-DNA),采用科华 8 混样检测,系统检出的阳性 pool 继续做拆分实验。拆分实验阳性的标本判为 NAT 呈反应性,阴性则

判定为 NAT 无反应性。

1.4 质量控制 按照本实验室该项目的质量控制要求,QC 检测结果应在控,试剂盒内阳性、阴性对照检测结果符合预期要求,提示本次实验有效。若不在控或阳性、阴性对照检测结果不符合预期要求,提示本次实验无效,应分析原因并重新检测。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件包对研究数据进行数据处理,采用 χ^2 对分类资料进行检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 无偿献血者年龄段与 HBV 筛查阳性结果分析 经分析,我站 30 岁以下无偿献血者中 HBV 阳性检出 91 例,年龄在 31-40 岁者检出 63 例,年龄在 41-50 岁者检出 55 例,年龄在 50 岁以上者检出 16 例。无偿献血者不同年龄阶段在 HBV 阳性检出率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 3)。

2.2 无偿献血者性别与 HBV 筛查阳性结果分析 66 742 名献血者中,男 34 710 名,其中阳性 117 名,阳性率 0.33%,女 32 032 名,阳性 109 名,阳性率 0.24%。无偿献血者男女之间 HBV 阳性检出率无统计学差异($P > 0.05$,表 3)。

2.3 无偿献血者教育程度与 HBV 筛查阳性结果分析 我们根据无偿献血者的受教育程度,分为基础教育、中等职业技术教育、普通高等教育和其它 4 组,阳性率分别为 0.33%,0.33%,0.34%和 0。因为其他组献血人数仅有 108 且 HBV 阳性率为 0,对统计分析意义不大,故前 3 组进行卡方检验,提示 3 组之间阳性率无统计学差异($P > 0.05$,表 3)。

2.4 无偿献血者民族与 HBV 筛查阳性结果分析 本组 66 742 例献血者中,汉族占绝大部分,且 HBV 阳性率 0.34%;来自本地区其他民族共 3 631 例,HBV 阳性者 5 例,阳性率 0.14%。汉族与其他民族相比,无偿献血者 HBV 阳性率明显较高,且差别有统计学意义($\chi^2 = 4.523, P < 0.05$,表 3)。

2.5 无偿献血者婚姻状态与 HBV 筛查阳性结果分析 本研究中单身献血者数量高于已婚献血者,这与南京地区高校较多有关,但两者的 HBV 检查率未见明显差异($P > 0.05$,表 3)。

2.6 无偿献血者不同区域与 HBV 筛查阳性结果分析 本组 66 742 例献血者中,阳性 225 例,阳性率 0.26%;其中来自城市者 38 425 例,HBV 阳性 170 例,阳性率 0.35%;来自农村者 28 317 例,HBV 阳性者 55 例,阳性率 0.14%。不同区域无偿献血者 HBV 阳性比较,差异具有统计学意义($\chi^2 = 16.149, P < 0.05$,表 3)。

2.7 无偿献血者献血情况与 HBV 筛查阳性结果分析 本组 66 742 例献血者中,初次献血人数为 20 303,HBV 阳性 162 例,阳性率 0.80%;重复献血人数为 46 439,HBV 阳性 63 例,阳性率 0.14%,差异具有统计学意义($\chi^2 = 184.404, P < 0.05$,表 3)。

表 3 不同因素无偿献血者 HBV 阳性检出率比较

分组	献血者人数	HBV 总阳性人数	ELISA 阳性人数	NAT 阳性人数	阳性检出率 (%)	统计值	
年龄(岁)	≤30	26 814	91	73	18	0.34	$P>0.05$
	31-40	19 446	63	48	15	0.32	
	41-50	15 428	55	42	13	0.36	
	>50	5 054	16	16	0	0.32	
性别	男性	34 710	117	90	27	0.33	$P>0.05$
	女性	32 032	108	89	19	0.34	
教育程度	基础教育	8 034	25	25	0	0.33	$P>0.05$
	中等职业技术教育	23 184	77	58	19	0.33	
	普通高等教育	35 416	119	96	27	0.34	
民族	汉族	63 111	220	174	46	0.35	$\chi^2=4.523$ $P=0.033$
	其他民族	3 631	5	5	0	0.14	
婚姻状况	单身	36 009	124	99	25	0.34	$P>0.05$
	已婚	30 733	101	80	21	0.33	
区域	城市	45 361	181	145	36	0.40	$\chi^2=16.149$ $P=0.000$
	农村	21 381	44	34	10	0.21	
献血情况	初次献血	20 303	162	139	23	0.80	$\chi^2=184.404$ $P=0.000$
	重复献血	46 439	63	40	23	0.14	

注:组间比较 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义

3 讨论

我国属于乙肝病毒的感染高发区,乙肝病毒极有可能通过血液进行传播。南京红十字血液中心自 2012 年开始应用两遍 ELISA+一遍 NAT 筛查 HBV,大大缩短了“窗口期”,显著降低因 ELISA 漏检而导致的输血后病毒感染发生率,可以有效提高血液安全,保障临床用血安全^[4]。因此,本研究用 2015-2016 年数据以期得到最新的调查情况。

本次 66 742 份无偿献血者血液标本中,共检出 HBV 阳性 225 例,阳性率为 0.34%,远低于国内其它地区,比如内江市的 0.91%和济宁市的 5.04%^[5-6]。分析原因主要有:我市严格实行 100%无偿献血,固定献血者数量日益剧增;健康献血宣传工作科学充分;血液中心相应的技术以及设施等。NAT 检测阳性率为 0.07%,应用核酸扩增检测能有效提高血液安全,降低输血性疾病风险^[7]。2010-2012 年济南地区无偿献血者 163 621 例 ELISA 筛查无反应性及单试剂阳性标本进行了 NAT 检测,发现阳性标本 0.067%^[8],2012-2013 年青岛地区 NAT 检阳性者 43 例,其中 ELISA 无反应性 41 例,检出率 0.068%^[9],远远低于东莞(0.9%)^[10]、常州(0.1%)^[11],这可能与人群分布的地域差异导致病毒检出率有差异;各血站使用的试剂盒不同产生的差异等有关。本次研究中共 66 742 名无偿献血者,HBV 感染与年龄段,性别,学历和婚姻状况均无关,但与区域分布和民族有一定关系。无偿献血人群中,城市 HBV 感染明显高于农村献血人群。满小青对济宁市无偿献血人群 HBV 研究也证实城市的阳性率高于农村^[6]。我们综合分析原因主要有:城市人口结构复杂,人员流动性大;城市人群生活方式多样化。我们的调查显示无偿献血人群中汉族 HBV 感染率明显高于其他民族人群,有研究认为这与不同民族遗传基因、个人体质及体内免疫水平方面也可能存在区别有关^[12]。南京地区无偿献血人群中,重复献血者比例高于其他地区,如四川绵阳^[13],且该人群 HBV 阳性率显著低于初次献血者的阳性率,这可能是本地区无偿献血者 HBV 阳性率明显低于其他研究的主要原

因^[6,12-13]。根据我们的调查,重复献血者能积极参与我中心组织的多种宣教活动,具有良好的生活习惯和健康意识,而初次献血者往往存在其他动机,如因种种原因借献血行免费健康体检等。

综上所述,本研究利用最新数据,发现城乡及民族差异与南京地区无偿献血者 HBV 阳性检出率相关。为了确保血液供应的安全性,需要保持一个有充足数量的低危无偿献血者队伍,改善献血者的预先筛查和血液检测过程,提高献血前的征询技巧,重点加强初次献血者献血前的征询和评估,加强无偿献血知识的宣传,巩固和发展固定无偿献血者队伍,核酸检测技术应用于血液筛查可有效地提高血液安全^[14]。输血安全事关重大,希望政府机构大力支持普及 NAT 检测技术应用于各级采供血机构,鼓励重复献血者积极献血,降低输血传播 HBV 的风险。

本研究也有如下几点局限和不足:1)本研究针对献血后的 HBsAg 反应阳性样本没有进行确证检测;2)ELISA 的特异性较低,易造成假阳性,本研究认为在两遍 ELISA 和一遍 NAT 筛查中只要有其中一项实验阳性者就判断为阳性,某种程度上浪费了献血资源。

参 考 文 献

- [1] 刘颖. 无偿献血者 HBsAg 酶免筛查结果分析. 中国输血杂志. 2012(S1):81.
- [2] 刘娜,徐光华,曾庆磊,等. 乙型肝炎传播途径. 肝脏. 2011(4):343-344.
- [3] 王新梅. 乙肝表面抗原初、复检阳性标本再检情况分析. 国际检验医学杂志. 2012(3):366-367.
- [4] 冯秋霞,许雷,杨忠思,等. 青岛地区核酸检测在血液筛查中的应用研究. 中国输血杂志. 2013,26(7):632-634.
- [5] 邓文英,漆平. 内江市无偿献血者血液指标检测结果分析. 基层医学论坛. 2012(25):3270-3271.
- [6] 满晓青. 无偿献血人群乙肝表面抗原感染检测分析. 中国药物经济学. 2013(S3):312-313.
- [7] 张妍,朱海峰,孙波,等. 核酸检测技术在血液筛查中的应用及

- 分析.中国输血杂志,2012,25(12):1298-1300.
- [8] 朱永宝,张妍,李英莲,等.2010-2012 年济南地区无偿献血者核酸检测结果分析.中国输血杂志,2013,26(8):722-724.
- [9] 冯秋霞,张龙穆,潘海平,等.青岛地区 63846 份无偿献血者血液标本筛查结果分析.中国输血杂志,2014,27(7):733-735.
- [10] 师玲玲,刘赴平,王德文,等.核酸检测技术在献血者血液筛查中的初步应用.中国输血杂志,2010,23(1):11-13
- [11] 何亚琴,张建伟,杨爱龙,等.核酸检测技术在常州地区献血筛查中的应用.中国输血杂志,2011,24(07):560-562.
- [12] 葛金莲,徐恩洁,买买提伊明·吐尔逊,等.新疆各民族乙肝病毒感染指标检测研究.新疆医科大学学报.2016(4):492-494.
- [13] 曹汝安,文秀琼,黄梅,等.2008-2010 年绵阳地区献血人群 HBV 流行情况分析.中国输血杂志.2015,28(7):820-822.
- [14] 张妍,朱海峰,孙波,等.核酸检测技术在血液筛查中的应用及分析.中国输血杂志,2012,25(12):1298-1300.

(2017-03-04 收稿,04-15 修回)

本文编辑:李弘武

· 论著 ·

绵阳地区无偿献血者中 HBsAg 真实流行情况调查： 献血前快检以及献血后筛查确证试验结果联合分析

黄梅¹ 文秀琼¹ 曹汝安¹ 高瞻² 付萍² 王憬惺² 刘静³ 山华⁴ 刘鱼² 何苗^{2Δ}

(1. 绵阳红十字中心血站,四川 绵阳 621000;2.中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所;
3. 约翰霍普金斯大学医学院;4. 斯坦福医院)

摘要:目的 通过对绵阳地区献血前 HBsAg 快检及献血后血液筛查确证试验结果进行联合分析,更准确的研究献血者中 HBV 的真实流行情况。**方法** 收集绵阳市中心血站 2015 年 1-8 月的献血前 HBsAg 快检反应阳性样品,并且从征得同意的反应阳性献血者抽取静脉血样进行 HBsAg 确证中和试验。从血站检验科收集献血后 HBsAg 的筛查反应阳性样品进行 HBsAg 确证中和试验。最后利用献血前和献血后的确证结果估算 HBV 的流行率。**结果** 2015 年 1-8 月,绵阳 59.4%(177/298)的献血前 HBsAg 快检反应样本成功采集并进行了确证试验,其确证阳性率为 95.5%(169/177)。2015 年全年献血后 59.0%血液筛查反应样本中和试验阳性(249/422)。2015 年绵阳市中心血站共有 45 424 位献血者,其中献血前快检阳性者 422 人,通过推算献血前和献血后的确证阳性数计算绵阳地区献血者中总的 HBV 流行率为 1.44%。**结论** 献血前 HBsAg 的快检有效地阻止从 HBV 感染献血者中采集血液,目前的快检有着较高的特异性。同时,快检漏检的 HBV 感染献血者也能在献血后的 HBsAg 筛查中被检测出来。本研究结合献血前 HBsAg 快检淘汰和献血后 HBsAg 反应献血者数据估算了绵阳地区献血者中的真实的 HBsAg 流行率,提供了 1 个中国献血者的 HBV 流行率调查新模型。

关键词: HBsAg;快检;ELISA;确证试验;流行率

中图分类号: R512.6⁺2 R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0451-03

Hepatitis B Virus prevalence in Chinese blood donors: HBsAg reactive rates from pre-donation rapid test and post-donation screening test. HUANG Mei¹, WEN Xiuqiong¹, CAO Ruan¹, GAO Zhan¹, FU Ping², WANG Jingxing², LIU Jing³, SHAN Hua⁴, LIU Yu², HE Miao². 1. Mianyang Red Cross Blood Station, Mianyang 621000, China; 2. Institute of blood transfusion, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences; 3. Johns Hopk Ins University; 4. Stanford Hospital. Corresponding author: HE Miao.

Abstract: Objective The aim of this study is to perform HBsAg neutralization (NT) on pre-donation rapid HBsAg test reactive samples as well as post-donation screening reactive samples to provide a more accurate estimate of HBV prevalence among Chinese blood donors. **Methods** Rapid HBsAg test is done on blood collected by finger stick. From June to August 2015, donors with pre-donation HBsAg RT reactive results at Mianyang blood center were asked to give a venous blood sample for HBsAg CT. Samples from consented donors were subjected to HBsAg NT for confirmation of HBV infection. Post-donation HBsAg screening and CT results were collected from blood center database. HBsAg CT positive rates for pre-donation and post-donation HBsAg reactive donors were used for the prevalence estimate. **Results** From June to August, 59.4% of all

pre-donation HBsAg RT reactive samples were tested by CT with 95.5% CT positive rates in Mianyang. From post-donation screening reactive samples during the same period, 249 out of 422 (59.0%) were NT confirmed positive. In 2015, a total num-

ber of 45 424 donors, including 422 HBsAg RT positive donors, attempted to donate whole blood in Mianyang blood center. The estimated overall HBV prevalence in blood donors was 1.44%. **Conclusion** The HBsAg pre-donation rapid test has been effective in preventing donations to be collected from HBV infected donors. The current rapid test method appears to have high sensitivity. At the same time, some HBV infected donors escape the rapid test and can be detected by post-donation HBsAg screening. Chinese blood centers do not routinely perform confirmatory testing for HBsAg. Our study is one of the first to provide estimate of HBV prevalence among Chinese blood donors by combining confirmatory results from both HBsAg pre-donation deferrals with post-donation HBsAg test reactive donors. Our results and study approach help to improve our understanding of the current risk of HB infection through blood transfusion in China and provide an investigation model for further HBV prevalence studies in Chinese blood donors.

Key words: HBsAg; rapid test; ELISA; prevalence

我国是乙型肝炎病毒的高发地区,普通人群的乙肝病毒流行率约为 7.2%^[1],对我国的输血安全造成一定的威胁,因此为了确保血液安全同时节约血液资源和经费,目前我国的血站及血液中心主要采用献血前的胶体金免疫层析法(金标法 GICI)快速检测 HBsAg,合格后采血进行酶联免疫检测(ELISA)或核酸检测(NAT)^[2]。该策略取得了良好的应用效果,但是因为我国血站或血液中心对献血前 HBsAg 不合格淘汰的献血者一般不进行统计,献血后的 HBsAg 反应阳性样本也不进行确证检测,这种献血筛查策略就很难用于估计中国献血者的真实 HBsAg 流行率。以往绝大多数的 HBsAg 流行率研究与真实的 HBsAg 在无偿献血者中的流行率比较如图 1 所示。因此我们对绵阳地区的献血前和献血后 HBsAg 反应阳性样本进行中和确证试验,以准确地计算献血者中的 HBsAg 流行率,现报道如下。

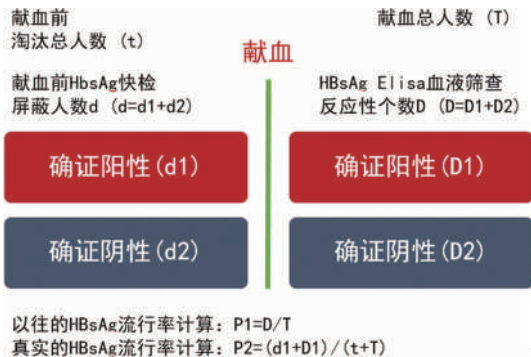


图 1 以往无偿献血者中 HBsAg 的流行率计算与真实的 HBsAg 流行率计算方法比较

1 对象与方法

1.1 调查对象 收集绵阳市中心血站 2015 年 1-8 月的献血前 HBsAg 快检反应阳性样品,并且从征得同意的反应性献血者中抽取静脉全血。同时收集本血站 2015 年全年的无偿献血数据,通过检验科采集献血后 HBsAg 血液 ELISA 筛查不合格的样本。

1.2 试剂与仪器 HBsAg 金标法试纸条(北京万泰生物药业股份有限公司,上海科华生物工程股份有限公司) HBsAg ELISA 试剂盒(北京万泰生物药业股份有限公司,荷兰梅里埃,美国雅培)HBsAg 确认试剂盒中和试验法(珠海丽珠试

剂股份有限公司)RSP150 /RSP200 全自动加样仪(瑞士 TE-CAN); FAME24 /20 和 FAME24 /30 全自动酶免分析仪(瑞士)。

1.3 方法

1.3.1 金标法 取左手无名指指尖末梢血液 1 滴约 40 μL,滴加至金标试纸条加样端箭头横线下,然后立即滴加 1-2 滴约 40-80 μL 样本稀释液,室温反应 10 min 内观察结果。检测线和质控线出现 2 条带者为 HBsAg 阳性;只在质控线出现 1 条带者为 HBsAg 阴性;检测线和质控线均不出现反应者为试验无效,应重新检测。

1.3.2 ELISA 法 用 RSP200 /RSP150 加样仪分别进行酶免项目初、复检试剂的加样,双孔复试标本采用经校准合格的移液器人工加样,用瑞士 FAME24 /20 和 FAME24 /30 全自动酶免分析仪进行后处理检测。

1.3.3 中和试验法 试验设阴阳性对照,对照孔加入对照试剂,检测孔加入特异性抗体试剂,37℃ 温育 60 min,加入酶标记物,37℃ 温育 30 min,洗板 6 次,加入底物缓冲液和底物液,37℃ 温育 30 min,加入终止液,放入酶标仪读值。分别计算阴性对照平均值,阳性对照抑制率,样本抑制率。样本抑制率 ≥ 50%,为阳性, < 50% 为阴性,阴阳性计算值不符合参考值即判为无效。

2 结果

2015 年全年本血站共有 45 424 人次献血,其中献血前 HBsAg 不合格屏蔽 422 人次,因问卷淘汰,低血红蛋白,ALT 不合格,体检不合格等原因屏蔽 1 457 人次。2015 年 1-8 月,共采集到 HBsAg 快检不合格血样 177 份,其中 169 份确证阳性(95.5%),由此估算 2015 年 1-12 月快检确证 403 人。2015 年全年本血站实际参与献血 43 545 人次,其中 ELISA 血液筛查 HBsAg 反应性 422 人,中和试验结果显示 249 份样本确证阳性(59.0%)(表 1)。按照传统的流行率计算方法,HBsAg 的流行率应为 422/43 545=0.97%,而通过加入献血前 HBsAg 快检不合格数据和中和试验数据后,HBsAg 在绵阳市无偿献血者中的真实流行率为 1.44%,95% CI 为 1.37%-1.50%。

表 1 2015 年献血前和献血后 HBsAg 反应阳性献血者确证试验结果

时间	献血前				献血后			HBsAg 流行率 (95%CI)	
	总献血 人次	其他淘汰 人次*	HBsAg 快检 不合格人数	中和试验 样本**	中和 试验+	通过初筛的 总献血人次	ELISA+		中和 试验+
1-8 月			298	177	169(95.5%)				
1-12 月	45 424	1 457	422		403***	43 545	422	249 (59.0%)	1.44%(1.37%-1.50%)

* 包括问卷淘汰,ALT 不合格,低血红蛋白,体检不合格等原因现场淘汰的献血者; ** 部分因 HBsAg 不合格被现场淘汰的献血者不同意参与本研究; *** 通过 1-8 月的阳性率推测全年的数据,即 $422 * 95.5\% = 403$ 人

3 讨论

目前血站和血液中心在献血前使用胶体金法检测 HBsAg 筛查献血者后采血可以有效的降低血液报废同时提高血液安全。胶体金免疫层析技术通过血液中 HBsAg 与抗体结合形成复合物,再与检测线上预包被的抗体结合而显色,具有简便,快捷,易于保存,操作方便,无需检测仪器,降低原材料和试剂成本的优点^[3]。但是胶体金法在灵敏度和人为观察误差的限制,存在一定的漏检率^[4]。因此,献血后使用灵敏度更高的 ELISA 法进行 2 次筛查,大大降低了血液中 HBsAg 的阳性率。但是由于经费和工作量等原因,我国目前不对 HBsAg 反应样本进行确证实验,造成一部分 HBsAg 假阳性,从而丢失了一部分潜在的正常献血者,浪费了一部分血液资源。

在本研究中,我们发现快检不合格与 ELISA 不合格的样本量相当。HBsAg 胶体金快检的确证阳性率很高,在 95% 以上。而 ELISA 的确证阳性率却仅为 59%。出现这种结果的原因可能是 ELISA 试剂的灵敏度高但特异性不强导致,且我国各血液中心都有检测设置灰区的要求,因此大大降低了 ELISA 反应性样本的中和确证率。鉴于 ELISA 特异性较低,建议将 HBsAg 确证试验纳入常规检测,建立筛查阳性者归队流程,以充实献血者队伍。

目前我国大部分血站和血液中心统计的献血者 HBsAg 的流行率都是基于献血后 HBsAg 的 ELISA 反应阳性结果,由于 Elisa 假阳性率较高(同本研究结果一致)^[5],这样就大大高估了 HBsAg 在通过初筛后的献血者中的流行率。同时,这样计算出的流行率,未能包含献血前的 HBsAg 快检淘汰献血者的数据,不能真实反应我国献血人群的 HBsAg 真实流行率^[6-7]。本研究通过选取本血站献血前和献血后的 HBsAg 确证阳性数据,在新的流行率统计模型下计算出绵阳地区无偿献血者 HBsAg 的真实流行率为 1.44%(95%CI 为 1.37%-1.50%)。由于未能收集献血前 ALT 快检不合格的献血者样本,有可能漏算少量 HBsAg 确证阳性人数。

建议中国的血液中心开展常规的 HBsAg 确证试验,建立筛查阳性者归队流程,充实献血者队伍。此外,目前我国估算献血者 HBsAg 流行率的方法存在着很多不足,我们的研究首次结合了献血前 HBsAg 快检淘汰和献血后 HBsAg 反应阳性献血者确证阳性的数据估算了绵阳地区献血者真实的 HBsAg 流行率。我们的研究结果和方法有助于我们了解目前我国通过输血传播 HBV 的风险以及提供了 1 个调查模型来研究中国献血者的 HBsAg 流行率,为我国的血液安全和献血者招募政策的制定提供真实可靠的数据支撑。

参考文献

- [1] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China-declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. *Vaccine*. 2009, 27(47):6550-6557.
- [2] 毕承恩,瞿文金,杨婷. 胶体金法检测街头献血者 HBsAg 漏检原因分析与对策. *中国输血杂志*. 2014, 27(6):3.
- [3] 王林. 胶体金免疫层析法检测 HBsAg 在无偿献血中的应用. *中国卫生检验杂志*. 2013, 23(9):2.
- [4] 丁邦胜,潘健. 金标法和 ELISA 法检测乙型肝炎病毒血清标志物的比较. *临床输血与检验*. 2012, 14(3):4.
- [5] Huang Y, Guo N, Yu Q, et al. Risk factors for hepatitis B and C infection among blood donors in five Chinese blood centers. *Transfusion*. 2015; 55(2):388-94. doi: 10.1111/trf.12850. PubMed PMID: 25382751.
- [6] Zhong L, Xi G, Zhang L, et al. The estimation of prevalence and risk factors of hepatitis B virus infection among blood donors in Chengdu, China. *Journal of medical virology*. 2016; 88(2):260-7. doi: 10.1002/jmv.24339. PubMed PMID: 26241150.
- [7] 张丽,宋文倩,高勇,等. 全国 32 个地区献血人群血液筛查结果回顾性分析. *临床血液学杂志(输血与检验版)*. 2014, 27(02):152-155.

(2016-03-04 收稿,2017-5-20 修回)

本文编辑:李宜蔓

欢 迎 赐 稿 欢 迎 订 阅

· 论著 ·

血浆 miR-122 在抗-HCV 阳性献血者中表达的动态分析*

王立林 杨宝成 朱为刚 卢亮 洪文旭 孙元璋 龙洁萍 曾劲峰 李雪梅[△](深圳市血液中心,广东 深圳 518035)

摘要:目的 动态分析抗-HCV 阳性献血者血浆 miR-122 的表达特点及与 HCV 感染诊断指标的关联。**方法** 对 133 名抗-HCV 阳性献血者、24 名健康献血者及 15 名确证抗-HCV 阳性追踪献血者血液标本抽提血浆 miRNA,以实时荧光定量 PCR 法检测血浆 miR-122,分析血浆 miR-122 相对表达量与 HCV RNA、抗-HCV 临界值指数(COI)等指标关联性。**结果** ROC 曲线分析:miR-122 在抗-HCV+/HCV RNA+组和抗-HCV+/HCV RNA-组中诊断丙型肝炎的 AUC(ROC 曲线下面积)为 0.830(95% CI:0.755-0.889),区分抗-HCV+/HCV RNA+组和抗-HCV+/HCV RNA-组的敏感性和特异性分别为 74.7%和 82.4%。追踪 15 例抗-HCV+/HCV RNA+献血者血浆 miR-122 表达明显降低($P < 0.05$)。**结论** 血浆 miR-122 与 HCV 感染密切相关,确证 HCV RNA 感染献血者血浆 miR-122 随时间迁移表达降低。

关键词:丙型肝炎病毒;抗-HCV;血浆 miR-122;HCV RNA;临界值指数;生物标志物

中图分类号:R446.1 R512.6⁺3 Q522⁺.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0454-05

Dynamic monitoring of expression of miR-122 in anti-HCV positive blood donors WANG Lilin, YANG Baocheng, ZHU Weigang, LU Liang, HONG Wenxu, SUN Yuanzhang, LONG Jieping, ZENG Jingfeng, LI Xuemei. Shenzhen blood center, Shenzhen 518035, China. Corresponding author: LI Xuemei.

Abstract: Objective To dynamically monitor the expression of plasma miR-122 in anti-HCV positive blood donors and analyze the relationship between miR-122 levels and HCV diagnostic test results. **Methods** 133 anti-HCV reactive donors, 24 healthy blood donors, 15 anti-HCV reactive and HCV RNA positive followed up blood donors were included in the study. The level of miR-122 in plasma were measured using real-time quantitative RT-PCR, and the relationship between miR-122 levels and HCV RNA, COI were statistically analyzed. **Results** From discriminating anti-HCV+/HCV RNA+ positive blood donors from those anti-HCV+/HCV RNA- negative people, the AUC-ROC (the area under the ROC curve) was 0.830 (95%CI:0.755-0.889), and the sensitivity and specificity were 74.7% and 82.4%, respectively. The expression of miR-122 in plasma was significantly decreased in 15 anti-HCV+/HCV RNA+ patients ($P < 0.05$). **Conclusion** MiR-122 is closely related to HCV infection, and decreased with time in blood donors of HCV RNA infection.

Key Words:Hepatitis C virus; Plasma miR-122; HCV RNA; COI; biomarker

丙型肝炎病毒(hpatitis C virus, HCV)感染是最常见的输血传播病原体之一,目前全球大约有 1.3 亿人感染 HCV,我国约 3.2%(3 800 万)人感染 HCV,部分感染者最终发展为慢性肝炎、肝硬化、甚至肝癌,严重危害人类健康^[1]。目前对 HCV 的诊断主要采用间接法第 3 代抗-HCV ELISA 试剂盒,虽然特异性>95%,但是在低危人群中检测的假阳性率却也高达 15% - 62%^[2-3]。微小核糖核酸(microRNA, miRNA, miR)是真核生物细胞中 1 类参与基因转录后调控的小分子 RNA,长度 17-24 个核苷酸^[4];现已证实其广泛稳定存在于血液、脑脊液等体液中,作为疾病标记物引起越来越多的重视^[5-7]。miR-122 为肝脏特异性 miRNA,占肝脏总 miRNA 的 72%,对肝脏生理功能具有重要调节作用,在 HBV、HCV 等嗜肝性病毒感染过程中发挥重要调控功能^[8-13];同时,可以作为病毒所致肝炎、肝纤维化、肝癌非侵入性生物诊断标记物^[14-16]。我们在 HCV 感染低流行(流行率<10%)的献血人

群中,动态检测抗-HCV 阳性献血者血浆 miR-122 表达水平,探究其与 HCV RNA、抗-HCV 临界值指数(COI)等指标关系,为从 miRNA 角度分析 HCV 感染、疾病转归、免疫逃逸等可能机制提供研究依据,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2014 年 10 月-2015 年 4 月在本中心无偿献血者中检出的 133(人)份抗-HCV 阳性标本及随机抽检的 24(人)份多次捐献血小板的健康献血者血样(静脉血 5 mL/份,EDTA·K₂ 抗凝),献血者均符合国家《献血者健康检查要求》。133 份抗-HCV 阳性标本中,男性 84 例、女性 49 例;年龄 18-51(31.37±10)岁;初次献血者 121 名,≥2 次献血者 12 名。提取血浆:4℃ 16 000 g 离心 10 min,分装储存于无 RNA 酶管中,-80℃ 保存。标本采集后<24 h 做相应检测。

1.2 研究分组 为分析抗-HCV 阳性献血者血浆 miR-122 与 HCV 感染诊断各类指标的关联,内参的选择及验证分组为:抗-HCV 阳性献血者(133 名)和健康献血者(24 名);血浆 miR-122 在抗-HCV+/HCV RNA+、抗-HCV+/HCV RNA-献血者标本血浆中的表达分组为:健康献血者(24 名),抗-HCV+/HCV RNA+组(34 名)、抗-HCV+/HCV RNA-组(99 名);

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 05. 004
* 基金项目:深圳市科技创新委员会项目(JCYJ20140403093211510),深圳市科卫生计生系统科研项目(201401074, 201401077); △通信作者:李雪梅(1974. 12-),女,副主任技师,主要从事输血安全研究,电话:0755-83366336-606,Email:dqlxm92@126.com

血浆 miR-122 在不同抗-HCV COI 标本组的表达分组为:健康献血者(24 名)、COI \leq 2(66 名)、 $2 < \text{COI} < 3.8$ (20 名)与 $3.8 \leq \text{COI}$ (47 名);血浆 miR-122 作为生物诊断标志物的验证分组为:抗-HCV+/HCV RNA+组(99 名)和抗-HCV+/HCV RNA-组(34 名)。

1.3 主要试剂和仪器 抗-HCV EIA 试剂盒(EXE230,美国 Ortho-Clinical Diagnostics);ALT 检测试剂盒(Z506245,贝克曼库尔特试验系统(苏州)有限公司);HCV RNA 定量检测试剂盒(2016002,湖南圣湘生物科技有限公司);miRNeasy Serum/Plasma Kit (217184)、miScript Primer Assay (179893385)、miScript II RT Kit (218160)、miScript SYBR Green PCR Kit (145052001)、MiR-122 (177485775)、cel-miR-39 引物(174637199)(德国 QIAGEN 公司);无 RNA 酶水(A2701A,日本 TaKaRa 公司)。-80℃ 冰箱(MDF-U33V,日本三羊);实时荧光定量 PCR 仪(MX3005P,美国 Agilent 公司);酶免疫检测仪器(FAME 24/30,瑞士 HAMILTON);酶免疫加样仪器(TECAN RSP/200,瑞士 TECAN);生化仪(Backman UniCel DXC600,美国贝克曼库尔特有限公司)。

1.4 抗-HCV 血清学检测及结果判定 对所有的献血者标本做血 2 遍 EIA 检测,操作按试剂说明书,若 2 遍都为血清学反应性则最终结果判定为抗-HCV 阳性。

1.5 ALT 检测 按试剂说明书操作。

1.6 RT-PCR 定量检测 按 HCV RNA 定量检测试剂说明书设置相关仪器参数并操作,试剂 95%最低检出限为 25 IU/mL,线性范围($50-1 \times 10^8$) IU/mL,对于测定值 $>1 \times 10^8$ IU/mL 的标本,将稀释至线性范围内,再次检测。

1.7 血浆 RNA 提取 吸取血浆 300 μL /份标本,按照试剂说明书方案提取 RNA 后分装,-80℃ 保存备用。

1.8 实时荧光定量 PCR 检测 miRNA 第 1 步 cDNA 合成:按照 miScript II RT Kit 试剂盒说明书操作;第 2 步实时定量 PCR:使用 miScript SYBR Green PCR kit 在荧光定量 PCR 仪上行实时定量 PCR,重复 3 次/份标本。miRNA 的特异性的引物序列参照 miRBase database (<http://microrna.sanger.ac.uk>)(由德国 QIAGEN 公司合成生产)。

1.9 跟踪随访 于检测 6 个月后,对抗-HCV+/HCV RNA+献血者跟踪随访,采集其血样做常规酶免、核酸及 HCV RNA 定量、miRNA 定量。

1.10 统计学处理 病毒载量取对数计算“均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)”;实时荧光定量 PCR 结果所有数据取 3 次独立重复试验所得均值,采用相对定量($2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$)方法分析。应用 SPSS 19.0 统计学软件(SPSS Inc., Chicago, USA),计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 Tukey 检验,血浆中 miRNA 的表达水平的差异通过 Mann-Whitney *U* 检验或 Kruskal-Wallis 检验相比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。利用受试者工作特征曲线 ROC 曲线判断 miR-122 鉴别抗 HCV 患者及

健康者的诊断价值。

2 结果

2.1 抗-HCV 阳性献血者一般资料 见表 1。

表 1 133 名抗-HCV 阳性献血者的基本信息

		<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$
性别	男	84	/
	女	49	/
年龄(岁)			31 \pm 10
ALT(U/L)			21 \pm 9
COI			2.72 \pm 1.58
	COI \leq 2	66	1.26 \pm 0.28
	$2 < \text{COI} < 3.8$	20	2.91 \pm 0.46
	$3.8 \leq \text{COI}$	47	4.68 \pm 0.24
HCV RNA	阳性	34	/
	阴性	99	/
HCV RNA 病毒载量(IU/mL)	40	5.28 \pm 2.24	
献血次数	1 次	121	
	\geq 2 次	12	

2.2 miR-122、cel-miR-39 引物验证 提取的抗-HCV 阳性献血者血浆总 miRNAs 经逆转录后得到 cDNA,用 miRs 引物做普通 PCR 扩增,使用 miRNAs 引物对 cDNA 做实时荧光定量 PCR,得到 cDNA 的溶解曲线:线峰形单一(图 1),测序结果与 miRBase 数据库结果一致,认为引物无非特异性扩增。

2.3 血浆 miR-122、cel-miR-39 实时荧光定量 PCR 标准曲线的建立 血浆 miR-122 扩增效率为 90%,miR-39 扩增效率为 93.5%(图 2),证明使用 SYBR Green 做实时荧光定量分析目标 miRNAs 表达结果稳定可靠。

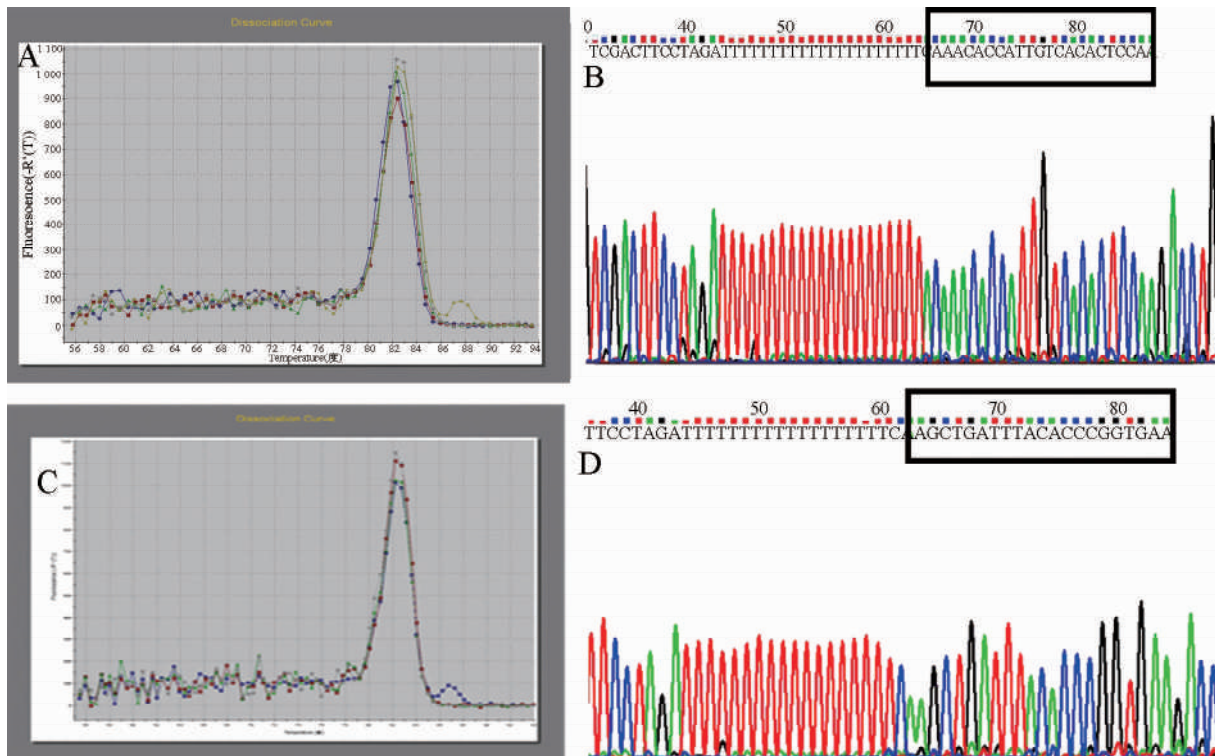
2.4 内参的选择及验证 抗-HCV 阳性献血者和健康献血者血浆 cel-miR-39 表达水平相近($P > 0.05$),证实 miR-39 在抗-HCV 阳性血浆中可作为 miRNA 表达的内参(图 3)。

2.5 血浆 miR-122 在抗-HCV+/HCV RNA+、抗-HCV+/HCV RNA-献血者血浆中的表达比较 血浆 miR-122 相对表达量:健康献血者组、抗-HCV+/HCV RNA+组和抗-HCV+/HCV RNA-组分别为 2.152 \pm 3.933,7.854 \pm 6.453,1.025 \pm 1.845($P < 0.05$)(图 4)。

2.6 血浆 miR-122 在不同抗-HCV 临界值指数标本组的表达比较 血浆 miR-122 相对表达量在 $3.8 \leq \text{COI}$ 组与 $\text{COI} \leq 2$ 组、健康对照组有明显差别(图 5)。

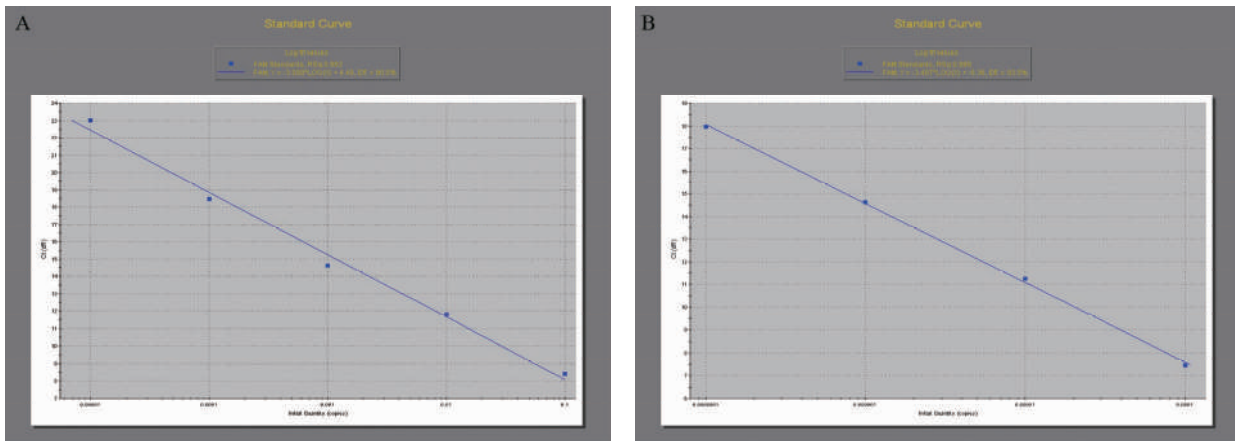
2.7 血浆 miR-122 作为生物诊断标志物的验证 ROC 曲线分析:miR-122 在抗-HCV+/HCV RNA+组和抗-HCV+/HCV RNA-组中诊断丙肝的 AUC(ROC 曲线下面积)为 0.830(95% CI:0.755-0.889),区分抗-HCV+/HCV RNA+组和抗-HCV+/HCV RNA-组的敏感性和特异性分别为 74.7%和 82.4%(图 6)。

2.8 抗-HCV 阳性/HCV RNA+献血者血浆 miR-122 表达的追踪检测 自首次献血 6 个月后,对 15 例抗-HCV+/HCV RNA+献血者血浆再次检测:miR-122 表达明显下降(图 6)。



A miR-122 溶解曲线峰型; B miR-122 测序结果; C cel-miR-39 溶解曲线峰型; D cel-miR-39 测序结果

图 1 抗-HCV 阳性献血者血浆标本 miR-122、cel-miR-39 的 cDNA 熔解曲线



A miR-122 Real-time qPCR 标准曲线; B miR-39 Real-time qPCR 标准曲线

图 2 抗-HCV 阳性献血者血浆标本的 miRNAs 实时荧光定量 PCR 标准曲线

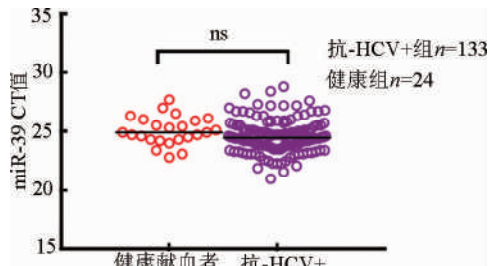


图 3 抗-HCV 阳性献血者和健康献血者标本血浆 cel-miR-39 表达水平比较

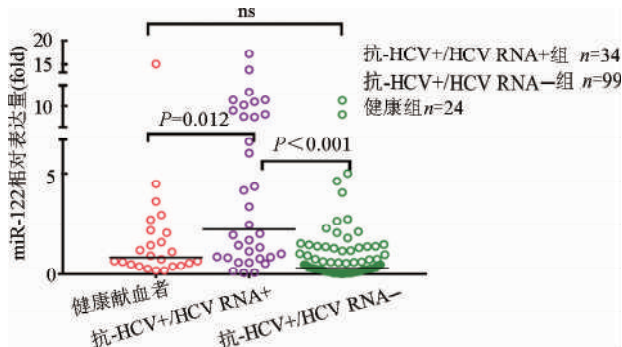


图 4 抗-HCV+/HCV RNA+、抗-HCV+/HCV RNA- 和健康献血者标本血浆中 miR-122 相对表达量比较

表 2 血浆 miR-122 在不同抗-HCV COI 标本及健康献血者中的表达比较

组间比较	平均数	差异表达倍数	P
COI≤2 组/健康献血者	0.700/1.000	1.429 ↓	P>0.05
2<COI<3.8 组/健康献血者	1.591/1.000	1.591 ↑	P>0.05
3.8≤COI 组/健康献血者	4.346/1.000	4.346 ↑	P<0.01
3.8≤COI 组/COI≤2 组	4.346/0.700	6.209 ↑	P<0.01

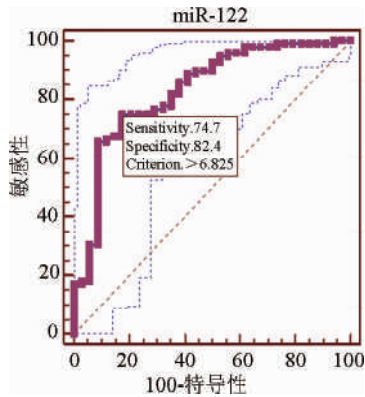


图 5 miR-122 在 HCV RNA 阳性献血者和 HCV RNA 阴性献血者组的 ROC 曲线比较

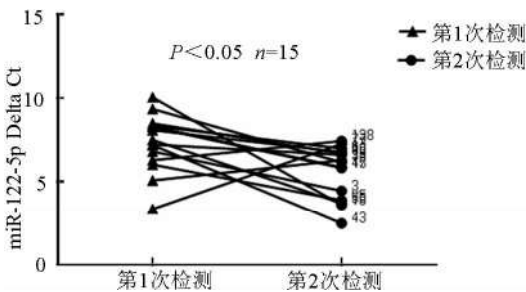


图 6 6 个月后抗-HCV 阳性/HCV RNA+献血者血浆 miR-122 表达水平追踪检测

3 讨论

miRNA 为人类循环系统中存在的多种由微小囊泡包裹的小分子核酸,通过不断地深入探究,业已证实这些来自细胞分泌或破裂释放的核酸具有强大的转录后调控功能^[17]。

HCV 感染机体后通过免疫应答、抗原递呈、蛋白酶体和脂质代谢等多种途径调控 miRNA 的表达^[18];已经证实至少 11 种 miRNA 调控 9 种靶基因参与 HCV 感染^[19]。miR-122 分子 3' 端游离核苷酸序列互补结合病毒基因组 5'UTR 的 2 个 Ago2 结合位点,形成 1 个低聚物复合体,阻止核酸酶对 HCV RNA 的降解以维护病毒稳定性,促进其增殖^[20-21];同时 HCV 基因组 3'UTR 可变区及 NS5B 编码区也有 2 个 miR-122 靶点,miR-122 与之结合后抑制 HCV RNA 的复制和翻译^[22]。HCV 与 miR-122 之间千丝万缕的联系,还体现在 miR-122 作为诊断标志物检测 HCV 感染所致病毒性肝炎、肝硬化和肝癌^[23-24]。本组研究对象为 HCV 感染低风险的献血人群,由于抗-HCV 假阳性率较高,133 名抗-HCV 阳性献血者中有相当一部分并非 HCV 感染者,参考抗-HCV COI 可以辅助判断是否为 HCV 感染^[3]。因此,依据实验数据的 COI 值的大小我们将对象分为 3 组:COI≥3.8 及 COI≤2、健康献血者对照组,3 组血浆 miR-122 相对表达量有明显差异

(表 2)。3 组血浆 miR-122 相对表达水平的检测也证实:确证为 HCV 感染标本的血浆 miR-122 水平明显高于非 HCV 感染者:抗-HCV+/HCV RNA+组的相对表达量明显高于健康献血者和抗-HCV+/HCV RNA-组(图 4)。有研究早在 2009 年即发现药物所致肝损伤小鼠的血清 miR-122 升高^[25];随后 HCV-1 和 2 型感染的慢性肝炎患者的 miR-122 与 ALT 和炎症评分呈明显正相关得到了证实^[26]。考虑到随着肝脏炎症程度加剧,更多肝细胞坏死,大量胞内蛋白及核酸释放入血,也可以解释血液中 ALT 升高以及肝脏特异性 miR-122 增多。但对于献血者这种经过 ALT 初筛符合《献血者健康检查要求》的群体,即使酶免检测抗-HCV 阳性,ALT 不合格率也非常低^[27]。本组 133 例抗-HCV 阳性标本的 ALT 都在正常范围内(表 1),ALT 结果与血浆 miR-122 表达水平无相关性(文中未列出实验结果);这也证实了 Butt 等^[28]的研究结果:即使 HCV-3 型慢性感染患者 ALT 正常,其血清 miR-122 仍可辅助 HCV 诊断。不过 Wang 等^[29]虽然观察到在治疗后 HCV 转阴的慢性肝炎和急性肝炎患者血浆中 miR-122 明显上升,但与 ALT、肝脏炎症程度并无相关性。导致这些研究不一致结果的原因可能与标本量,宿主及病毒因素以及检测方法等有关^[29],因此,需要不同团队研究不同群体 miR-122 与 HCV 感染之间的关联性。

我们对血浆 miR-122 作为 HCV 感染机体的生物诊断标志物作了验证,ROC 曲线分析显示血浆 miR-122 对本组 HCV RNA 阳性和 HCV RNA 阴性标本分类具有一定的诊断价值(图 6)。此前多个研究证实循环 miR-122 作为辅助指标,可判断病毒及其他原因所致肝损伤的原因并推测类似坏死和受损细胞漏出或分泌血清 ALT 和 AST,且其灵敏高于传统的蛋白指标,预测性较好,与组织病理学结果具有很高的相关性,在个体之间的反应较一致^[25,30-33]。我们在首次对抗-HCV 阳性/HCV RNA+献血者检测血浆 miR-122 检测 6 个月后,又对他们作了追踪检测:本组抗-HCV+/HCV RNA+献血者中,4 例未检测到 HCV RNA,8 例病毒载量降低、3 例升高(文中未列出实验结果),血浆 miR-122 表达明显下降,考虑与机体清除 HCV RNA 有关(图 6)。

除了与血浆 HCV RNA 有密切关联,动态监测血浆 miR-122 是否对确证 HCV 既往感染状态(抗-HCV+/HCV RNA-)有一定辅助作用?下一步,我们希望通过扩大标本量,补充追踪数据,对这一假设进行验证。动态研究与 HCV 感染密切相关的血浆 miR-122,为从转录后调控角度分析 HCV 感染、疾病转归、免疫逃逸等可能机制提供研究依据。

参考文献

[1] Lavanchy D.The global burden of hepatitis C.Liver Int, 2009, 29 (Suppl 1): 74-81.
 [2] Contreras AM.[False and true positive HCV antibody. Diagnostic strategies].Rev Invest Clin, 2006, 58(2): 153-160.
 [3] Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L.Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention.MMRW Recomm Rep, 2003, 52 (RR-3): 1-13, 15; quiz CE1-4.
 [4] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP.Conserved seed pairing, often

- flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20.
- [5] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(30): 10513-10518.
- [6] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*, 2008, 18(10): 997-1006.
- [7] Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*, 2009, 58(10): 1375-1381.
- [8] Girard M, Jacquemin E, Munnich A, et al. miR-122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver. *J Hepatol*, 2008, 48(4): 648-656.
- [9] Mahgoub A, Steer CJ. MicroRNAs in the evaluation and potential treatment of liver diseases. *J Clin Med*, 2016, 5(5). pii: E52. doi: 10.3390/jcm5050052.
- [10] Elhanati S, Ben-Hamo R, Kanfi Y, et al. Reciprocal Regulation between SIRT6 and miR-122 Controls Liver Metabolism and Predicts Hepatocarcinoma Prognosis. *Cell Rep*, 2016, 14(2): 234-242.
- [11] Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science*, 2005, 309(5740): 1577-1581.
- [12] Luna JM, Michailidis E, Rice CM. Mopping up miRNA: An integrated HBV transcript disrupts liver homeostasis by sequestering miR-122. *J Hepatol*, 2016, 64(2): 257-259.
- [13] Chen TC, Hsieh CH, Sarnow P. Supporting Role for GTPase Rab27a in hepatitis C virus RNA replication through a novel miR-122-mediated effect. *PLoS Pathog*, 2015, 11(8): e1005116.
- [14] Wang C, Hann HW, Ye Z, et al. Prospective evidence of a circulating microRNA signature as a non-invasive marker of hepatocellular carcinoma in HBV patients. *Oncotarget*, 2016. doi: 10.18632/oncotarget.9492.
- [15] Song K, Han C, Zhang J, et al. Epigenetic regulation of MicroRNA-122 by peroxisome proliferator activated receptor-gamma and hepatitis b virus X protein in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology*, 2013, 58(5): 1681-1692.
- [16] Harouaka D, Engle RE, Wollenberg K, et al. Diminished viral replication and compartmentalization of hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma tissue. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(5): 1375-1380.
- [17] Huang X, Yuan T, Tschannen M, et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC Genomics*, 2013, 14: 319.
- [18] Ura S, Honda M, Yamashita T, et al. Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2009, 49(4): 1098-1112.
- [19] Steuerwald NM, Parsons JC, Bennett K, et al. Parallel microRNA and mRNA expression profiling of (genotype 1b) human hepatoma cells expressing hepatitis C virus. *Liver Int*, 2010, 30(10): 1490-1504.
- [20] Machlin ES, Sarnow P, Sagan SM. Masking the 5'-terminal nucleotides of the hepatitis C virus genome by an unconventional microRNA-target RNA complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(8): 3193-3198.
- [21] Roberts AP, Lewis AP, Jopling CL. miR-122 activates hepatitis C virus translation by a specialized mechanism requiring particular RNA components. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(17): 7716-7729.
- [22] Nashedi N, Singaravelu R, Goodmurphy M, et al. Competing roles of microRNA-122 recognition elements in hepatitis C virus RNA. *Virology*, 2011, 410(2): 336-344.
- [23] Su TH, Liu CH, Liu CJ, et al. Serum microRNA-122 level correlates with virologic responses to pegylated interferon therapy in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(19): 7844-7849.
- [24] Koberle V, Kronenberger B, Pleli T, et al. Serum microRNA-1 and microRNA-122 are prognostic markers in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer*, 2013, 49(16): 3442-3449.
- [25] Wang K, Zhang S, Marzolf B, et al. Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(11): 4402-4407.
- [26] Bihrer V, Friedrich-Rust M, Kronenberger B, et al. Serum miR-122 as a biomarker of necroinflammation in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106(9): 1663-1669.
- [27] Gillon J, Hussey AJ, Howe SP, et al. Post-transfusion non-A, non-B hepatitis: significance of raised ALT and anti-HBc in blood donors. *Vox Sang*, 1988, 54(3): 148-153.
- [28] Butt AM, Raja AJ, Siddique S, et al. Parallel expression profiling of hepatic and serum microRNA-122 associated with clinical features and treatment responses in chronic hepatitis C patients. *Sci Rep*, 2016, 6: 21510.
- [29] Wang JH, Jiang D, Rao HY, et al. Absolute quantification of serum microRNA-122 and its correlation with liver inflammation grade and serum alanine aminotransferase in chronic hepatitis C patients. *Int J Infect Dis*, 2015, 30: 52-56.
- [30] Zhang Y, Jia Y, Zheng R, et al. Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases. *Clin Chem*, 2010, 56(12): 1830-1838.
- [31] Yamaura Y, Nakajima M, Takagi S, et al. Plasma microRNA profiles in rat models of hepatocellular injury, cholestasis, and steatosis. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30250.
- [32] Starkey LPJ, Dear J, Platt V, et al. Circulating microRNAs as potential markers of human drug-induced liver injury. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1767-1776.
- [33] Laterza OF, Lim L, Garrett-Engele PW, et al. Plasma MicroRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury. *Clin Chem*, 2009, 55(11): 1977-1983.

(2017-03-04 收稿, 05-23 修回)

本文编辑: 蔡辉

HEV 保护性抗体的制备与功能研究*

许纪玲^{1,2} 蔡杰^{1,2} 何苗^{1△#} 杨永林^{2△#}

(1.中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所,成都 四川 610052;2.南京红十字血液中心)

摘要:目的 研究基于戊型肝炎病毒中和表位(p179)的小鼠单克隆抗体的 HEV 中和保护作用。**方法** 构建含 HEV 中和表位 p179 基因的真核表达质粒 venus-179,以尾静脉注射方法对 BALB/c 小鼠实施基因免疫,ELISA 法检测免疫后小鼠血清中抗体应答水平,通过单克隆抗体的方法制备 HEV 抗体,通过 C3A 细胞株人 HEV 细胞感染模型,采用 RT-PCR 法检测中和试验后保护性抗体的中和活性。**结果** 成功制备了 6 株针对戊型肝炎病毒中和表位(p179)的抗体,其中抗体株 2G8F9 能有效中和 HEV 病毒,证实其产生的特异性抗体能够有效阻断 HEV 感染易感细胞 C3A,具有中和 HEV 的活性。**结论** 戊型肝炎病毒中和表位(p179)的基因疫苗 venus-179 免疫小鼠制备的单克隆抗体具有中和作用的免疫应答。

关键词:戊型肝炎病毒,基因免疫,中和表位,中和作用

中图分类号:R512.6⁺5 R446 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0459-04

Preparation and function study of HEV protective antibody XU Jiling^{1,2}, CAI Jie^{1,2}, HE Miao¹, YANG Yonglin². Institute of transfusion medicine, chinese Academy of Medical Sciences, Cheng du, 610052, China; 2. Nanjing Red cross Blood Center. Co-Corresponding authors: HE Miao, YANG Yonglin

Abstract: Objective To research whether the monoclonal antibodies in mice based on genetic Immunization of HEV neutralization epitope (p179) could induce neutralizing antibody response. **Methods** The neutralization epitope HEV-p179 coding gene was subcloned into a eukaryotic expression vector venus to construct recombinant plasmid venus-179. BALB/c mice was immunized with tail intravenous injection method, Detecting the level of antibody response of mice after Immunization by ELISA, Human HEV cell infection model by C3A cell line, Detection of neutralizing activity of protective antibody after neutralization test by RT-PCR. **Results** Antibodies to hepatitis E virus neutralizing epitope p179 of 6 strains were prepared, the antibody 2G89F9 can effectively terminate HEV virus, demonstrated the antibody could effectively prevent HEV infecting susceptible cells C3A, and equipped with neutralizing activity against HEV infection. **Conclusion** We found that the monoclonal antibodies in mice based on genetic Immunization of HEV neutralization epitope (p179) could induce neutralizing antibody immune response.

Key words: hepatitis E virus; genetic immunization; neutralization epitope; neutralization

戊型肝炎 (hepatitis E, HE) 是由戊型肝炎病毒 (hepatitis E virus, HEV) 感染而引起的急性自限性病毒性肝炎,具有发病急、病状重、特别是孕妇中的 HE 死亡率高等特点^[1]。戊型肝炎主要是 HEV 经粪口传播引起的病毒性肝炎,然而近年来陆续报道了一些通过输血传播的病例,虽然通常情况下戊型肝炎是急性自限性疾病,但患者若处于免疫抑制状态(如器官移植、肿瘤化疗或 HIV 感染等),感染 HEV 后,会发展成为慢性肝炎,并有可能迅速发展成肝纤维化或肝硬化,由于这些患者常常需要多次输血,更加大了 HEV 感染的风险。HEV 为无包膜病毒,能抵抗酸、蛋白酶、去垢剂等作用。目前针对血液产品发展的病毒灭活技术仅对有包膜病毒起作用,如 HBV、HCV、HIV 等。Hauser 等报道了 2 例患者

在接收经过灭活处理血液产品后发生 HEV 的感染^[2]。虽然临床上戊肝发病率并不高,但综合许多大规模的流行病学调查,WHO 估计全球有 1/3 的人口曾感染过 HEV,由于存在很多隐性感染者,经无症状的献血者传播戊肝成为另一个重要传播途径^[3]。另有数据表明在献血者人群中 HEV 的阳性率同样很高^[4-6]。在国内也有很多地方性 HEV 感染的报道和综合分析^[7]。

HEV 病毒基因组包含 3 个相互重叠的开放读码框架 (opening reading frame, ORF) ORF1、ORF2、ORF3。其中 ORF1 主要编码与 HEV 复制相关的非结构蛋白,ORF3 编码产物为磷酸化蛋白,与细胞的支架及 HEV 的特异性免疫活性有关。而 ORF2 编码 1 个含有保护性中和抗原表位的病毒衣壳蛋白,具有高保守及高免疫原性,为主要的结构基因编码区,是机体抗-HEV 保护性体液免疫应答的主要靶抗原^[8-9]。

目前 HE 尚无特效的抗病毒治疗药物,因此,HEV 疫苗的研制受到人们的重视^[10],HEV 疫苗的关键是能否诱导出具有保护性作用的中和抗体。

本研究根据东南大学 Meng^[11]报道,P179 是能在真核细

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 05. 005

* 基金项目:南京市医学科技发展项目 (ZKX15051);#共同通信作者:何苗(1981.10-),男,副研究员,硕士生研究生导师,主要从事输血安全领域研究,电话:028-61648552,Email:messal022@126.com;杨永林(1963.03-),男,副主任医师,主要研究方向为血液安全研究,电话:025-83476663,Email:easing@163.com

胞有效表达的、最短的、含中和抗原表位的多肽(位于 ORF2 编码蛋白第 439-617 位氨基酸),这为研制基于中和表位的 HEV 基因疫苗奠定了基础。目前,已有多个不同基因型及不同种属来源的 HEV ORF2 片段在大肠杆菌中成功表达,但是只有少数表达产物具有免疫原性或保护作用。本实验首先优化并基因合成 ORF2 中最小产生保护性抗体的抗原基因,并将其克隆入 *venus* 真核表达载体中,采用 DNA 免疫的方法尾静脉免疫小鼠,常规方法制备单克隆抗体,并用抗体中和后的 HEV 感染易感细胞 C3A,经过培养后,采用 RT-PCR 法检测中和实验后保护性抗体的中和活性。

1 材料与与方法

1.1 菌株、质粒和细胞株 DH5 α 感受态细胞(天根, CB101-02)、真核表达载体 *venus* 和 293T 细胞(江苏省人民医院传染病科提供)、C3A 细胞^[12](是 HepG2 系的一个亚克隆株,具有感染 HEV 的能力,由美国马里兰大学实验室提供)和 Kernow 细胞^[12](在 C3A 的基础上能够持续感染 III 型 HEV,也是由美国马里兰大学实验室提供)。

1.2 试剂 TiAnpure Midi Plasmid Kit 质粒提取试剂盒(天根, DP107), Polyfect Transfection Reagent 转染试剂盒(QIAGEN, CAT NO. 301105), Mirus 体内转染试剂(Lot41113668)

1.3 重组质粒 *venus-179* 的构建与鉴定 构建真核表达载体 *venus-179*, *venus* 载体带有 GFP 标签,可以和 P179 基因共表达,转染 293T 细胞,按照 Polyfect Transfection Reagent 转染试剂盒操作说明书进行转染(QIAGEN, CAT NO. 301105), *venus* 作为空白对照同步转染,在荧光显微镜下观察,确定 P179 抗原的表达情况。

1.4 实验动物和基因免疫 7 周龄、18-20 g 体重的雌性 BALB/c 小鼠,购自扬州大学比较医学中心。以免疫 *venus-179* 重组质粒为实验组,空白质粒 *venus* 为对照组,实验组免疫 5 只,空白对照组免疫 2 只,采用尾静脉注射,质粒浓度 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,免疫剂量每只小鼠 10 μgDNA ,体内转染试剂 2.09 mL,共 2.1 mL,按照 Mirus 体内转染试剂方法操作,每次免疫间隔 2 周,共免疫 4 次,定期采集小鼠血清,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

1.5 免疫小鼠血清特异性抗-HEV 的效价检测 采用常规 ELISA 法,以纯化好的 p179 蛋白(东南大学孟继鸿教授赠送)包被 96 孔酶标板,浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每孔 100 μL ,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,洗 5 次,1%的 BSA 37 $^{\circ}\text{C}$,封闭 1 h,每孔 200 μL ,弃上清。将小鼠血清以 1:200 开始稀释,做梯度倍比稀释,每孔 100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育,1 h,洗 5 次,加入 HRP 标记的羊抗小鼠 IgG 作为二抗,每孔 100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育,1 h,洗板,显色,终止反应,酶标仪检测其 OD 值。

1.6 小鼠单克隆抗体的制备 选择效价高的小鼠,取脾脏,分离脾细胞,取对数生长期的骨髓瘤细胞按常规比例混合于融合管中,常规融合,10 d 后进行抗体检测,选择阳性克隆孔;将检测确认为目的克隆的细胞进行亚克隆,经过 3 次亚克隆待阳性克隆达到 100% 一致结果后,扩大培养阳性克隆;

1.7 腹水的制备 腹水制备采用降植烷诱导腹腔法,选择雌性的 BABL/c 经产小鼠,先给小鼠腹腔注射 0.5 mL 的降植

烷或者石蜡,1 周之后,每只小鼠腹腔注射 1×10^6 个杂交瘤细胞,待小鼠腹部显著膨胀,取其腹水。

1.8 亚类鉴定、纯化 采用 ELISA 法,按照商品化的亚类鉴定试剂盒进行抗体的亚类鉴定(小鼠单抗 Ig 类/亚类鉴定用 ELISA 试剂盒,洛阳赛尔维生物制品有限公司);腹水的纯化是用 ProteinA 亲和纯化进行(GenScript Cat. No. L00210)。

1.9 抗体免疫荧光检测 在铺有玻片的细胞培养板中常规接种 Kernow 细胞,待其长到 90% 底面积时,加入一抗(HEV 纯化后的单克隆抗体),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育,1 h, PBS 洗片 5 次,加入 APC 标记的二抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h, PBS 洗片 5 次,加上封片液封片,荧光显微镜下观察。

1.10 制备的特异性抗体体外中和作用的检测 常规培养人肝癌细胞 Kernow,收集细胞病毒上清,病毒上清用 100KD 的超滤柱 20-25 倍浓缩,取 200 μL 作为中和病毒的使用量,与制备好的单克隆抗体 5 μg 混合,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育,2 h,接种到易感细胞 C3A 中,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育,2 h, PBS 洗 3 次,常规培养细胞,收集 d 8 细胞上清,按常规方法提取核酸(TakaRa MiniBEST Viral RNA/DNA),采用 RT-PCR 法检测中和实验后保护性抗体的中和活性。同时取同样量的病毒 200 μL 两份,1 份经 56 $^{\circ}\text{C}$ 灭活,2 h,后加入 C3A 细胞作为阴性对照,另 1 份不经处理,直接加入 C3A 细胞中作为阳性对照。结果判定:以 RT-PCR 检测结果阴性者为中和抗体阳性。

2 结果

2.1 重组质粒 *venus-179* 体外表达检测 转染质粒 *venus-179* 和空质粒 *venus* 到 293T 细胞中。*venus* 载体带有 GFP 标签,可以和 P179 基因共表达,24 h 后在荧光显微镜下可见绿色荧光,空质粒 *venus* 不能观察到绿色荧光(图 1,2)。

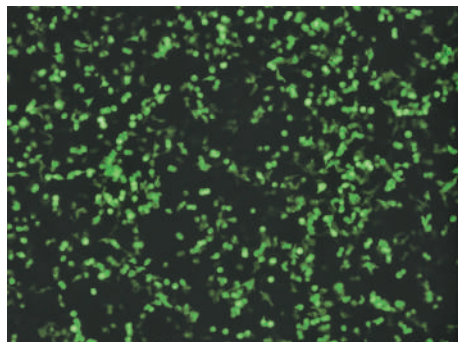


图 1 *venus-179* 质粒转染到 293T 细胞中

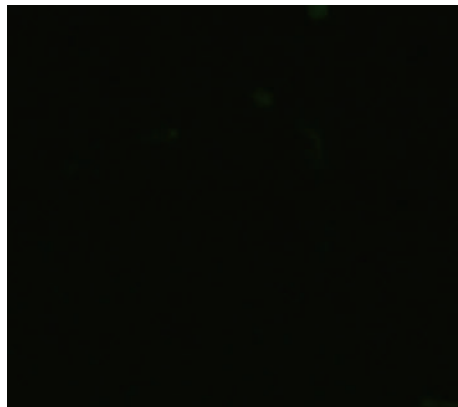


图 2 *venus* 空质粒转染到 293T 细胞中

2.2 重组质粒 venus-179 和空质粒 venus 免疫小鼠血清效价检测 由表 1 可见: venus-179 重组质粒 4 次免疫后诱导机体产生了特异性抗-HEV,并于第 6 周抗体水平达高峰,与空质粒 venus 免疫组比较差异有统计学意义 (A_{450nm} : venus-179 组=0.460±0.12, venus 组=0.14±0.05, $P<0.001$),提示基于中和表位 p179 的基因免疫能成功诱导小鼠体产生特异性的免疫应答。

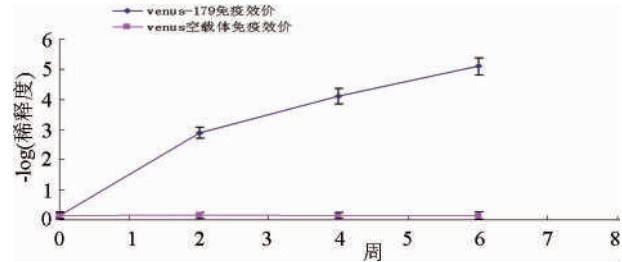


表 1 venus-179 和 venus 空质粒经过 4 次免疫采血检测的效价

2.3 亚类鉴定结果 采用商品化的亚类鉴定试剂盒对 6 株单克隆抗体制备的小鼠腹水进行亚类鉴定,其中抗体株 2G8F9 主要是针对的 IgG 型,而其他几株主要是针对 IgM 型,其亚类鉴定结果如免疫荧光检测。按照上述 1.9 中的抗体免疫荧光检测方法,荧光显微镜下观察,抗体株 2G8F9 在荧光显微镜下观察到红色荧光,而其他抗体株不能与抗原结合,故荧光显微镜下不能观察到红色荧光,DAPI 进行细胞核染色(图 3,4)。

表 2 将采集的小鼠腹水亚类鉴定

	IgG1	IgG3	IgG2a	IgG2b	IgA	IgM
2G8F9	0.716	0.428	0.716	1.425	0.401	0.149
阴性	0.015	0.018	0.015	0.020	0.014	0.012
阳性	0.400	0.509	0.424	0.322	0.549	0.550

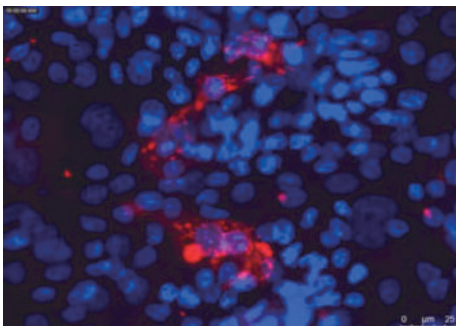


图 3 抗体株 2G8F9 与 kernow 细胞 37℃,孵育 1 h,二抗为 APC 标记,DAPI 进行细胞核染色

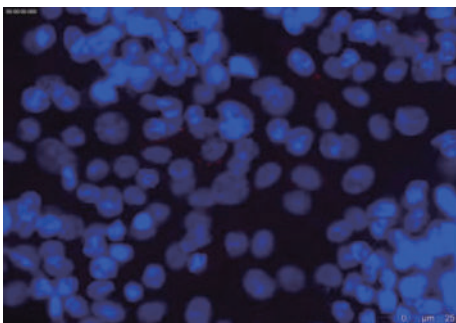


图 4 其他抗体株与 Kernow 细胞 37℃,孵育 1 h,二抗为 APC 标记,DAPI 进行细胞核染色

2.4 细胞攻毒试验检测结果 实验结果阴性对照 CT 值大概在 35 左右,阳性对照的 CT 值大概在 28 左右,抗体 2G8F9 中和病毒后,侵染 C3A 细胞,其 CT 值在 35 左右,判定为阴性,说明抗体能够中和病毒,以 RT-PCR 检测结果可知抗体株 2G8F9 为中和抗体阳性(表 3)。

表 3 细胞攻毒试验后 d 8 细胞上清中 RNA 的 RT-PCR 法检测结果

标本	CT 值
C3A 细胞上清	34.609 5
200 μL Kernow 浓缩上清	28.878 1
Kernow 浓缩上清+C3A	29.697
灭活 Kernow 上清+C3A	35.055 6
Kernow 上清+5 μg 2G8F9+C3A	35.205 4

3 讨论

HEV 感染表现形式主要有:临床急性感染、亚临床感染及慢性持续性感染。正常人群中亚临床感染占绝大多数,主要表现为无症状,感染后仅血清学能证实其曾有过 HEV 的感染,而此部分人群正是采供血中 HEV 感染的主要源头。慢性持续性感染主要为免疫功能不全人群,该人群受血机率大,是 HEV 经血感染的主要风险人群。由于 HEV 缺乏合适的细胞培养系统,目前关于 HEV 的灭活或者减毒疫苗还没研制成功。

据卫生部发布的传染病疫情公布,近年来我国 HE 发病数呈现连续增长的趋势,死亡率也在逐年增加,已被列为 HE 发病和死亡而引起的经济负担最为严重的国家之一,另外,越来越多的资料报道显示,HE 是 1 种人畜共患的传染病,构成严重的公共问题,因此研究和开发预防性疫苗具有重要的理论意义和现实意义,世界卫生组织已将 HE 疫苗推荐为 21 世纪最优先发展的疫苗之一。

目前研究者已应用多种表达系统对 ORF2 编码的蛋白进行了性质的研究,包括:1)原核大肠杆菌表达^[13-16];2)重组杆状病毒载体的昆虫表达系统^[17-19];3)重组痘苗病毒和 a 病毒转染的动物表达系统^[20-22]。本实验采用 DNA 免疫小鼠,DNA 免疫又称核酸免疫,是近年来发展起来的 1 种新型的免疫手段,该免疫方法性质稳定,制备方式也相对比较简单,能够引起体液免疫和细胞免疫应答,并且其保护作用可维持较长一段时间,鉴于 DNA 疫苗的以上优点,该方法逐渐成为 HEV 疫苗研制的另 1 个热点。该实验采用真核表达的 DNA 疫苗免疫小鼠,且免疫原的制备较容易获得,用原核表达蛋白包被检测,避免了同源的干扰。

本研究根据东南大学 Meng^[11]报道,P179 是能在真核细胞有效表达的、最短的、含中和抗原表位的多肽(位于 ORF2 编码蛋白第 439-617 位氨基酸),这为研制基于中和表位的 HEV 基因疫苗奠定了基础。同时使所实施的基因免疫减少其他非中和性免疫优势表位的干扰,以及其他无关或抑制序列的负作用,最大限度的发挥 HEV 中和抗原表位的免疫优势,诱导以产生抗-HEV 中和抗体为主的免疫应答。

本实验共获得了 6 株单克隆抗体,抗体株 2G8F9 在荧光免疫检测时能够很好的与抗原结合,在细胞攻毒试验时抗体株 2G8F9 在与浓缩的 Kernow 病毒上清孵育后,在与人肝癌

细胞 C3A 吸附后,收集 d 8 细胞上清,提取病毒 RNA。实验结果阴性对照 CT 值大概在 35 左右,阳性对照的 CT 值大概在 28 左右,抗体 2G8F9 中和病毒后,感染 C3A 细胞,其 CT 值在 35 左右,判定为阴性,说明抗体能够有效中和病毒,以 RT-PCR 检测结果可知抗体株 2G8F9 为中和抗体阳性。说明 venus-179 基因免疫诱导的特异性抗体能够在体外中和 HEV 病毒,说明该抗体对于 HEV 病毒有一定的中和作用,其对于 HE 的预防也是有免疫保护作用的,同时我们也注意到与以往的蛋白免疫相比,质粒免疫的抗体水平仍然很低,在今后的研究中有必要进一步分析 venus-179 基因免疫诱导的免疫应答的类型,使用各种有效的免疫增强策略,进一步提高基因免疫诱导的特异性免疫应答水平。

参 考 文 献

- [1] Balayan MS. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the faecal-oral route. *Intervirology*, 1983, 20(1) : 23-31.
- [2] Hauser L, Roque-Afonso AM, Beylouné A, Hepatitis E transmission by transfusion of Intercept blood system-treated plasma. *Blood*, 2014, 30, 123(5) : 796-797.
- [3] Bajpai M, Gupta E. Transfusion-transmitted hepatitis E; is screening warranted. *Indian J Med Microbiol*, 2011, 29(4) : 353-358.
- [4] Dreier J, Juhl D. Autochthonous hepatitis E virus infections; a new transfusion-associated risk? *Transfus Med Hemother*, 2014, 41(1) : 29-39.
- [5] Juhl D, Baylis SA, Blümel J. Seroprevalence and incidence of hepatitis E virus infection in German blood donors. *Transfusion*, 2014, 54(1) : 49-56.
- [6] Wang M, Fu P, Yin Y, et al. Acute, recent and past HEV infection among voluntary blood donors in china: a systematic review and meta-analysis. *Plos One*, 2016, 11(9) : e0161089.
- [7] Cleland A, Smith L, Crossan C, Hepatitis E virus in Scottish blood donors. et al. *Vox Sang*, 2013, 105(4) : 283-289.
- [8] Kamar N, Bendall R, Legrand-Abraham F, et al. Hepatitis E. *Lancet*, 379(9835) : 2477-2488.
- [9] 李少伟,张军,何志强.大肠杆菌表达戊型肝炎病毒 ORF2 片段的聚合现象研究. *生物工程学报*, 2002, 18(4) : 463-467.
- [10] Jameel S, Durgapal H, Habibullah CM, et al. Enteric non-A, non-B hepatitis; epidemics, animal transmission and hepatitis E virus detection by polymerase chain reaction. *J Med Virol*, 1992, 37(4) : 263-270.
- [11] Meng JH. Topology of the hepatitis E virus. *Virology*, 2001, 288() : 203-211.
- [12] Nan Y, Zhang YJ. Molecular biology and infection of hepatitis E virus. *Frontiers in Microbiol*, 2016, 7(25133), 起页-末页.
- [13] Panda SK, Nanda SK, Zafrullah M, et al. An Indian strain of hepatitis E virus: cloning sequence, and expression of structural region and antibody responses in sera from individuals from an area of high-level HEV endemicity. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(10) : 2653-2659.
- [14] Li TC, Yamakawa Y, Suzuki K, et al. Expression and self-assembly of empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J Virol*, 1997, 71(10) : 7207-7213.
- [15] Anderson DA, Li F, Riddell M, et al. ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in *Escherichia coli*. *J Virol Methods*, 1999; 81(1-2) : 131-142.
- [16] Li F, Riddell MA, Seow HF, et al. Recombinant subunit ORF2.1 antigen and induction of antibody against immunodominant epitopes in the hepatitis E virus capsid protein. *J Med Virol*, 2000, 60(4) : 379-386.
- [17] Purdy MA, McCaustland KA, Krawczynski K, et al. Expression of a hepatitis E virus (HEV)-trpE fusion protein containing epitopes recognized by antibodies sera from human cases and experimentally infected primates. *Arch Virol*, 1992, 123(3-4) : 335-349.
- [18] Tsarev SA, Tsarev TS, Emerson SU, et al. ELISA for antibody to hepatitis E virus based on complete open-reading frame-2 protein expressed in insect cells; identification of HEV infection in primates. *J Infect Dis*, 1993, 168(2) : 369-378.
- [19] He J, Tam AW, Yarbough PO, et al. Expression and diagnostic utility of hepatitis E virus putative structural proteins expressed in insect cells. *J Clin Microbiol* 1993; 31(8) : 2167-2173.
- [20] He J, Ching WM, Yarbough P, et al. Purification of a baculovirus-expressed hepatitis E virus structural protein and utility in an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(12) : 3308-3311.
- [21] Zhang Y, McAttee P, Yarbough PO, et al. Expression, characterization, and immunoreactivities of a soluble hepatitis E virus putative capsid protein species expressed in insect cells. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1997, 4(4) : 423-428.
- [22] Robinson RA, Burgess WH, Emerson SU, et al. Structural characterization of recombinant hepatitis E virus ORF2 proteins in baculovirus-infected insect cells. *Proteins Expr Purif*, 1998, 12(1) : 75-84.

(2017-03-04 收稿, 05-20 修回)

本文编辑:夏玲

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www. cjbt. cn

bloo. cbpt. cnki. net

追踪分析化学发光在低风险人群 HCV 感染确证中的应用*

聂冬梅 曾劲峰 孙元璋 龙洁萍 王立林[△](深圳市血液中心,广东深圳 518035)

摘要:目的 通过追踪分析化学发光在低风险人群 HCV 感染确证中的应用。**方法** 收集 102 例 ELISA1 抗-HCV 反应性献血者及 5 例追踪血液样本、100 例多次献血者阴性对照样本,补充另一种酶联免疫吸附试验(ELISA2)、重组免疫印迹试验(WB)、化学发光试验(CMIA)和 HCV RNA 定性检测,分析 CMIA 检测结果与 HCV 感染确证的关联。**结果** 以 ELISA2 及 WB 法检测结果为参考标准,CMIA 与参考标准结果高度相关(Spearman 相关系数 $r_s=0.866, P<0.01$),Kappa 检验两者一致性极强(Kappa=0.857, $P<0.01$)。追踪 5 例 CMIA 与参考标准不一致样本,5 例 ELISA²、WB、HCV RNA 均为阴性,2 例 CMIA 阳性,3 例 ELISA1 阳性。**结论** CMIA 可以较好检出低风险人群确证 HCV 感染样本,但也存在一些假阳性。

关键词: 化学发光微粒子免疫测定;重组免疫印迹试验;丙型肝炎病毒;确证感染;追踪研究

中图分类号: R512.6⁺3 R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0463-03

Estimation of application value of CMIA in validation of anti-HCV positive blood donors by tracing analysis NIE Dongmei, ZENG Jinfeng, SUN Yuanzhang, LONG Jieping, WANG Lilin. Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518035, China. Corresponding author: WANG Lilin.

Abstract: Objective To estimate the application value of CMIA in validation of anti-HCV positive blood donors by tracing analysis. **Methods** A total of 102 anti-HCV reactive cases tested by ELISA1, 5 cases of tracing blood samples and 100 cases of negative control who had donated blood for many times were enrolled in this study. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA2) and recombinant immunoblot assay (WB), chemiluminescence test (CMIA) and HCV RNA qualitative detection were used to analyze the relationship between CMIA results and HCV confirmed results. **Results** Taking the results of ELISA2 and WB as the reference standard, CMIA was highly correlated with reference standard (spearman correlation coefficient $r_s=0.866, P<0.01$), and Kappa test showed strong consistency (Kappa = 0.857, $P<0.01$). 5 followed up cases were not consistent with the reference standard, as they were negative for CMIA, WB, HCV RNA test, 2 cases were positive for CMIA, 3 cases were positive for ELISA1. **Conclusion** CMIA can be used to detect HCV infection in low-risk population, but there are some false positive results.

Key words: Chemiluminescence microparticle immunoassay; Recombinant immunoblotting assay; Hepatitis C virus; confirmation of infection; follow up study

献血人群是丙型肝炎感染的低风险人群,抗-HCV 阳性率远低于普通人群^[1],一直以来,抗-HCV 血液筛查假阳性率一直居高不下^[2]。化学发光微粒子免疫测定技术(CMIA)结合化学发光技术与磁性微粒子分离技术,具有高灵敏度、高特异性及检测快速等优点,显著减少漏诊及误诊^[3-4],在国外发达国家,很早就将化学发光法纳入到血液筛查的检测方法中^[5]。通过不断地提升针对献血者试剂特异性,CMIA 对献血者筛查的能力取得长足的进步^[6]。本文通过追踪抗-HCV 阳性献血者,分析 CMIA 与抗-HCV 确证结果之间的关联,对 CMIA 在低风险人群 HCV 感染确证应用积累基础数据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集本中心 2013 年 9 月-2014 年 6 月无偿

献血者进口酶联免疫吸附试验(ELISA1)抗-HCV 阳性血液标本 102 例,其中男 65 例,女 37 例;19-51 岁,平均年龄 32 岁。血浆分装冻存于-80℃冰箱。

1.2 血清学检测 常规标本检测使用进口意大利 SORIN HBsAg ELISA 检测试剂(批号:D188810,D166710)、美国强生 ORTHO 抗-HCV V 3.0ELISA 检测试剂(批号:EXE228、EXE233,文中称 ELISA1)、意大利 SORIN 抗-HCV ELISA 检测试剂(批号:U925610,文中称 ELISA2)、美国伯乐 Gen-screens ULTRA 抗-HIV ELISA 检测试剂(批号:3B0249、3K0272)、新加坡 MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd 公司丙型肝炎病毒抗体补充试剂盒(批号:AD4009、AD5007)、美国雅培贸易上海有限公司 HCV 抗体测定试剂盒(批号:64414LI00)。雅培 Architech i2000 全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培贸易上海有限公司);FAME24/30 酶免疫检测仪器(瑞士 HAMILTON);TECAN RSP/200 酶免疫加样仪器(瑞士 TECAN)。

1.3 核酸 3 项联检及 HCV RNA 定性检测 西班牙 Grifols (原美国诺华公司)全自动核酸检测平台:Procleix Tigris 核酸

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.006

* 基金项目:深圳市科技创新委员会项目(JCYJ20140403093211510),深圳市科卫生计生系统科研项目(201401074);△通信作者:王立林(1979.07-),女,助理研究员,副主任检验技师,主要研究方向为输血安全,联系电话:0755-83366336-403,Email:lilywang0724@163.com

检测系统(Procleix Tigris System, 西班牙 Grifols), 血浆 HBV/HCV/HIV 核酸 3 项联检试剂盒 Procleix Ultrio Assay (批号 036074961509132, 036247751509149)。核酸鉴别试剂盒 Discriminatory Assay (批号 036074961509132, 036247751509149)。

1.4 结果判定 抗-HCV 检测 COI 比值>1.0 样本经双孔复试, 复试中有 1 孔反应性则判为反应性, 复试均为阴性则判定为阴性。RIBA 试验、CMIA 的操作、判断标准参考说明书。以 ELISA2 及 WB 法检测结果为参考标准, ELISA1 检出抗-HCV 反应性献血者 ELISA2 反应性且 WB 法阳性(ELISA2+/WB+) 样本定义为确证阳性; ELISA2 非反应性且 WB 法阴性(ELISA2-/WB-) 样本定义为确证阴性。WB 试验不确定结果不纳入分析。

1.5 献血者追踪 6 个月后, 对抗-HCV 反应性献血者中 CMIA 与参考标准不一致样本进行追踪, 补充 ELISA1、ELISA2、HCV RNA、WB、CMIA 检测。

1.6 统计学处理 应用 SPSS19.0 软件, 采用 Kappa 检验比较两种试剂盒检测结果一致性, Spearman 系数进行相关性分析, χ^2 检验分析差异性, Fisher 确切概率法计算概率, $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 以 ELISA2 及 WB 法检测结果为参考标准, 评价 CMIA 检测结果的符合情况 CMIA 试剂检测结果与参考标准结果符合情况见表 1。CMIA 与参考标准结果高度相关 (Spearman 相关系数 $r_s = 0.866, P < 0.01$), Kappa 检验两者一致性极强 (Kappa = 0.857, $P < 0.01$)。灵敏度 100%, 特异性 91.47%, 阳性预测值 81.97%, 阴性预测值 100%。

表 1 CMIA 试剂检测结果与 ELISA2 及 WB 法检测结果符合情况

CMIA	参考标准		
	ELISA2+/WB+	ELISA2-/WB-	
+	50(TP)	11(FP)	61
-	0(FN)	118(TN)	118
	50	129	179

2.2 CMIA 与参考标准不一致样本追踪结果 11 例 ELISA2-/WB- 而 CMIA+ 样本成功追踪 5 例, 5 例 ELISA2、WB、HCV RNA 均为阴性, 2 例 CMIA 阳性, 3 例 ELISA1 阳性。

表 2 CMIA 与参考标准不一致样本追踪结果

样本编号	CMIA	HCV RNA	ELISA1	core	NS3	NS4-1	NS4-2	NS5	WB	ELISA2
2	8.52	-	3.25	-	-	-	-	-	-	0.21
F2	4.73	-	2.1	-	-	-	-	-	-	0.25
8	7.09	-	3.88	-	-	-	-	-	-	0.23
15	1.58	-	1.82	-	-	-	-	-	-	0.23
F15	0.75	-	0.82	-	-	-	-	-	-	0.22
20	1.2	-	1.22	-	-	-	-	-	-	0.28
31	2.1	-	1.49	-	-	-	-	-	-	0.2
42	1.34	-	1.59	-	-	-	-	-	-	0.24
F42	0.07	-	0.43	-	-	-	-	-	-	0.18
51	1.93	-	1.57	-	-	-	-	-	-	0.28
66	3	-	2.15	-	-	-	-	-	-	0.24
80	2.74	-	1.39	4+	-	-	-	-	-	0.16
F80	1.8	-	1.28	3+	-	-	-	-	-	0.15
81	2.96	-	1.06	-	2+	-	-	-	-	0.34
F81	0.69	-	1.01	-	1+	1+	-	-	-	0.21
85	7.68	-	4.07	-	-	-	-	-	-	0.24

F: follow up

3 讨论

CMIA 包被磁性颗粒在磁场的作用中下沉很快, 便于洗涤和分离, 达到最大发光信号峰值的时间更短, 灵敏度更高^[7]。目前 HCV 感染确证尚缺乏统一明确金标准, 给抗-HCV 阳性献血者结果解释、假阳性者归队带来技术难题。CMIA 对假阳性率较高的抗-HCV 确证具体作用需要在实际筛查中逐步探明。文章通过多种血清学检测方法对 ELISA1 检出抗-HCV 反应性样本重复检测, 以 ELISA2 及 WB 法检测结果为参考指标, 设立较为严苛的抗-HCV 确证判断标准对 CMIA 检测结果进行分析。我们将 ELISA1 检出抗-HCV 反应性献血者 ELISA2 反应性且 WB 法阳性(ELISA2+/WB+) 样本定义为确证阳性; ELISA2 非反应性且 WB 法阴性(ELISA2-/WB-) 样本定义为确证阴性。多角度的比对也是一个互相印证的过程^[8]。结果 CMIA 与参考标准结果高度相关, 两者一致性极强。提示 CMIA 可以较好检出低风险人群确证

HCV 感染样本。不过, 因为本研究中仅包括 102 例 ELISA1 试剂的筛查反应性标本, 数量偏少, 对总体样本的代表性较差, 同时, 最终结果还与统计中纳入的阴性对照数、阳性样本数有关, 因此, 100% 灵敏度, 91.47% 的特异性结果有待进一步大规模多中心研究进行校正。另外, 本研究中用到的进口化学发光试剂主要针对欧洲人群研发, 欧洲与东亚各国 HBV、HCV 流行的基因型是有很大区别的^[9], 对不同基因型产生的抗体检测效果也需要在更多实际筛查来判断。

研究追踪了 CMIA 与参考标准不一致样本, 成功追踪的 5 例样本中 ELISA2、WB、HCV RNA 均为阴性, 2 例 CMIA 阳性, 3 例 ELISA1 阳性。作为临床 HCV 感染诊断的金标准, HCV RNA 阳性得到的结论是 HCV 病毒现症感染, 不一致样本均为 HCV RNA 阴性, 提示血清学检测不一致样本主要集中在已将 HCV RNA 清除后的既往感染, 这与我们既往研究的结论一致^[10-11]。最终追踪样本中抗原抗体反应逐步减弱, 反映在 ELISA1 和 ELISA2 追踪样本的 COI 值较第一次检

测值降低, CMIA 检测值也有降低, WB 条带减弱, 类似于 RIBA 不确定者、慢性携带者到感染自愈者的检验结果变化^[12]。表 2 中只有 2 例 CMIA 阳性, 其余 3 例阴性 ELISA2、WB、HCV RNA 也均为阴性, 推测这 3 例是 CMIA 检测的假阳性样本。化学发光存在假阳性结果在 2014 年意大利的一份研究结果中就已经做过报道, 不同的试剂公司假阳性情况也各不相同^[13]。

文中研究数据预示 CMIA 可以在一定程度担当 HCV 感染的确证标记物, 但 HCV 最终的感染状态还是应当结合多种检测手段及追踪资料。本课题组对部分抗-HCV ELISA1 阳性献血者进行追踪随访, 并补充所有检测项目, 由于人数较少, 尚缺乏统计学意义, 在今后的工作中, 继续完善追踪资料, 动态观察不同参考标准和 CMIA 检测结果, 更有利于选择可靠稳定的 HCV 感染确证方法。

参 考 文 献

[1] Cui Y, Jia J. Update on epidemiology of hepatitis B and C in China. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28 Suppl 1(7-10).

[2] Agyeman AA, Ofori-Asenso R, Mprah A, et al. Epidemiology of hepatitis C virus in Ghana: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*, 2016, 16(391).

[3] Kiely P, Wilson D. Results of HCV screening of volunteer blood donors with a chemiluminescent immunoassay and a second- or third-generation EIA: overlap of false-positive reactivity and its impact on donor management. *Transfusion*, 2000, 40(5):580-584.

[4] Wang L, Chen W, Yu Y. The Performance of the Abbott i2000 for Measuring Serum Markers of Infectious Diseases. *J Clin Lab Anal*, 2017, 31(1):

[5] Zuck TF. Decisions on screening for viral markers in blood donors.

Dev Biol Stand, 1993;81,91-100.

[6] Jonas G, Pelzer C, Beckert C, et al. Performance characteristics of the ARCHITECT anti-HCV assay. *J Clin Virol*, 2005, 34(2):97-103.

[7] Brate EM, Finley DM, Grote J, et al. Development of an Abbott ARCHITECT cyclosporine immunoassay without metabolite cross-reactivity. *Clin Biochem*, 2010, 43(13-14):1152-1157.

[8] Rabenau H, Schütz R, Berger A, et al. How accurate is serologic testing of plasma pools for hepatitis B virus surface antigen, anti-human immunodeficiency virus 1 and 2, and anti-hepatitis C virus. *Infusionsther Transfusionsmed*, 1996, 23(3):124-130.

[9] Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20(3):426-439, table of contents.

[10] 王立林, 孙元璋, 龙洁萍, 等. 国产与进口 RIBA 试剂试验结果分析及随访研究. *中国输血杂志*, 2016, 29(12):1336-1339.

[11] 曾雪珍, 孙亚纯, 孙元璋, 等. 一种国产 HCV RIBA 试剂性能评价. *中国输血杂志*, 2016, 29(6):577-580.

[12] Makuria AT, Raghuraman S, Burbelo PD, et al. The clinical relevance of persistent recombinant immunoblot assay-indeterminate reactions: insights into the natural history of hepatitis C virus infection and implications for donor counseling. *Transfusion*, 2012, 52(9):1940-1948.

[13] Sommese L, Sabia C, Paolillo R, et al. Screening tests for hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus in blood donors: evaluation of two chemiluminescent immunoassay systems. *Scand J Infect Dis*, 2014, 46(9):660-664.

(2017-03-04 收稿, 04-15 修回)

本文编辑: 李弘武

2017 年本刊专题报道

临床用血全面质量管理体系与智能信息化(上)
临床用血全面质量管理体系与智能信息化(下)
HTLV 与血液筛查策略
血站能力建设(上)
血站能力建设(下)
4℃ 冷藏保存血小板体外实验研究
输血传染病
高原输血与耐缺氧机制研究

Rh 血型系统基础与临床
细胞研究及治疗
准确报告抗筛结果 提高安全有效输血水平
单采治疗临床应用
临床输血评价
海军远海岛礁血液保障
单采深度自体储血
烧伤输血

· 论著 ·

献血者 HEV 感染后 VP13 抗体的免疫应答研究*

蔡杰^{1,2} 许纪玲^{1,2} 何苗^{1△#} 杨永林^{2△#}

(1.中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所,成都 四川 610052;2.南京红十字血液中心)

摘要:目的 调查南京地区献血者的 HEV 感染情况,对感染者的 VP13 抗体免疫水平进行分析研究;利用 VP13 抗体的型特异性,进行毒株分型。**方法** 采用 ELISA 法,检测献血者标本的 HEV-IgM、HEV-IgG;对筛选到的 HEV-IgM 阳性标本进行 HEV RNA 核酸检测;使用 I-IV 型 HEV-VP13 抗原包被 ELISA 板,检测患者血清中 VP13 抗体型别;对 VP13 抗体阳性的标本进行 western blot 验证,确证标本中 VP13 抗体的特异性。**结果** ELISA 检测献血者合格标本 5 256 份,其中 HEV-IgM 阳性为 99 份(1.88%),HEV-IgG 阳性为 1 624 份(30.9%),HEV-IgM 和 HEV-IgG 合并阳性为 72 份(1.37%)。HEV-IgM 阳性标本中,检测到 HEV RNA 阳性标本 1 份(0.019%);HEV-VP13 抗体阳性 42 份,占 HEV-IgM 阳性比 42.4%。全部为基因 I 型和 IV 型,I 型 13 例(30.9%),IV 型 37 例(88.1%),I 型、IV 型合并感染者 8 份(19%)。**结论** 南京地区献血人群的合格血液中,能检测到 HEV 的多项标志物,存在 HEV 的传染风险。基于 I-IV 型 VP13 抗体的免疫学检测,可用于区分 HEV 毒株的型别,对 HEV 感染确认具有重要意义。

关键词:戊型肝炎病毒,献血者,VP13 抗体,基因分型,血液安全

中图分类号:R457.1 R512.6⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0466-04

Study on the antibody immune responses against HEV VP13 in blood donors CAI Jie^{1,2}, XU Jiling^{1,2}, HE Miao¹, YANG Yonglin². 1. Institute of transfusion medicine, Peking Union Medical college, Chinese Academy of Medical Sciences, Chengdu, 610052, China; 2. Nanjing Red cross Blood Center. Co-corresponding authors: HE Miao, YANG Yonglin.

Abstract: Objective To explore the HEV infection in blood donors in Nanjing, to investigate the immune response of VP13 antibody, and to define the HEV genotype by the specific response to the VP13 antibody. **Methods** The collected samples from blood donors were detected for HEV-IgM, HEV-IgG by ELISA. If HEV-IgM was positive, the HEV-RNA was detected by nucleic acid test. The typing of HEV was tested by ELISA which were coated with different VP13 antigens from I to IV. After the detection of VP13 antibody, the Western Blot would be carried out to confirm the specificity of antibody. **Results** 99 (1.88%) HEV-IgM positive samples and 1 624 (30.9%) HEV-IgG positive samples were detected in 5 256 qualified samples by ELISA. 72 (1.37%) samples were both HEV-IgM and HEV-IgG positive. The prevalence is 1.37%. 1 (0.019%) HEV-RNA positive sample was detected in all HEV-IgM positive samples. By the testing of anti-VP13, 42 (42.4%) positive samples were detected in HEV-IgM positive samples. The genotypes of anti-VP13 were genotype I and genotype IV. 13 (30.9%) samples were genotype I, 37 (88.1%) samples were genotype IV, and 8 (19%) samples were infected by both genotype I and genotype IV. **Conclusion** In the qualified samples from health blood donors in Nanjing, HEV markers can be detected. The HEV infection risk exists in healthy blood donors. With further detection, the genotype of HEV can be defined by the immune response of different VP13 antigens from I to IV, and carries important significance in defining HEV infection.

Key words: Hepatitis E virus; blood donor; VP13 antibody; genotyping; blood safety

戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)是引起戊型肝炎的主要病原体。根据世界卫生组织统计,全球每年大约有 2 000 万人感染戊型肝炎,300 多万急性戊肝病例,5.66 万例与戊肝有关的死亡^[1-2],发病人群以青壮年为主,老人,孕妇感染 HEV 的危害更高,病情重病死亡率^[3-4]。

戊型肝炎主要暴发于发展中国家,通过水源的人畜粪便

污染进行传播。随着国内卫生条件的改善和人民生活水平的提高,现主要以散发及局部暴发为主。同时也发现了新的传播途径,反复输血人群和血液透析患者中的 HEV 阳性率高^[5]。欧洲和日本报道了很多 HEV 经血传播病例的病例^[6-8],在世界范围内引起了是否需要血液制品进行 HEV 检测的相关讨论^[9]。国内也做了很多地方性 HEV 感染情况的研究报道和综合分析^[10]。

HEV 是一种直径为 27-34 nm,无膜的单链 RNA 病毒^[11]。有 3 个开放阅读框,其中 ORF3 编码蛋白有 114-123 个氨基酸,为 13 KD 的未知功能的蛋白,一般被简称为 VP13 蛋白^[12-14]。VP13 蛋白是 1 种对病毒复制具有重要作用的多功能蛋白^[15],在感染 HEV 后具有很强的抗体免疫学反应,

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 05. 007

* 基金项目:南京市医学科技发展项目(ZKX15051);#共同通信作者;△通信作者:何苗(1981.10-),男,副研究员,硕士生研究生导师,主要从事输血安全领域研究,电话:028-61648552,Email:messal022@126.com;杨永林(1963.03-),男,副主任医师,主要研究方向为血液安全研究,电话:025-83476663,Email:easing@163.com

ORF3 片段包含有较多的抗体结合位点,并且 HEV-IgM 型抗体的结合位点也可能主要分布于此区,已经被用于一些 HEV 的抗体检测中^[16]。Panda 等^[17-18]通过对 ORF3 蛋白进行体外重组表达,对产物进行免疫分析,结果显示,急性患者血清中 ORF3 编码蛋白的抗体 IgM 存在有型特异性。在进一步的研究中,分析认为 ORF3 基因片段的前 80 个氨基酸序列相对保守,在各型别毒株间变化很小,而 80-123 位氨基酸序列在各型别毒株间差异很大,此区段编码的抗原蛋白可能分布于病毒包膜的表面,直接主宰 HEV 毒株的型别^[19]。

我们对南京地区献血者的 HEV 感染情况,感染者的 VP13 抗体免疫水平进行分析研究;利用 VP13 抗体的型特异性,进行基于免疫学方法的基因分型,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 标本收集 收集南京红十字血液中心检验科的献血者标本,经 HBV、HCV、HIV、TP 和 ALT 检测均合格,进行 HEV 相关标志物的检测,一共收集检测标本 5 256 份。

1.2 主要仪器 多功能酶标仪(美国 Biotek, Synergy2),洗板机(瑞士 Anthos latec AW1),全自动加样站(瑞士 Tecan, RSP 150),移液枪(德国 Eppendorf),纯水仪(美国 Millipore, Milli-Q Reference),荧光定量 PCR 仪(美国 ABI, 7500),洁净工作台(中国苏净安泰, SW-CJ-1FD),电子天平(美国 DENVER, TP313)。

1.3 主要试剂 戊型肝炎病毒 IgM 抗体检测试剂盒(酶联免疫法)(北京万泰生物药业股份有限公司),戊型肝炎病毒 IgG 抗体检测试剂盒(酶联免疫法)(北京万泰生物药业股份有限公司),QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen Lot NO. 52904),One Step SYBR Prime Script RT-PCR Kit II (TaKaRa Code: DRR086A),Anti-HUMAN IgG (H&L) (RABBIT) Antibody (Rockland NO. 609-4102)。

1.4 实验方法

1.4.1 HEV-IgM、HEV-IgG 的 ELISA 检测 按照戊型肝炎病毒 IgG 抗体检测试剂盒、戊型肝炎病毒 IgM 抗体检测试剂盒的操作流程,进行标本的 ELISA 检测。在商品化 ELISA 板上加入 10 mL 样本和 100 mL 样本稀释液,混匀,37℃ 孵育 1 h,洗板后加入酶标记二抗,37℃ 孵育 1 h,洗板后显色读数。

1.4.2 HEV RNA 的核酸检测 分析 HEV 各基因型,选取 ORF2 区保守序列,并参考文献^[20]设计合成引物, JM-2 (6296-6318) 5'-CCGACAGAATTGATTCGTCGGC-3', JM-4 (6560-6582) 5'-TCGGCGCGGTGAGAGAGACCA-3',产物大小 288 bp,由上海生物工程有限公司合成。

采用 QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen Cat NO. 52904) RNA 提取试剂盒提取样本 RNA;140 mL 血清样本,加入 560 mL 含 carrier RNA 的细胞裂解液,混匀室温孵育 10 min,加入 560 mL 无水乙醇,混匀加入吸附柱,离心并洗涤,60 mL 洗脱液,洗脱 RNA,-70℃ 保存病毒 RNA 备用。

HEV 荧光检测采用 One Step SYBR PrimeScript RT-PCR Kit II (TaKaRa Code: DRR086A) 试剂盒。反应体系:2×One Step SYBR[®] RT-PCR Buffer 25 mL, PrimeScript 1 Step Enzyme

Mix 2 mL, PCR Forward Primer 2 mL (10 μmol/L), PCR Reverse Primer 2 mL (10 μmol/L), HEV RNA 模板 19 mL。

样本检测:将样本放入 ABI7500 96 孔板上,设置 PCR 反应条件,第 1 个循环为反转录反应 42℃ 5 min, 95℃ 10 s, 后 45 个循环为扩增反应 95℃ 5 s, 60℃ 34 s, 60℃ 收集荧光,第 11 个循环开始收集荧光,扩增完成进行熔解曲线分析,通过 CT 值和熔解曲线进行阳性结果的判定。

1.4.3 血清抗-VP13 的检测

1.4.3.1 抗-VP13 的 ELISA 检测 分别构建 I-IV 型的 HEV-VP13 真核表达载体 venus-VP13, venus 载体带有 GFP 标签,可以和 VP13 基因共表达,表达产物大小 41KD,转染 293T 细胞,在荧光显微镜下可见绿色荧光,确定 VP13 抗原的表达。收集细胞中表达的 I-IV 型 VP13 抗原。I-IV 型 VP13 抗原分别包被 ELISA 板,10 mL 待检测血清和 100 mL 样本稀释液加入后混匀,37℃ 孵育 1 h, PBST 洗板 5 次,加入 100 μL 的 HRP 标记抗人 IgG 二抗,37℃ 孵育 1 h, PBST 洗板 5 次,显色,区分 I-IV 型间的差异性。

1.4.3.2 抗-VP13 的 western blot 检测 收集转染表达 I-IV 型 VP13 抗原的 293T 细胞,加入 loading buffer 沸水中煮浴 10 min,进行 SDS-PAGE 垂直电泳,再 120 V、60 min 转膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,待检测血清样本 1:100 稀释作为一抗 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜 6 次,每次 5 min,抗-human IgG 1:5 000 稀释作为二抗,37℃ 孵育 1 h, TBST 洗膜 6 次,每次 5 min,显色液 super signal west pico lumino/enhancer solution 孵育, Tanon5200 凝胶成像仪曝光。

1.5 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HEV-IgM、HEV-IgG 检测结果及年龄分布比例 5 256 份标本中 HEV-IgM 阳性 99 份 (1.88%), HEV-IgG 阳性 1 624 份 (30.9%); 99 份 HEV-IgM 阳性标本中 18-29 岁人群 37 份 (1.3%), 30-60 岁人群 62 (2.6%) 份; 1 624 份 HEV-IgG 阳性标本中 18-29 岁人群 661 份 (23.1%), 占比 23.1%, 30-60 岁人群 963 份 (40.2%) (表 1)。

表 1 HEV-IgM、HEV-IgG 阳性标本的年龄分布 (n, %)

	18-29 岁	30-60 岁	合计
人群数量	2 861	2 395	5 256
HEV-IgM +	37 (1.3)	62 (2.6) *	99 (1.88)
HEV-IgG +	661 (23.1)	963 (40.2) **	1 624 (30.9)

* $\chi^2 = 1.84, P < 0.05$; ** $\chi^2 = 78.65, P < 0.05$

2.2 HEV RNA 检测结果 在 HEV 的 ELISA 检测结果中,选择 IgM 阳性标本进行 real-time PCR 检测,筛检到 1 份 HEV-RNA 阳性标本,该标本通过 VP13 抗体基因分型方法,确定为基因 IV 型(表 2)。

表 2 HEV RNA 阳性样本的其他病毒标志物指标

	HEV-IgM	HEV-IgG	抗-VP13	基因型
HEV RNA+	0.170	0.009	0.419	IV 型

2.3 抗-VP13 ELISA 检测及基因型分布 HEV-IgM 阳性标本,通过 ELISA 方法进行抗-VP13 的分型检测,确定标本的

基因型。基因 I 型 13 份 (30.9%), 基因 IV 型 37 份 (88.1%), I 型合并 IV 型 8 份 (19%) (表 3)。在 42 份抗-VP13 阳性标本中, 18-29 岁献血者 11 人 (26.2%), 30-60 岁献血者 31 人 (73.8%) (表 4)。

表 3 抗-VP13 阳性标本基因型分布比例

	n	占比(%)
HEV I 型	13	30.9
HEV IV 型	37	88.1
HEV I 型合并 IV 型	8	19
合计	42	

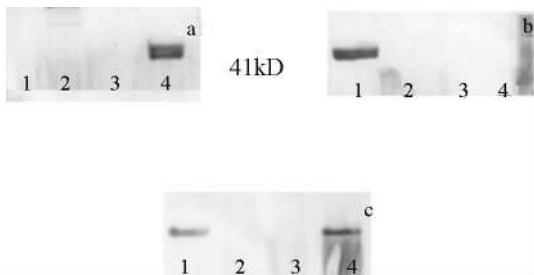
注: $\chi^2=8.46, P<0.05$

表 4 抗-VP13 阳性者年龄分布比例

	抗-VP13+	占比(%)
18-29 岁	11	26.2
30-60 岁	31	73.8
合计	42	

注: $\chi^2=8.46, P<0.05$

2.4 不同基因型抗-VP13 和对应基因型的 VP13 抗原的 western blot 实验 经 ELISA 确认的基因 IV 型的血清与对应的 IV 型 VP13 抗原反应, 与其他型的 VP13 抗原不发生反应; 基因 I 型的血清与对应的 I 型 VP13 抗原反应, 与其他型的 VP13 抗原不发生反应; 共同感染 I 型和 IV 型病毒血清可以同时和 I 型和 IV 型 VP13 抗原反应, 与其他 2 个型的 VP13 抗原不发生反应 (图 1)。通过 western blot 的确认实验, 可见通过 VP13 的 ELISA 法进行 HEV 的基因分型是准确可靠的。



1. 基因 I 型 VP13 抗原; 2. 基因 II 型 VP13 抗原; 3. 基因 III 型 VP13 抗原; 4. 基因 IV 型 VP13 抗原 a、基因 IV 型血清的特异性条带 b、基因 I 型血清的特异性条带 c、基因 I 型和基因 IV 合并感染血清的特异性条带

图 1 I - IV 型基因型的血清样本对应的 I - IV 型 VP13 抗原的 western blot 结果

3 讨论

在中国医学科学院输血研究所的一项系统综合分析中, 对 5 个电子数据库的 22 项独立研究的 14 篇文章进行了统计分析, 认定 HEV RNA 在中国献血人群中的流行率在 0.1%。作为发展中国家的中国, 对献血者的 HEV 感染情况进行系统评估具有重要的意义。尤其在戊型肝炎高发地区对献血人群进行 HEV 筛检, 对于减少 HEV 的输血感染具有积极意义^[10]。

ALT 的升高是 HEV 感染最常见的临床及生物学指证, 同时我们也需要注意到还有一部分的 HEV 的隐匿性潜伏感染患者的 ALT 并不发生显著变化^[21], 同时散发性戊肝显性感染约为隐匿性感染的 1/50^[22], 因此平时的检验科 ALT 常

规检测项目并不能把这部分献血者筛选出来。本研究选取的标本为经过检验科筛检过的 HBV, HCV, HIV, TP 阴性, ALT 正常的标本, 即按照目前标准可以供应临床的血液标本。在现有血液筛检标准下, 已经合格的可以供应临床的标本中, 我们检测到 HEV IgM 阳性 99 份, IgG 阳性 1 624 份。

HEV-IgM 作为 HEV 急性感染的 1 个指标, 在感染 HEV 10 d 后, 80% 的患者 IgM 出现阳性, 2-3 个月后 IgM 逐渐减弱转阴, 个别患者可持续 6 个月^[23]。HEV-IgG 作为 HEV 既往感染的 1 个指标, 在患者感染 HEV 后会长期存在, 最长的可长达 10 年, 一般作为一项感染的预后指标。本研究中发现献血人群中 1.88% 的 HEV-IgM 阳性, 正处于急性感染期; 有 30.9% 的 HEV-IgG 阳性, 有近三分之一的普通人群曾经感染过 HEV, 与国内相关报道数据接近。

进一步通过对献血者进行年龄划分, 发现 18-29 岁献血人群的 IgM 阳性率显著低于 30 岁以上献血人群, 18-29 岁献血人群的 IgG 阳性率同样显著低于 30 岁以上献血人群, 与国内相关文献报道结果一致^[24]。

戊型肝炎的病毒血症时间较短, 并且戊型肝炎具有自限性, 一般在感染病毒后 7 d 内出现, 随后 RNA 阳性率不断的减少, 最短 10 d 就会转阴, 最长 52-112 d, 临床上即便是 HEV 患者的 RNA 阳性率, 随着时间的推移会发病 1 周后的 96.6% 降到发病后 4 周的 9.4%^[25]。鉴于核酸检测的灵敏度及 HEV 的病毒血症时间较短, HEV RNA 不容易被检测到。在献血者中采用核酸检测进行 HEV 筛检是不经济的也是容易出现漏检的, 很多 HEV 抗体阳性标本, 并不能扩增出目的片段, 通过 PCR 扩增后测序来确定病毒的型别存在一定的难度。本研究中检测到 1 份 HEV RNA 阳性标本, 经 VP13 抗体分型确定为 IV 型毒株, western blot 检测结果也能检测到特异性目的条带, 确定为真实的阳性结果, 比例为 1:5 256, 介于发达国家献血员 HEV RNA 阳性比例 1:1 200-1:14 520 之间^[28-29]。

VP13 蛋白在灵长类的感染试验中表现很好的免疫保护性, 并且被认为是各病毒流行株基因型差异直接相关^[26]。I 型的 VP13 蛋白编码 123 个氨基酸, IV 型的 VP13 蛋白编码 114 个氨基酸, 其 N 端较 I 型少 9 个氨基酸。本研究在构建 VP13 真核表达载体时, 将 I-III 型 HEV 基因 N 端的 9 个氨基酸序列全部进行了去除, 使其和 IV 型 HEV 基因序列保持一样的长度, 排除由于这 9 个氨基酸差异而导致的免疫学差异反应。本研究结果显示 HEV 感染者的血清在 I 型和 IV 型 VP13 抗原检测上, 仍然表现出极其显著的免疫学差异反应。进一步对 HEV 不同型别的序列进行比对分析发现, I 型的 77-83 位氨基酸相对应的 IV 型 68-74 位氨基酸, 完全不同; I 型的 87-95 位氨基酸相对应的 IV 型 78-86 位氨基酸, 只有 33.3% 的相似度。这一区段的差异直接导致了 I 型和 IV 型免疫学反应的差异, 使得 HEV 分型成为可能, 使得 HEV 基因分型变得更加简便可行。因此我们选择抗-VP13 作为 HEV 的另一个标志物进行检测。VP13 抗体检测可以很好的弥补核酸检测的漏检, 并且比核酸检测更加经济实用。对 HEV 进行基因分型的研究, 对于研制高灵敏度, 特异性的诊断试剂, 开发具有针对性的 HEV 疫苗具有重要的意义^[27]。

本研究中通过不同型别的 VP13 抗原来检测相应型别的抗体,成功对 HEV 进行了分型,并且发现在南京范围,HEV 的感染均为 I 型和 IV 型,IV 型比例显著高于 I 型的比例,个别会发生 I 型和 IV 型的共同感染,未发现其他两种基因型的感染者。

现有方法进行 HEV-IgM 检测存在有假阳性的可能,IgG 检测只能检测既往感染。而运用 VP13 抗体的 ELISA 检测可以对 HEV 进行分型确定,并且可以用于阳性样本的确认,排除假阳性的可能。通过对 VP13 抗体免疫水平的研究,对 HEV 的筛检和确定具有重要意义,对于降低 HEV 输血传播的风险具有积极作用。

参 考 文 献

- [1] Rein DB, Stevens GA, Theaker J, et al. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology*, 2012, 55(4):988-997.
- [2] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 2012, 380(9859):2095-2128.
- [3] 劳向前,邵瑞太,王若涛.戊型肝炎危害状况研究进展.中国公共卫生,2002,18(2):10.
- [4] 尚涛,马英.妊娠合并戊型肝炎的临床特点与治疗.中国实用妇科与产科杂志,2004,20(2):75-76.
- [5] Kamar N, Izopet J, Dalton HR. Chronic hepatitis E virus infection and treatment. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 2013, 3(2):134-140.
- [6] Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2004, 19(7):778 - 784.
- [7] Matsubayashi K, Kang JH, Sakata H, et al. A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion*, 2008, 48(7):1368-1375.
- [8] Coilly A, Haïm-Boukoba S, Roche B, et al. Posttransplantation hepatitis E: transfusion-transmitted hepatitis rising from the ashes. *Transplantation*, 2013, 96(2):4-6.
- [9] Féray C, Pawlotsky JM, Roque-Afonso AM, et al. Should we screen blood products for hepatitis E virus RNA ?. *Lancet*, 2014, 383(9913):218-218.
- [10] Wang M, Ping F, Yin Y, et al. Acute, recent and past HEV infection among voluntary blood donors in China: A systematic review and meta-analysis. *Plos One*, 2016, 11(9):e0161089.
- [11] Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science*, 1990, 247(4948):1335-1339.
- [12] Korkaya H, Jameel S, Gupta D, et al. The ORF3 protein of hepatitis E virus binds to Src homology 3 domains and activates MAPK. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(45):42389.
- [13] 王佑春,张华远,李河民.戊型肝炎病毒IV型全基因序列的分析.中华微生物学和免疫学杂志,200,21(2):210-213.
- [14] 周艳,耿彦生,杨军,等.戊型肝炎病毒 ORF3 蛋白研究进展.中华微生物学和免疫学杂志,2012,9(32):825-831.
- [15] Kenney SP, Pudupakam RS, Huang YW, et al. The PSAP motif within the ORF3 protein of an avian strain of the hepatitis E virus is not critical for viral infectivity in vivo but plays a role in virus release. *Journal of Virology*, 2012, 86(10):5637-5646.
- [16] Ma H, Song X, Harrison TJ, et al. Hepatitis E virus ORF3 antigens derived from genotype 1 and 4 viruses are detected with varying efficiencies by an anti-hev enzyme immunoassay. *Journal of Medical Virology*, 2011, 83(5):827-832.
- [17] Favorov MO, Khudyakov YE, Mast EE, et al. IgM and IgG Antibodies to hepatitis E virus (HEV) detected by an enzyme immunoassay based on an HEV specific artificial recombinant mosaic protein. *J Med Virol*, 1996, 50(1):50-58.
- [18] Wang Y, Ling R, Erker JC, et al. A divergent genotype of hepatitis E virus in Chinese patients with acute hepatitis. *Journal of General Virology*, 1999, 80 (Pt 1)(1):169.
- [19] 李启明,沈心亮.戊型肝炎病毒开读框架 3 的分子生物学特性及研究进展.微生物学免疫学进展,2002,30(4):78-83.
- [20] 周镇先,戴星,孟继鸿.通用性引物 RT-nPCR 扩增不同基因型戊型肝炎病毒基因组的探讨.东南大学学报(医学版),2004,23(3):141-144.
- [21] Xia NS, Zhang J, Zheng YJ, et al. Transfusion of plasma from a blood donor induced hepatitis E in Rhesus monkey. *Vox Sang*, 2004, 86(1):45-47.
- [22] Zhang J, Zhang XF, Zhou C, et al. Protection against hepatitis E virus infection by naturally acquired and vaccine-induced immunity. *Clinical Microbiology & Infection*, 2014, 20(6):O397-O405.
- [23] 戎广亚,孙杰,周继文,等.戊型肝炎病人血清抗-HEV IgG 与 IgM 和 HEV RNA 的动态变化.病毒学报,1998(3):268-271.
- [24] Zhang L, Jiao S, Yang Z, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among blood donors in mainland China: a meta-analysis. *Transfusion*, 2016, 57.
- [25] 王占英,鲁学恒,庄辉,等.戊型肝炎血清 HEV-RNA 的动态变化及其意义.中国医科大学学报,2000,29(2):137-165.
- [26] Ma H, Song X, Harrison TJ, et al. Immunogenicity and efficacy of a bacterially expressed HEV ORF3 peptide, assessed by experimental infection of primates. *Archives of Virology*, 2009, 154(10):1641-1648.
- [27] 程险峰,戴星,孟继鸿,等.南京地区戊型肝炎病毒基因型鉴定和变异分析.病毒学杂志,2005,20(5):468-471.
- [28] Vollmer T, Diekmann J, Johne R, et al. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(8):2708-2713.
- [29] Cleland A, Smith L, Crossan C, et al. Hepatitis E virus in Scottish blood donors. *Vox Sang*, 2013, 105(4):283.

(2017-03-26 收稿,05-02 修回)

本文编辑:闻欣

· 论著 ·

荧光定量检测梅毒筛查阳性献血者中生殖器溃疡病原体的研究

高瞻 张玉 杨亚闪 徐敏 何苗[△](中国医学科学院 北京协和医院学院 输血研究所,成都,610052)

摘要:目的 研究梅毒筛查阳性献血者中生殖器溃疡病原体。**方法** 收集梅毒筛查阳性献血者样本和人口地理学信息,提取核酸 DNA,利用荧光定量技术检测病原体核酸。**结果** 在 1 679 份样本中共发现 37 份梅毒 DNA 和 33 份 HSV DNA 阳性样品,其中 HSV-1 20 份,HSV-2 13 份。梅毒螺旋体 DNA 阳性率为 2.20%,HSV DNA 阳性率 1.97%其中 HSV-1 1.19%和 HSV-2 0.77%,并未发现 *H. ducreyi* 阳性样本。核酸阳性献血者多为男性,首次献血者,初中及初中以下文化程度。发现 2 份共感染样本。**结论** 梅毒血液筛查不合格的献血者中存在一定感染生殖器溃疡病原体的风险应引起相关重视。

关键词: 献血者;梅毒螺旋体;单纯疱疹病毒;杜克雷嗜血杆菌

中图分类号:R759.1 R446.1 Q503 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0470-03

Real-time PCR detection of genital ulcer disease (GUD) pathogens in syphilis positive blood donors GAO Zhan, ZHANG Yu, YANG Yashan, XU Min, HE Miao. Institute of Blood Transfusion, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Chengdu 610052, China. Corresponding author: HE Miao.

Abstract: Objective To detect GUD pathogens by real-time PCR in syphilis screening positive blood donors. **Methods** A total of 1 679 syphilis positive cases of whole blood and demographic information were collected. DNA was extracted from plasma for real-time PCR to detect GUD pathogens. **Results** In real-time PCR test, there were a total of 37 *T. pallidum* DNA positive samples and 33 HSV DNA positive with 20 HSV-1 and 13 HSV-2 respectively, but no *H. ducreyi* DNA was detected. The DNA positive rate of syphilis and HSV were 2.20% and 1.97%, including HSV-1 at 1.19% and HSV-2 at 0.77%. Most of the positive donors were males, first-time donors with middle school and below education. Only 2 DNA co-infected donors were found. **Conclusion** There is the risk of GUD pathogens infection in syphilis screening positive blood donors, and more attention should be paid to this current problem.

Key words: blood donors; *T. pallidum*; HSV; *H. ducreyi*

梅毒是一种由苍白密螺旋体苍白亚种(又叫梅毒螺旋体)(*treponema pallidum pallidum*)感染引起的严重性传播疾病根据病程可以分为 I 期, II 期, III 期梅毒,是我国血液筛查必查项目之一^[1-2]。同时,梅毒也是导致生殖器溃疡(genital ulcer disease, GUD)的主要 3 种病原体之一,其余 2 个分别是单纯疱疹病毒二型(herpes simplex virus 1 and 2, HSV-1/2)和杜克雷嗜血杆菌(*Haemophilus ducreyi*)。HSV 属于疱疹病毒科 α 疱疹病毒亚科,HSV 有 2 个基因型,HSV-1 和 HSV-2,基因型之间有 50%左右的同源性。HSV 基因组大小约 152 kb,为有包膜的 DNA 病毒。HSV-2 主要经生殖器接触而传播,与新生儿疱疹和生殖器疱疹相关^[3],目前有研究提示 HSV-1 导致的生殖器疱疹有上升趋势,同时 HSV 也能通过输血传播^[4]。*H. ducreyi* 是一种难以培养革兰氏阴性菌,主要引起软性下疳^[5]。

随着近年来我国献血者梅毒感染人数的增加^[6],感染 HSV 和 *H. ducreyi* 的机会也在增加,因此为了了解这 3 种病原体的感染情况,我们采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)技术检测筛查梅毒 Elisa 检测不合格献血者

的感染情况,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 2014 年 7 月-2015 年 11 月采集了重庆,洛阳,广西,绵阳和乌鲁木齐 5 个血液中心共计 1 679 份梅毒筛查阳性血液标本,所有标本均按标准流程进行了 2 轮 ELISA 检测,2 轮 Elisa 反应性,或 1 轮 Elisa 检测不合格且重复试验不合格的样本,通过干冰运输至本实验室进行后续实验。

1.2 试剂与仪器 TP ELISA 试剂盒(北京万泰生物药业股份有限公司,上海科华生物工程股份有限公司,珠海丽珠试剂股份有限公司),荧光定量试剂盒(FastStart Universal Probe Master)Roche, Germany),DNA 提取试剂盒(QIAamp DNA Blood Mini kit Cat. No. 51306, Qiagen, Germany) RSP150 / RSP200 全自动加样仪(瑞士 TECAN); FAME24 /20 和 FAME24 /30 全自动酶免分析仪(瑞士)ABI 7900 PCR 仪(Applied Biosystems, USA)。

1.3 Real-time PCR 检测 按照试剂操作说明书使用 DNA 抽提试剂盒提取每份血样标本中的 DNA,参考已发表文献选择各病原体特异性基因,合成相应的引物和探针序列分别检测每种病原体(表 1),同时我们合成相应检测片段序列作为阳性对照。所有引物和探针序列均由华大基因公司合成。扩增反应体系 20 μL 包括上下游引物各 1 μL, Master mix 10

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 05. 008
△通信作者:何苗(1981. 10-),男,副研究员,硕士生研究生导师,主要从事输血安全领域研究,电话:028-61648552, Email: messal022@126. com

μL,模板 DNA 5 μL, ddH₂O 3 μL。反应条件 95℃ 10 min, 95℃ 30 s, 60℃ 1 min, 40 个循环。

1.4 统计学分析 所有数据输入用 Microsoft Excel 2007 建

立的数据库,应用 SPSS17.0 软件,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 1 各病原体引物和探针序列

病原体	引物序列	探针序列
<i>T. pallidum</i>	F: 5'-CAACACGTCGCCGTACGACTA-3' R: 5'-TGCCATAACTCGCCATCAGA-3' HSV	FAM-5'-CGGTGATGACGCCGAGCTACACCA-3'-TAMRA F: 5'-CGCATCAAGACCACCTCCTC-3'
HSV-1	VIC-5'-TGGAACCGCGGCCAAC-3'-TAMRA R: 5'-GCTCGCACCACGCCA-3'	HSV-2 FAM-5'-CGGCGATGCGCCCCAG-3'-TAMRA FAM-5'-GTGCCTTCGGGAAGTATGTGACAGGT-3' BHQ
<i>H. ducreyi</i>	F: 5'-ACATCCATAGAAGAAGCTCAGAGATGA-3' R: 5'-TTGAGTTCATCAYTACATGCT-3'	

2 结果

2.1 荧光定量扩增 图 1 显示了我们实验中检测 3 种病原体的 Taqman 荧光定量扩增, A 是梅毒螺旋体的合成片段扩增图, B 是 HSV 的合成片段扩增图, 其中黄色是 HSV-1, 蓝色是 HSV-2, C 是杜克雷嗜血杆菌的合成片段扩增图。3 种病原体的扩增效果都比较好。

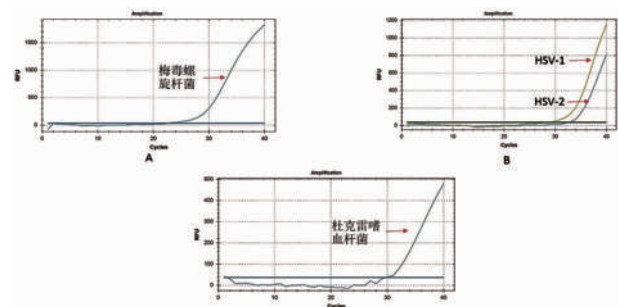


图 1 3 种病原体荧光定量扩增曲线

2.2 3 种病原体的阳性率 在 1 679 份血液标本中我们共计发现了 37 份梅毒 DNA 和 33 份 HSV DNA 阳性样品, 其中 HSV-1 20 份, HSV-2 13 份。梅毒螺旋体 DNA 阳性率为 2.20%, HSV DNA 阳性率 1.97% 其中 HSV-1 1.19% 和 HSV-2 0.77%。37 份 DNA 阳性献血者多为男性, 年龄 41-50 岁, 主要是自由职业者, 初中及以下学历, 多为首次献血者, 相似的, 33 份 HSV DNA 份阳性献血者也多为男性, 年龄在 41-50 岁之间, 大部分是首次献血者, 以初中及初中以下文化程度为主。但是差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在这次研究中我们并未检测到杜克雷嗜血杆菌 DNA。本研究中我们只发现了 2 份共感染样本, 1 份是梅毒螺旋体和 HSV-1 共感染, 另 1 份是梅毒螺旋体和 HSV-2 共感染, 感染者都为男性, 未发现 HSV-1 和 HSV-2 共感染献血者。

3 讨论

近年来我国梅毒感染者呈上升趋势, 同时献血者中梅毒筛查阳性率也呈现上升趋势^[7], 给我国的输血安全带了极大的挑战, 梅毒筛查阳性献血者往往有着较高的不安全性行为, 容易通过性传播途径感染相关病原体, 生殖器溃疡是一种发病率较高的性传播感染性疾病, 主要以 *T. pallidum*, HSV 和 *H. ducreyi* 为主要病原体。生殖器溃疡同时也是 HIV 传播和感染的重要风险因素, 有研究表明 HSV-2 的感染和 HIV 的发病率有相关性^[8]。Real-time PCR 是一种方便快捷, 灵敏和高通量的技术其中的探针法在检测目的核酸片段方

面具有很好的特异性和灵敏性同时也能降低污染风险^[9]。目前关于献血者中 HSV 和杜克雷嗜血杆菌感染的报道很少, 而我国相关数据基本没有, 本研究利用荧光定量 PCR 探针技术首次检测梅毒筛查阳性献血者中的生殖器溃疡病原体, 了解梅毒阳性献血者中病原体的感染情况, 为我国的输血安全和筛查策略提供一定的数据支持。

表 2 梅毒和 HSV DNA 阳性献血者的人口地理学特征 (n, %)

		梅毒 DNA 阳性率	HSV-1 DNA 阳性率	HSV-2 DNA 阳性率	总人数
性别	男	23 (2.41)	15 (1.57)	6 (0.63)	954
	女	14 (1.93)	5 (0.69)	7 (0.97)	725
年龄 (岁)	18-30	6 (1.30)	6 (1.30)	4 (0.87)	462
	31-40	12 (2.57)	6 (1.28)	4 (0.86)	467
	41-50	15 (2.50)	8 (1.34)	3 (0.50)	599
	51-60	4 (2.65)	0	2 (1.32)	151
教育程度	本专科及以上	5 (1.23)	7 (1.72)	2 (0.49)	408
	高中	10 (2.20)	4 (0.88)	5 (1.10)	455
	初中及以下	22 (2.70)	9 (1.10)	6 (0.74)	816
职业	学生	1 (0.70)	3 (2.10)	0	143
	军人	1 (6.67)	0	0	15
服务行业和工人	服务行业和工人	7 (1.94)	4 (1.11)	4 (1.11)	360
	农林业	6 (1.99)	1 (0.33)	2 (0.66)	301
	自由工作者	15 (3.16)	5 (1.05)	4 (0.84)	475
	其他	7 (1.82)	7 (1.82)	3 (0.78)	385
	献血类型	首次	28 (2.00)	17 (1.21)	10 (0.71)
	重复	9 (3.25)	3 (1.08)	3 (1.08)	277

本研究中我们首先分析了梅毒螺旋体特定 47KD 膜蛋白基因序列, HSV-1 和 HSV-2 的 gB 区域以及杜克雷嗜血杆菌特定的 16SrRNA 基因序列片段, 进过比较和实验选取了较理想的 3 对特异引物和 4 条探针。共发现了 37 份梅毒螺旋体 DNA 和 33 份 HSV DNA 阳性样本, 2 份共感染样本, 但是未检测到杜克雷嗜血杆菌 DNA。这可能和杜克雷嗜血杆菌主要流行于撒哈拉以南的非洲而我国流行率很低有关^[10]。实验中也发现梅毒螺旋体和 HSV 阳性样本的循环数基本在 30 以上说明目的病原体的 DNA 浓度在献血者中比较低, 由于 PCR 技术只能检测病原体的核酸 DNA 并不能测定病原体的感染活性, 因此检测到的阳性样本是否有传染性需要做进一步的实验。本研究的结果说明梅毒血液筛查不合格的献血者中存在一定感染生殖器溃疡病原体的风险, 随着梅毒感染人数的增多感染生殖器溃疡病原体的风险也会相应增加应引起重视, 更大样本量的研究将有助于为我国的输血安全提供更加完整全面的数据支撑。

参 考 文 献

- [1] 李佳凌, 万江中, 李尹凤. 一种荧光定量 PCR 方法检测血液标本中梅毒螺旋体的应用研究. 中国输血杂志, 2014, 27(7): 3.
- [2] 王伦善, 吕蓉, 盛琪琪, 等. 梅毒抗体酶联免疫吸附试验 S/CO 比值与 TPPA 结果的相关性研究. 中国输血杂志, 2011, 24(2): 126.
- [3] Abdool Karim SS, Abdool Karim Q, Kharsany AB, et al. Tenofovir gel for the prevention of herpes simplex virus type 2 infection. *N Engl J Med*, 2015, 373: 530-539.
- [4] Smith JS, Robinson NJ. Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1; a global review. *J Infect Dis*, 2002, 186 (Suppl 1): S3-S28.
- [5] Gonzalez-Beiras C, Marks M, Chen CY, et al. Epidemiology of haemophilus ducreyi infections. *Emerging infectious diseases*. 2016, 22 (1): 1-8. doi: 10.3201/eid2201.150425. PubMed PMID: 26694983; PubMed Central PMCID: PMC4696685.
- [6] Hesketh T, Ye X, Zhu W. Syphilis in China: the great comeback. *Emerging health threats journal*. 2008, 1:e6. doi: 10.3134/ehj.08.006. PubMed PMID: 22460215; PubMed Central PMCID: PMC3167587.
- [7] Glatz M, Juricevic N, Altwegg M, et al. A multicenter prospective trial to assess a new real-time polymerase chain reaction for detection of treponema pallidum, herpes simplex-1/2 and haemophilus ducreyi in genital, anal and oropharyngeal ulcers. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20: 1020-1027.
- [8] Tucker JD, Chen XS, Peeling RW. Syphilis and social upheaval in China. *The New England journal of medicine*, 2010, 362 (18): 1658-1661. doi: 10.1056/NEJMp0911149. PubMed PMID: 20445179.
- [9] Freeman EE, Weiss HA, Glynn JR, et al. Herpes simplex virus 2 infection increases HIV acquisition in men and women: systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Aids*. 2006, 20 (1): 73-83. PubMed PMID: 16327322.
- [10] Lewis DA. Epidemiology, clinical features, diagnosis and treatment of haemophilus ducreyi-a disappearing pathogen? *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2014, 12: 687-696.

(2016-10-18 收稿, 2017-04-11 修回)

本文编辑: 闻欣

《临床输血进展》购书事宜

应本刊众多读者的要求, 汇集本刊“临床输血”专栏 11 年(1998 年第 4 期-2009 年 3 期)共计 65 篇文章的《临床输血进展》已于 2010 年 9 月出版。作为田兆嵩教授主持、国内多位知名输血专家撰稿的专栏, “临床输血”刊行 10 余年间深受读者欢迎, 俨然成为本刊的 1 个品牌。本书内容全面, 涵盖临床输血的方方面面, 加之本书出版前田教授与各位作者对原文章的补充修订, 相信对各位临床输血工作者丰富临床输血理论知识, 提高临床输血操作技能不无裨益。欢迎订购, 定价: 46 元, 邮购电话: 028-61648584, 传真: 028-83373857, 汇款地址: (邮政编码: 610052) 四川省成都市东三环二段龙潭总部经济城华彩路 26 号《中国输血杂志》编辑部(请在汇款附言中注明您购书的册数、联系电话、是否需要发票等)。

· 论著 ·

· 血站能力建设专题(下) ·

全国省市两级采供血机构临床血液供应情况的调查与分析

周世航^{1,2} 梁晓华^{1,2,△} 范亚欣^{1,2} 孟庆丽² 张芝远² 高勇² 李雅洁² 安万新^{1,2}

(1. 中国输血协会 献血促进工作委员会, 辽宁 大连 116001 2. 大连市血液中心)

摘要:目的 了解全国省市两级采供血机构临床血液供应现状。**方法** 由中国输血协会设计并发放《全国采供血机构供血信息调查表》,调查项目包括:全血、红细胞、血浆、冷沉淀凝血因子以及浓缩白细胞等的临床供应量。于 2015 年 7 月 1 日发放到全国省市两级采供血机构,对其 2012-2014 年临床血液供应做回顾性调查。省市两级采供血机构按要求下载和填报,至 8 月 31 日截止并收回《调查表》。中国输血协会献血促进工作委员会负责用 Excel 2007 录入和整理,采用 SPSS 19.0 统计软件对有效问卷统计分析。**结果** 此次问卷调查的有效率为 100% (350/350)。2012-2014 年全国省市两级血站每年临床供血量:全血及红细胞(万 U)的分别为 1 864.47、1 898.58 [较 2012 年增长 1.83% (34.11/1864.47)] 和 1 965.88 [较 2013 年增长 3.54% (67.30/1 898.58)],机采血小板(万治疗量)分别为 97.41、112.96 [较 2012 年增长 15.95% (15.54/97.41)] 和 124.08 [较 2013 年增长 9.85% (11.13/112.96)],血浆(万 U)分别为 2 752.93、2 765.76 [较 2012 年增长 0.47% (12.82/2 752.93)] 和 2830.75 [较 2013 年增长 2.35% (64.99/2 765.76)],冷沉淀(万 U)分别为 165.39、189.13 [较 2012 年增长 14.35% (23.74/165.39)] 和 236.65 [较 2013 年增长 25.12% (47.52/189.13)];浓缩白细胞(万 U)分别为 2.33、3.11 [较 2012 年增长 33.55% (0.78/2.33)] 和 2.18 [较 2013 年下降了 29.71% (0.92/3.11)]。手工血小板(万 U)分别为 56.30、48.45 [较 2012 年下降了 13.93% (7.84/56.30)] 和 44.23 [较 2013 年下降了 8.73% (4.23/48.45)]。血液中心和中心血站提供的血液制品的构成有明显差异:血液中心以非去白悬浮红细胞和新鲜冰冻血浆为主,中心血站以去白悬浮红细胞和病毒灭活血浆为主。按区域人口计算,全国各区域供血量存在明显差异:2014 年,各区域全血及红细胞、机采血小板、血浆及冷沉淀的供应量(U/万人):东北分别为 150.36、9.22、228.86 和 18.33,华南分别为 150.87、9.68、142.20 和 35.35,华北分别为 166.28、14.02、183.34 和 7.45,华中分别为 152.64、9.32、125.94 和 21.25,华东分别为 139.73、10.18、285.30 和 17.92,西北分别为 144.85、5.80、137.36 和 8.71,西南分别为 115.87、3.51、240.80 和 9.45。**结论** 我国的临床血液供应增势逐年下降,未来血液供应将面临更多的挑战。

关键词: 临床血液供应;血液供应量;采供血机构;两级血站;全国**中图分类号:** R197 R457.1⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0473-05

Survey and analysis of clinical blood supply in blood collection services on provincial and city level in China ZHOU Shi-han^{1,2}, LIANG Xiao-hua^{1,2}, FAN Ya-xin^{1,2}, MENG Qing-li², ZHANG Zhi-yuan², GAO Yong², LI Ya-jie², AN Wan-xin^{1,2}. 1. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion, Dalian 116001, China; 2. Dalian Blood Center. Corresponding author: LIANG Xiaohua.

Abstract: Objectives To understand the clinical blood supply at provincial and city level in China. **Methods** The questionnaire of blood supply was designed by Chinese Society of Blood Transfusion. The blood supply of blood products including whole blood, red cells, platelets, plasma, cryoprecipitate and leukocyte concentrates were included in this questionnaire. Questionnaires were distributed on July 1st, 2015 by the official website of Chinese Society of Blood Transfusion (www.csbt.org.cn). Blood collection services at provincial and city level should fill in and submit before Aug 31. Information according to the questionnaire were collected and sorted out with Excel 2007 by staffs of Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. The valid data were analyzed with SPSS 19.0. **Results** The effective rate of this survey was 100% (350/350). The annual clinical blood supply (10 000 U) in blood collection services on provincial and city level in 2012-2014: the blood supply of whole blood and red cells were 1 864.47, increased to 1 898.58 by 1.83% (34.11/1 864.47) compared with 2012 and increased to 1 965.88 by 3.54% (67.30/1 898.58) compared with 2013, respectively. The apheresis platelets were 97.41, increased to 112.96 by 15.95% (15.54/97.41) compared with 2012, and increased to 124.08 by 9.85% (11.13/112.96) compared with 2013, respectively. The plasma were 2 752.93, increased to 2 765.76 by 0.47% (12.82/2 752.93) compared with 2012, and increased to 2 830.75 by 2.35% (64.99/2 765.76)

compared with 2013, respectively. The cryoprecipitate were 165.39, increased to 189.13 by 14.35% (23.74/165.39) compared with 2012, and increased to 236.65 by 25.12% (47.52/189.13) compared with 2013, respectively. The leuko-

cyte concentrates were 2.33, increased to 3.11 by 33.55% (0.78/2.33) compared with 2012, and reduced to 2.18 by 29.71% (0.92/3.11) compared with 2013, respectively. The WB-derived platelet concentrates were 56.30, reduced to 48.45 by 13.93% (7.84/56.30) compared with 2012, and reduced to 44.23 by 8.73% (4.23/48.45) compared with 2013, respectively. There were differences in the blood products between blood centers and center blood stations. The blood centers mainly provided red blood cells in additive solution and fresh-frozen plasma, while the center blood stations mainly provided leukocyte-reduced red blood cells in additive solution and methylene blue-treated and removed frozen plasma. The large differences in rates of blood supply between regions were evident. The rates of blood supply of whole blood and red blood cells, apheresis platelets, plasma, and cryoprecipitate in regions in 2014 (Units/10,000population): Northeast region were 150.36, 9.22, 228.86 and 18.33 respectively; South China were 150.87, 9.68, 142.20 and 35.35; North China were 166.28, 14.02, 183.34 and 7.45; Central China were 152.64, 9.32, 125.94 and 21.25; East China were 139.73, 10.18, 285.30 and 17.92; Northwest were 144.85, 5.80, 137.36 and 8.71; Southwest were 115.87, 3.51, 240.80 and 9.45.

Conclusion This survey suggests a steady increasing trend of blood supply in China. China still faces many challenges in blood supply in the future.

Key words: clinical blood supply; amount of blood supply; blood collection service; blood station on two of level; China.

2015 年 7 月,中国输血协会献血促进工作委员会(以下简称献血促进委)开展了对全国省市两级血站 2012-2104 年采供血工作情况的调查,这是继 2009 年(调查时段 2006-2008 年)和 2012 年(调查时段 2009-2011 年)2 次全国调查之后,第 3 次对全国采供血工作现状的摸底调查,调查内容(项目)涵盖了献血、血液检测以及临床供血 3 个大项、合计 81 个项调查数据。我们对其中临床血液供应情况的数据,作了分析与总结,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的 354 个省、市两级采供血机构(机构数量由各省血液中心上报后汇总),其中血液中心 32 个(包括 31 个省级血液中心和新疆生产建设兵团中心血站),中心血站 322 个(含副省级城市的血液中心和中心血站),分站和中心血库的资料统计入所辖市级血站。鉴于本调研的目的是为更好地促进我国无偿献血事业健康、持续发展,因此调研数据只涵盖血液中心和中心血站,不包括单采血浆站。

1.2 问卷设计 《全国采供血机构供血信息调查表》(以下简称《调查表》)由中国输血协会牵头组织国内采供血机构的专家,在借鉴前 2 次调研内容的基础上,依据我国采供血工作的实际开展情况和相关的历史调研数据等,共同研究、制定的。调研项目包括:全血、红细胞、血浆、冷沉淀凝血因子以及浓缩白细胞等的临床供应量。调研时段为 2012 年 1 月 1 日-2014 年 12 月 31 日,未指明时间跨度的,数据统计截止 2014 年底。

1.3 调查步骤 《调查表》于 2015 年 7 月 1 日由中国输血协会通过其官网(www.csbt.org.cn)正式下发,省市两级采供血机构按要求下载表格,将填好的电子版和纸质表格传(寄)回指定的电子邮箱和地址。各省、自治区、直辖市的血液管理部门和献血促进委委员单位;负责区域内采供血机构填报人员的培训,并督促各项数据的上报和补报工作。献血促进委负责《调查表》数据的后期整理、数据复核、结果汇总和统计分析等工作。至 8 月 31 日截止日,共收回 350 份《调查

表》,有 4 家市级中心血站未能提交调查表,收回率为 98.87%(350/354)。有效性确认:按 30%的比例以电话方式做数据核实,确认 350 份数据完整、准确,有效率为 100%。

1.4 统计分析方法 数据采用 Excel 2007 录入和整理,以 SPSS 19.0 统计软件做数据分析。使用 χ^2 检验方法分析血液中心和中心血站的不同血液制品所占比例的差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2012-2014 年全国省市两级血站各类血液制品供应量、年增长率以及所占的供应比例 见表 1-4。

2.2 2012-2014 年全国各区域的各类血液制品供应量(按区域人数进行标准化) 见表 5。

3 讨论

输血作为 1 种特殊的临床治疗手段,对于拯救一些患者生命有着不可替代的作用。确保充足的临床血液供应是每个国家和地区都面临和必须解决问题。发达国家如美国已经开展了多次全国性血液采集和临床用血方面的调查,其获得的翔实数据反映了美国血液事业发展的现状^[1]。献血促进委在 2009 年和 2012 年 2 次开展的全国性的采供血工作情况调研,同样反映了我国采供血事业发展的现实和趋势^[2,3]。在前 2 次调查结果的基础上,我们对此次的《调查表》内容(项目)作了优化,以求获得更翔实、准确以及最新的全国两级血站临床供血的一手数据。

本组调查数据显示,2012-2014 年全国两级采供血机构的全血及红细胞、机采血小板、冰冻血浆、冷沉淀的临床供应量逐年增长。2013 和 2014 年分别较上年,全血及红细胞增长了 1.83%(34.11/1 864.47)和 3.54%(67.30/1 898.58),冰冻血浆增长了 0.47%(12.82/2 752.93)和 2.35%(64.99/2 765.76),机采血小板增长了 15.95%(15.54/97.41)和 9.85%(11.13/112.96),冷沉淀增长了 14.35%(23.74/165.39)和 25.12%(47.52/189.13),其中机采血小板和冷沉淀的增长明显快于全血及红细胞、冰冻血浆的增长(表 1-

4);而各级血站的手工血小板的供应量逐年减少,2013 和 2014 年分别较上年,下降了 13.93 (7.84/56.30) 和 8.73 (4.23/48.45)(表 2);浓缩白细胞在 2013 年比上年增长 33.55%(0.78/2.33),而 2014 年较上一年下降了 29.71%(0.92/3.11)(表 4)。随着我国经济的发展,我国医疗水平呈现快速增长的趋势,而相应的血站临床供血增长却呈放缓趋势。近年来,在我国许多城市出现血站采血量无法满足临

床用血需求导致的缺血现象。要解决临床供血困难,唯有通过加强自愿无偿献血宣传工作,加强无偿献血者队伍建设、加强临床输血管理、放宽献血者年龄及献血量的限制等综合措施^[4-5],同时需要各级政府加大在政策和财政上的支持力度^[6]。此外,尽管机采血小板供应快速增长,但仍不能满足临床需求,采供血机构宜加大或恢复手工血小板的制备,以弥临床血小板的供应缺口。

表 1 2012-2014 年全国省市两级血站全血及红细胞供应量与不同制品所占比例 (万 U)

	2012 年			2013 年				2014 年			
	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	增长率 (%) 2012-2013	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	增长率 (%) 2013-2014
全血	2.29 (0.43)	22.96 (1.72)	25.25 (1.35)	1.61 (0.30)	16.25 (1.20)	17.86 (0.94)	-29.26	1.31 (0.23)	14.91 (1.06)	16.22 (0.82)	-9.21
非去白悬浮红细胞	323.15 (61.00)	507.38 (38.01)	830.54 (44.55)	309.78 (57.53)	449.19 (33.03)	758.98 (39.9)	-8.62	313.84 (56.45)	413.89 (29.35)	727.73 (37.02)	-4.12
去白悬浮红细胞	167.19 (31.56)	760.76 (57.00)	927.95 (49.77)	185.80 (34.50)	836.85 (61.53)	1 022.65 (53.86)	10.21	203.99 (36.70)	924.35 (65.56)	1 128.34 (57.40)	10.33
辐照红细胞	26.70 (5.04)	26.82 (2.01)	53.51 (2.87)	24.15 (4.49)	28.79 (2.12)	52.94 (2.79)	-1.08	20.87 (3.75)	31.82 (2.26)	52.69 (2.68)	-0.46
RhD(-)解冻红细胞	0.92 (0.17)	2.71 (0.20)	3.63 (0.19)	0.94 (0.18)	2.76 (0.20)	3.70 (0.20)	2.13	0.91 (0.16)	3.17 (0.22)	4.08 (0.21)	10.19
洗涤红细胞	9.40 (1.77)	13.96 (1.05)	23.36 (1.25)	10.56 (1.96)	15.85 (1.16)	26.41 (1.39)	13.03	11.61 (2.09)	17.24 (1.22)	28.86 (1.47)	9.28
浓缩红细胞	0.08 (0.02)	0.15 (0.01)	0.23 (0.01)	5.63 (1.05)	10.41 (0.77)	16.04 (0.84)	6 739.90	3.38 (0.61)	4.58 (0.32)	7.96 (0.40)	-50.41
合计	529.74	1 334.73	1 864.47	538.48	1 360.10	1 898.58	1.83	555.91	1 409.97	1 965.88	3.54

注:省市两级血站供应的全血及红细胞制品所占比例的比较;2012-2014 年 χ^2 值分别为 1 126 896、1 234 363、1 464 773, $P < 0.01$

表 2 2012-2014 年全国省市两级血站血小板供应量与不同制品所占比例 (机采血小板单位:万治疗量;手工血小板单位:万 U)

	2012 年			2013 年				2014 年			
	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	增长率 (%) 2012-2013	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	增长率 (%) 2013-2014
机采血小板	41.69 (88.06)	45.03 (89.94)	86.72 (89.03)	47.72 (86.56)	52.32 (90.47)	100.04 (88.56)	15.35	50.43 (85.16)	58.99 (90.94)	109.42 (88.18)	9.38
辐照机采血小板	5.35 (11.29)	0.90 (1.80)	6.25 (6.42)	6.93 (12.57)	1.11 (1.92)	8.04 (7.12)	28.65	8.34 (14.09)	1.69 (2.61)	10.03 (8.09)	24.78
冰冻机采血小板	0.30 (0.64)	4.14 (8.26)	4.44 (4.56)	0.48 (0.87)	4.40 (7.61)	4.88 (4.32)	9.87	0.44 (0.75)	4.19 (6.45)	4.63 (3.73)	-5.10
合计	47.34	50.07	97.41	55.12	57.83	112.96	15.95	59.21	64.87	124.08	9.85
手工血小板	13.44 (92.80)	34.70 (82.98)	48.14 (85.51)	9.23 (91.19)	31.64 (82.54)	40.87 (84.35)	-15.09	6.74 (88.85)	30.27 (82.60)	37.01 (83.67)	-9.46
辐照手工血小板	1.04 (7.20)	0.37 (0.89)	1.42 (2.51)	0.89 (8.81)	0.38 (1.00)	1.27 (2.51)	-10.02	0.84 (11.12)	0.32 (0.87)	1.16 (2.63)	-8.73
冰冻手工血小板	0.00 (0.00)	6.74 (16.13)	6.74 (11.98)	0.00 (0.00)	6.31 (16.46)	6.31 (13.02)	-6.43	0.00 (0.03)	6.06 (16.53)	6.06 (13.70)	-3.97
合计	14.49	41.81	56.30	10.12	38.33	48.45	-13.93	7.58	36.64	44.23	-8.73

注:省市两级血站供应不同机采血小板制品所占比例比较;2012-2014 年 χ^2 值分别为 65 244、75 073、178 589, $P < 0.01$;省市两级血站供应不同手工血小板制品所占比例比较;2012-2014 年 χ^2 值分别为 41 573、35 960、37 874, $P < 0.01$

表 3 2012-2014 年全国省市两级血站血浆的供应量与不同制品所占比例 (万 U)

	2012 年			2013 年				2014 年			
	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	增长率 (%) 2012-2013	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	增长率 (%) 2013-2014
新鲜冰冻血浆	180.64 (37.49)	375.91 (16.55)	556.55 (20.22)	178.96 (36.08)	439.71 (19.37)	618.67 (22.37)	11.16	186.87 (35.92)	502.70 (21.76)	689.57 (24.36)	11.46
病毒灭活血浆	134.96 (28.01)	1 195.74 (52.65)	1 330.70 (48.34)	147.20 (29.68)	1 226.00 (54.01)	1 373.20 (49.65)	3.19	155.05 (29.80)	1 222.96 (52.93)	1 378.01 (48.68)	0.35
普通冰冻血浆	166.23 (34.50)	699.45 (30.80)	865.68 (31.45)	169.85 (34.24)	604.04 (26.61)	773.89 (27.98)	-10.60	178.33 (34.28)	584.84 (25.31)	763.17 (26.96)	-1.39
合计	481.83	2 271.10	2 752.93	496.01	2 269.75	2 765.76	0.47	520.26	2 310.49	2 830.75	2.35

注:省市两级血站供应不同血浆制品所占比例的比较;2012-2014 年 χ^2 值分别为 1 378 676、1 078 359、942 774, $P < 0.01$

表 4 2012-2014 年全国省市两级血站冷沉淀和浓缩白细胞的供应量

(万 U)

	2012 年			2013 年			增长率(%) 2012-2013	2014 年			增长率(%) 2013-2014
	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)		血液中心 (%)	中心血站 (%)	合计 (%)	
冷沉淀	56.66	108.73	165.39	61.64	127.49	189.13	14.35	69.72	166.93	236.65	25.12
浓缩白细胞	2.12	0.21	2.33	2.61	0.50	3.11	33.55	1.95	0.23	2.18	-29.71

表 5 2012-2014 年全国各区域的血液供应量
(按区域人数进行标准化)

年度		全血及	机采血	手工	血浆	冷沉淀	白细胞
		红细胞 (U/万人)	小板(治疗 量/万人)	血小板 (U/万人)			
东北	2012	153.65	7.69	1.12	239.73	15.09	11.98
	2013	148.07	8.53	1.34	231.82	16.51	17.33
	2014	150.36	9.22	1.30	228.86	18.33	10.26
华南	2012	145.37	8.06	3.51	137.44	24.87	0.00
	2013	148.11	9.09	2.90	123.50	24.85	0.00
	2014	150.87	9.68	2.97	142.20	35.35	0.00
华北	2012	162.11	11.61	5.10	162.51	5.19	114.09
	2013	163.58	12.78	5.17	168.35	6.59	139.24
	2014	166.28	14.02	4.30	183.34	7.45	103.84
华中	2012	140.04	6.93	4.52	129.21	13.10	0.47
	2013	146.77	8.31	3.22	129.55	15.92	1.34
	2014	152.64	9.32	2.95	125.94	21.25	0.64
华东	2012	135.94	8.25	1.67	298.09	13.64	6.37
	2013	136.66	9.44	1.44	297.01	15.87	6.05
	2014	139.73	10.18	1.12	285.30	17.92	6.37
西北	2012	148.33	4.10	10.81	130.79	5.42	0.08
	2013	145.92	5.22	8.49	127.13	7.06	0.04
	2014	144.85	5.80	6.76	137.36	8.71	0.00
西南	2012	101.17	2.31	7.04	205.50	6.08	0.23
	2013	105.16	3.09	6.28	219.24	7.25	13.78
	2014	115.87	3.51	6.53	240.80	9.45	0.69

本组调查数据显示,全血供应量及其在全部血液制品供应量中所占的比例均在逐年下降,占全血及红细胞临床供应量的比例仅为 1% 左右(表 1),提示全血不“全”、成分输血的理念已被临床普遍接受。全国采供血机构供应的血液制品中,悬浮红细胞和普通冰冻血浆以及手工血小板的供应量及其所占比例呈下降趋势,而去白悬浮红细胞、新鲜冰冻血浆、病毒灭活血浆以及机采血小板的供应量及其所占比例逐年升高(表 1-4);我们分析可能的原因是:由于临床医生对各种(类)血液制品的特性和适应证越来越了解,如去白悬浮红细胞相对于悬浮红细胞可显减少白细胞引起的输血不良反应;新鲜冰冻血浆比普通冰冻血浆富含凝血因子,可用于补充凝血因子;病毒灭活血浆比普通冰冻血浆降低了感染输血传染病的风险;机采血小板比手工血小板相对安全,受血者只需要接受 1 个献血者的血小板即可达到治疗量,降低发生 HLA 同种免疫反应和感染输血传染病的风险;因而临床相应的用血(品种)也越来越具有针对性与科学^[7-8]。此外,血液供应的比例变化和近年来我国采供血机构成分血制备技术水平的提高有关,采供血机构近年来通过加强质量体系建设,采用先进的成分血制备技术,可向临床提供更优质、更有效的血液制品种类。我们也比较了 2012-2014 年省市两级血站供应的不同血液制品所占比例的差异,发现二者提供的血液制品差异明显:红细胞制品,血液中心以非去白悬浮红细胞为主,而中心血站以去白悬浮红细胞为主(表 1);血浆制品,血液中心以新鲜冰冻血浆为主,而中心血站以

病毒灭活血浆为主(表 3)。二者的差异或许与血液中心,供血量更大,人力资源难以满足去白悬浮红细胞以及病毒灭活血浆的制备有关,也可能与血液中心所处的省会城市的医疗机构需要更多新鲜血浆及床边型白细胞过滤器的广泛使用有关,具体原因需要进一步探讨。

依据国家统计局发布的 2012-2014 年的人口统计数据^[9],我们对东北、华北、西北、华东、华中、华南和西南 7 个区域的人均供血量作了分析比较,发现各区域的人均血液供应存在一定的特点和差异。以 2014 年为例,华北地区全血及红细胞、机采血小板以及浓缩白细胞的人均供应量均居全国首位,西南地区的全血及红细胞、机采血小板人均供应量最低;华东地区血浆的人均供应量居全国第一,华中地区居全国末位;华南地区冷沉淀的人均供应量居全国首位,但却不供应浓缩白细胞,华北地区的冷沉淀人均供应量则居全国末位;西北地区手工血小板人均供应量居全国首位,而华东地区居末位(表 6)。导致各个区域人均供应量的差异的具体原因需要进一步探讨。

需要指出的是,本次调查数据尚缺少 4 个市级中心血站的数据,但这 4 个血站供血量相对较少,不会影响本次的调查结果的有效性。我国的港澳台地区社会制度以及采供血模式与大陆地区有所不同,因此也未纳入到本次调查中。此外,本次调查缺少反映临床用血量的医院床位数及手术台数,在未来的调查研究中,需要纳入这方面的内容。

总之,通过调研及时的全国性的临床供血调查数据,对于了解全国临床供血的发展进程及现状,预判全国供血工作发展趋势有重要作用。此外,也可为国家以及各部门制定采供血相关的政策和标准等提供数据支持。

参考文献

- [1] The United States Department of Health and Human Services. National blood collection and utilization survey report. 2005, 2007, 2009 and 2011. 2006-10-11, 2009-01-14, 2011-06-18, 2013-06-28 [2016-03-21] <http://www.hhs.gov/ash/bloodsafety/nbcus/>
- [2] 梁晓华,安万新,孟庆丽,等.全国临床供血工作现状的调查.中国输血杂志, 2011, 24(3): 182-184.
- [3] 宫本兰,张薇,孟庆丽,等.全国 357 家省、市两级采供血机构临床供血现状调查及分析.中国输血杂志, 2012, 25(12): 1248-1250.
- [4] 季阳,郑忠伟,蔡辉,等.谈谈解决我国当前“血荒”的策略和措施.中国输血杂志, 2011, 24(1): 1-3.
- [5] 周建秋.血荒产生原因初探及对策.中国实用医药, 2012, 7(3): 264-265.
- [6] 孟庆丽,安万新,梁晓华,等.政府在无偿献血工作中重要作用的调查与思考.中国输血杂志, 2011, 24(3): 185-186.
- [7] Sullivan MT, McCullough J, Schreiber GB, et al. Blood collection and transfusion in the United States in 1997. Transfusion, 2002, 42

- (10):1253-1260.
- [8] Wallace EL, Churchill, WH, Surgenor DM, et al. Collection and transfusion of blood and blood components in the United States, 1994. *Transfusion*, 1998, 38(7): 625-636.
- [9] 中华人民共和国国家统计局. 2015-02-26 [2016-03-21] <http://data.stats.gov.cn/index.htm> (2016-7-14 收稿, 04-30 修回)

本文编辑:蔡辉

• 论著 •

全国省市两级采供血机构人力资源现状及趋势分析

孟庆丽^{1,2} 董雯³ 高勇² 安万新^{1,2} 梁晓华^{1,2,Δ}

(1.中国输血协会献血促进工作委员会,辽宁 大连 116001;2.大连市血液中心;3.大连医科大学)

摘要:目的 了解我国采供血机构人力资源的现状 & 趋势性变化。**方法** 设计《全国采供血机构人员组成情况调查表》(《调查表》),调查项目包括人员编制、卫生技术人员、学历、职称等情况。《调查表》于 2015 年 7 月 1 日由中国输血协会通过其官网下发,省、市两级采供血机构按要求下载和填报,8 月 31 日为表格填报及上传截止日。由中国输血协会献血促进工作委员会负责用 Excel 2003 录入和整理,并采用 SPSS 统计软件对有效问卷做统计分析。**结果** 此次问卷调查的有效率为 100% (350/350);全国采供血机构 2014 年已有工作人员 34 534 人,人员总数较 2011 年增长了 13.44% (4 092/30 442),较 2008 年增长了 30.87% (8 145/26 389);人员在编比例由 2008 年 67.90% (17 928/26 389)、2011 年 62.21% (18 938/30 442) 下降至 2014 年 60.20% (20 791/34 534);卫生技术人员比例由 2008 年 67.40% (17 785/26 389)、2011 年 70.60% (21 492/30 442) 增加到 2014 年 71.52% (24 700/34 534);人员学历中本科由 2008 年 26.90% (7 093/26 389) 升至 2014 年达到 42.20% (14 574/34 594),同时中专及以下人员由 35.00% (9 230/26 389) 下降至 19.60% (6 770/34 534);人员职称仍以初级为主,由 2008 年 39.80% (10 513/26 389) 升至 2014 年 44.98% (15 532/34 534),比例增加了 5.18%。**结论** 随着采供血机构从业人员数量的不断增加,从业人员的教育素质明显提高,人员队伍呈现年轻化趋势;但是人员缺编情况也越来越严重,或成为影响采供血机构发展的瓶颈。

关键词:采供血机构;血液中心;血站;人力资源;人员编制

中图分类号:R192 C961 R457.1^{1,2} **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0471-04

Status and trend analysis of human resources in blood collection services at provincial and city level in China
MENG Qingli², DONG Wen³, GAO Yong², AN Wanxin^{1,2}, LIANG Xiaohua^{1,2}. 1. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion, Dalian 116001, China; 2. Dalian Blood Center; 3. Dalian Medical University. Corresponding author: LIANG Xiaohua

Abstract: Objective To study the status and trends of human resources in blood collection services at provincial and city level in China.**Methods** Questionnaire of human resources in blood collection services was specifically designed. Items on regular employee, medical technicians, educational background and professional ranks and titles were set in the questionnaire. Questionnaires were distributed on July 1, 2015 by official website of Chinese Society of Blood Transfusion (www.csbt.org.cn). Blood collection services at provincial and city level should fill in and submit before Aug 31. Information according to the questionnaire were collected and sorted out with Excel 2007 by staffs of Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. The valid data were analyzed with SPSS 19.0. **Results** The effective rate of this survey was 100% (350/350). 34 534 employees worked in blood collection services in 2014. This number was 13.44% (4 092/30 442) more than that in 2011 and 30.87% (8 145/26 389) more than that in 2008. The ratio of regular employees decreased from 67.90% (17 928/26 389) in 2008 and 62.21% (18 938/30 442) in 2011 to 60.20% (20 791/34 534) in 2014. The ratio of medical technicians increased from 67.40% (17 785/26 389) in 2008 and 70.60% (21 492/30 442) in 2011 to 71.52% (24 700/34 534) in 2014. The ratio of employees with university degree increased from 26.90% (7 093/26 389) in 2008 to 42.20% (14 574/34 594) in 2014, while the ratio of employees with no college educational background decreased from 35.00% (9 230/26 389) in 2008 to 19.60% (6 770/34 534) in 2014. Professional ranks and titles were mainly occupied by junior title. The ratio increased 5.18%, from 39.80% (10 513/26 389) in 2008 to 44.98%

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.010

Δ通信作者:梁晓华(1968.07-),女,主任技师、教授,硕士研究生导师,主要从事血液免疫和血液安全研究,电话:0411-82654596, Email:liangxh@dl.cn

(15 532/34 534) in 2014. **Conclusion** The number of employees in blood collection services increased rapidly these years. Personnel quality increased significantly. Staffs' ages were

younger than before. However, the deficiency of regular employees has become more and more serious these years, which could result in bottle-neck of personnel development in blood collection services.

Key words: blood collection services; blood centers; blood banks; human resources

血站(采供血机构)在我国卫生系统中是从事采供血业务的事业单位,属于典型的非营利性公益组织。在市场化的大背景下,血站人力资源的优化配置也面临着多方的压力和挑战。为全面了解我国采供血机构人力资源现状,中国输血协会献血促进工作委员会(以下简称献血促进委)在 2009、2012 年 2 次全国调研的基础上,于 2015 年再次对全国(除台湾省与香港、澳门 2 个特别行政区)31 个省级区域及新疆生产建设兵团的共 350 家省、市两级采供血机构的人力资源现状作了问卷调查,以期掌握近年来血站人力资源发展的趋势,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的共 354 个省、市两级采供血机构(机构数量由各省血液中心上报后汇总),其中省级血站 32 个(包括 31 个省级血液中心和新疆生产建设兵团中心血站),市级血站 322 个(含副省级城市的血液中心和中心血站)(分站和中心血库的资料统计入所辖市级血站)。鉴于调研的目的是为促进我国无偿献血事业健康、持续发展,调研对象只涵盖血液中心和中心血站,不包括单采血浆站。

1.2 问卷设计 《全国采供血机构人员组成情况调查表》(以下简称《调查表》)由中国输血协会牵头组织国内采供血机构的专家,在借鉴前 2 次调研内容^[1-2]的基础上,依据我国采供血工作的实际开展情况和相关的历史调研数据,共同研究、制定;调研项目:人员编制情况、卫生技术人员情况、职称情况、学历情况等;调研的时间段:2012 年 1 月 1 日-2014 年 12 月 31 日。

1.3 调查步骤 《调查表》于 2015 年 7 月 1 日由中国输血协会通过其官网(www.csbt.org.cn)正式下发,省、市两级采供血机构按要求下载表格,将填好的电子版和纸质表格上传或邮寄回指定的邮箱或地址。各省、自治区、直辖市的血液管理部门和献血促进委委员单位负责本区域内采供血机构填报人员的培训,并督促各项数据的上报和补报工作。献血促进委负责数据的后期整理、数据复核、结果汇总和统计分析等工作。至 8 月 31 日填报截止日,共收回 350 份《调查表》,回收率为 98.87%(350/354);对填报表格的有效性确认是按 30%的比例以电话方式核实数据:确认 350 份是数据完整、准确,各类人员的分类与合计数量相符,均为有效数据,有效率为 100%。

1.4 统计分析方法 采用 Excel 2007 录入和整理数据,采用 SPSS 19.0 统计软件做数据分析。将上述数据汇总后,分别与 2008 和 2011 年的同类调研数据^[1-2]做 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2014 年全国 350 家血站人员总量及其的变化情况 本

组采供血机构人员总量较 2011 年增长了 13.44%(4 092/30 442),其中血液中心增长 7.29%(558/7 658),中心血站增长 15.51%(3 534/22 784),较 2008 年增长了 30.87%(8 145/26 389),其中血液中心增长 10.43%(776/7 440),中心血站增长 38.89%(7 369/18 949)(图 1)。

2.2 2014 年全国 350 家血站人员编制、卫生技术人员比例及其变化情况 本组采供血机构人员在编比例 60.20%(20 791/34 534)(表 1),卫生技术人员的比例为 71.52%(24 700/34 534)(表 2);2008、2011 年相应比例分别为 67.90%(17 928/26 389)、62.21%(18 938/30 442)和 67.40%(17 785/26 389)、70.60%(21 492/30 442),与 2008 年相比,血站新增人员中,仅 35.15%(2 863/8 145)获得编制,而 84.90%(6 915/8 145)为专业人员(图 2)。

2.3 2014 年全国 350 家血站人员学历及其变化情况 本组采供血机构人员中博士、硕士、大学本科、大专、中专及以下学历者的比例分别为 0.28%(97/34 534)、3.14%(1086/34 534)、42.20%(14 574/34 594)、34.77%(12 007/34 534)、19.60%(6 770/34 534)(表 3),较 2008 年分别增加了 0.08%、1.34%、15.30%、-1.43%、-15.40%(图 3)。

2.4 2014 年全国 350 家血站人员技术职称及其变化情况 本组采供血机构人员中正高、副高、中级、初级及其他学历者的比例分别为 1.76%(607/34 534)、7.28%(2 513/34 534)、23.03%(7 952/34 534)、44.98%(15 532/34 534)、22.96%(7 930/34 534)(表 4);与 2008 年不同职称的构成相比,在比例上分别增加了 0.56%、1.28%、-0.47%、5.18%、-6.54%(图 4)。

表 1 350 家采供血机构 2014 年人员编制情况

	<i>n</i>	在编人数(%)	非在编人数(%)	合计
机构类型	血液中心	32 5 084(61.88)	3 132(38.12)	8 216
	中心血站	318 15 707(59.68)	10 611(40.32)	26 318
采血量(吨)	< 2	36 518(74.53)	177(25.47)	695
	≥ 2-5	66 2 106(63.15)	1 229(36.85)	3 335
	≥ 5-10	111 5 021(60.65)	3 258(39.35)	8 279
	≥ 10-25	97 6 599(57.68)	4 842(42.32)	11 441
	≥ 25	40 6 547(60.71)	4 237(39.29)	10 784
	合计	350 20 791(60.20*)	13 743(39.80)	34 534

注: * 2014 年在编人数比例与 2008 年、2011 年数据比较, χ^2 值分别为 382.89、27.55, $P < 0.05$ 。

表 2 350 家采供血机构 2014 年卫生技术人员情况

	<i>n</i>	卫技人员(%)	非卫技人员(%)	合计
机构类型	血液中心	32 5 933(72.21)	2 283(27.79)	8 216
	中心血站	318 18 767(71.31)	7 551(28.69)	26 318
采血量(吨)	< 2	36 532(76.55)	163(23.45)	695
	≥ 2-5	66 2 473(74.15)	862(25.85)	3 335
	≥ 5-10	111 6 007(72.56)	2 272(27.44)	8 279
	≥ 10-25	97 7 984(69.78)	3 457(30.22)	11 441
	≥ 25	40 7 704(71.44)	3 080(28.56)	10 784
	合计	350 24 700(71.52*)	9 834(28.48)	34 534

* 与 2008、2011 年数据比较, χ^2 值分别为 120.40、6.68, $P < 0.05$ 。

表 3 350 家采供血机构 2014 年人员学历情况

	<i>n</i>	博士	硕士	本科	专科	中专及以下	合计	
机构类型	血液中心	32	74(0.90)	545(6.63)	3 808(46.35)	2 256(27.46)	1 533(18.66)	8 216
	中心血站	318	23(0.09)	541(2.06)	10 766(40.91)	9 751(37.05)	5 237(19.90)	26 318
采血量 (吨)	<2	36	0(0)	9(1.29)	242(34.82)	313(45.04)	131(18.85)	695
	≥2-5	66	2(0.06)	22(0.66)	1 228(36.82)	1 248(37.42)	835(25.04)	3 335
	≥5-10	111	0(0)	107(1.29)	3 232(39.04)	3 232(39.04)	1 708(20.63)	8 279
	≥10-25	97	8(0.07)	275(2.40)	4 820(42.13)	4 134(36.13)	2 204(19.26)	11 441
	≥25	40	87(0.81)	673(6.24)	5 052(46.85)	3 080(28.56)	1 892(17.54)	10 784
合计	350	97(0.28*)	1 086(3.14*)	14 574(42.20*)	12 007(34.77*)	6 770(19.60*)	34 534	

* 与 2008、2011 年数据比较, χ^2 值分别为 17 180.00、22 841.00, $P < 0.05$ 。

表 4 350 家采供血机构 2014 年人员职称情况

	<i>n</i>	正高级	副高级	中级	初级	其他	合计	
机构类型	血液中心	32	220(2.68)	610(7.42)	1 763(21.46)	3 693(44.95)	1 930(23.49)	8 216
	中心血站	318	387(1.47)	1 903(7.23)	6 189(23.52)	11 839(44.98)	6 000(22.80)	26 318
采血量 (吨)	<2	36	12(1.73)	75(10.79)	184(26.47)	270(38.85)	154(22.16)	695
	≥2-5	66	51(1.53)	307(9.21)	823(24.68)	1 366(40.96)	788(23.63)	3 335
	≥5-10	111	108(1.30)	585(7.07)	1 945(23.49)	3 771(45.55)	1 870(22.59)	8 279
	≥10-25	97	163(1.42)	804(7.03)	2 569(22.45)	5 405(47.24)	2 500(21.85)	11 441
	≥25	40	273(2.53)	742(6.88)	2 431(22.54)	4 720(43.77)	2 618(24.28)	10 784
合计	350	607(1.76*)	2 513(7.28*)	7 952(23.03*)	15 532(44.98*)	7 930(22.96*)	34 534	

* 与 2008、2011 年数据比较, χ^2 值分别为 18 604.00、23 199.00, $P < 0.05$ 。



图 1 2014 年全国 350 家血站人员总量及其较前 2 次调研的变化情况

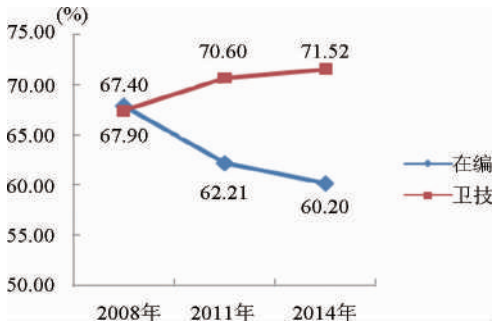


图 2 2008-2014 年全国 350 家血站人员编制、卫技人员比例及其变化情况

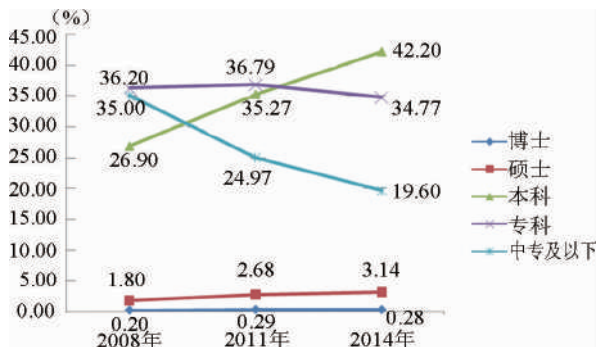


图 3 2008-2014 年全国 350 家血站人员学历及其变化情况

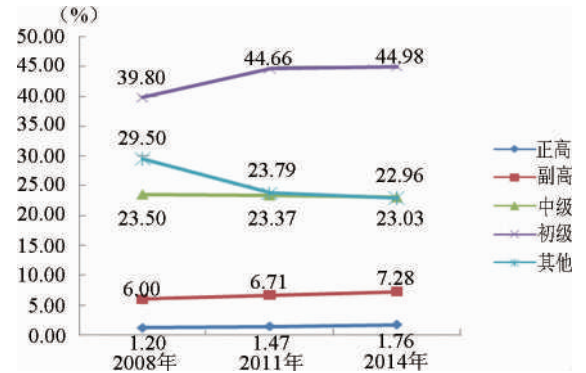


图 4 2008-2014 年全国 350 家血站人员技术职称及其变化情况

3 讨论

近年来随着我国医疗水平的提高与人口老龄化问题的日益凸现,尤其是“新农合”医保政策的实施,使得临床用血需求量膨胀,因而要求血站的采血量也随之相应增加,这势必需要采供血机构要投入更多的人力资源到采供血工作中。本次调研结果显示,2008-2014 年的 6 年,我国采供血机构的从业人员数量直线上升,增长率达到 30.87% (图 1),与同期采血量的增长率 33.45% 保持了同步^[3];但是新增人员中,仅 35.15% 为编制内人员,而 64.85% 的人为编外人员,将原本不高的血站在编人员比例进一步拉低 (图 1),到 2014 年全国血站在编人员比例仅为 6 成左右,尤其以大、中型血站缺编明显 (表 1)。这与多年来一直倡导的增加血站编制以解决血站员工同工同酬问题,提高员工工作积极性的愿望背道而驰。令人喜忧参半的是采供血机构卫生专业技术人员比例呈现逐年上升趋势,2009-2014 年增长了 4.12%,但 2011-2014 年仅增长 0.92%,显示出后劲乏力 (图 2);即便过去 6 年血站新增人员中有 84.9% 为卫生专业技术人员,但到了 2014 年也刚及 71.52%,尚未达到“一法两规”要求 (75%) (表 2)。

过去 6 年,在全国采供血机构的人员所具有的学历中,

大学本科者增长的比例最快,从 2008 年占比第 3 跃居为 2014 年的第 1,累计增加 15.30%;同期中专及以下人员所占的比例则大幅降低(-15.40%),大专人员仅有略微下降,博士和硕士人员主要分布于≥25 吨的大型采供血机构,且硕士的比例 6 年间只有小幅升高(图 3,表 3)。人员学历的变化一方面说明与采供血机构日益注重在职的人才的培养,使员工有机会接受更高层次的在职教育^[3],另一方面也与血站在引进或招聘人才时更注重人才的年龄、学历及专业层次结构的合理搭配^[4]。至于技术职称,除初级职称者一直占据绝对优势,其中 2008-2011 年增幅比例最明显、2011-2014 年基本持平外,“其他”者比例在 2008-2011 年大幅下降,2011-2014 年基本持平(图 4);中级人员占比接近 1/4 且 6 年变化幅度较小,正高和副高学历人员有小幅增加,但二者之和 6 年间始终未超过 10%。1 个专业机构的专业人员技术职称合理的构成比例从初级至高级应呈“梯形”或“金字塔形”分布,但是现实中,血站的正高和副高人员数量往往受到多方面限制,使得部分具有能力和资历的技术人员滞留在较低职称级别上难以晋升。

通过上述调研结果与趋势的分析,可以看到我国采供血机构的人力资源管理中既有向好发展的趋势,但也存在诸多

问题。要使采供血机构拥有 1 个科学、合理的人力资源量与质的优化配置,需要血站自身的积极努力与各方的大力支持——只有适宜的内外环境、大小环境,才能促进我国采供血事业的发展,满足临床用血不断增长的需求,实现医疗卫生救死扶伤的重要任务。本次调研的不足之处在于,有 4 家市级血站未提供相应数据,部分小型分站的数据也未统计进来,这些数据相对于全国已经调研上来的庞大的数据虽然显得微不足道,也不能影响整体数据的走势,但终归令人感到遗憾。

参考文献

[1] 徐爽,刘青宁,安万新,等.采供血机构人力资源发展现状.中国输血杂志,2011,24(3):192-193.
 [2] 潘凌子,安万新,梁晓华,等.全国 357 家省、市两级采供血机构人力资源现状的调查.中国输血杂志,2013,26(1):14-18.
 [3] 翟培聪,李蓬,徐凌忠.山东省血站人力资源存在的问题与对策.社区医学杂志,2013,11(18):80-81.
 [4] 蔡珊.我国医院人力资源配置现存问题的对策.现代商业,2012(21):70.

(2016-07-14 收稿,2017-05-04 修回)

本文编辑:蔡辉

· 论著 ·

全国省市两级采供血机构人员数量与采血量关系的调查与分析

孟庆丽¹ 高勇¹ 董雯² 范亚欣^{1,3} 安万新^{1,3} 梁晓华^{1,3,Δ}

(1.大连市血液中心,辽宁 大连 116001;2.大连医科大学;3.中国输血协会献血促进工作委员会)

摘要:目的 通过建立人员数量与采血量之间的关系方程,衡量采供血机构人员设置的合理性。**方法** 设计专门的《调查表》,对省市两级采供血机构的人员数量与采血量进行问卷调查。**结果** 省级血液中心的平均人数是中心血站的 3.1 倍,采集 1 吨血所需人数是中心血站的 0.66 倍;采集 1 吨血所需人数随规模的增大而降低;按采血量吨位数将 350 个采供血机构划分为<2、≥2-5、≥5-10、≥10-25、≥25 这 5 个等级,建立了 6 个人员数量与采血量的关系方程,经过检验,各个方程为有效方程(P<0.05)。**结论** 人力资源的优化配置,不但能节约支出、提高效能,还能有效保障无偿献血事业长足的发展。

关键词:采供血机构/人员;采血量

中图分类号:R457.1² R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0480-03

Relationship between the number of employees and the amount of blood collection in blood collection services on provincial and city levels in China MENG Qingli¹, GAO Yong¹, DONG Wen², AN Wanxin^{1,3}, LIANG Xiaohua^{1,3}. 1. Dalian Blood Center; Dalian, 116001, China; 2. Dalian Medical University; 3. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. Corresponding author: LIANG Xiaohua

Abstract: Objective To evaluate the rationality of human resources in blood collection services through equations. **Methods** A questionnaire was designed specifically to survey and distribute to all blood collection services on provincial and city levels. **Results** The average employee number in blood centers was 3.1 times than that in blood banks, while the number of people needed to collect 1 ton of blood in blood center was 0.66 times than that in blood banks. Collection of 1 ton of

blood requires more people in smaller blood collection services. 350 blood collection services were divided into 5 groups according to their amount of blood collection. They were <2, ≥2-5, ≥5-10, ≥10-25 and ≥25. Six equations were build and

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.011
 Δ通信作者:梁晓华(1968.07-),女,主任技师、教授,硕士研究生导师,主要从事血液免疫和血液安全研究,电话:0411-82654596, Email:liangxh@dl.cn

all of them were valid ($P < 0.05$). **Conclusion** It is cost saving and improves efficiency to rationally provide and allocate personnel. It is necessary to guarantee the development of blood donation.

Key words: blood collection services/employee; amount of blood collection

人力资源作为采供血机构的第一资源,在采供血工作中发挥着积极的主导作用。随着我国采供血工作大环境的不断变化,各地采供血机构的压力不断攀升,通过对人员数量、岗位等各方面的合理调整,可以使采供血机构更好地适应这一变化的需求。本文在前期工作的基础上,于 2015 年对全国 350 家省、市级采供血机构的人员现状进行了问卷调查,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的 354 家采供血机构,32 个为省级血液中心,322 个为市级中心血站。

1.2 调查方法 《调查表》于 2015 年 7 月 1 日以中国输血协会的名义发出,对 354 个省市两级采供血机构 2014 年度的采血量和人员数量进行调查。截至 8 月 31 日,共收回 350

份《调查表》,回收率为 98.87%。收回的《调查表》经数据核实,确认 350 份均为有效数据,有效率为 100%。

1.3 统计学方法 在 SPSS19.0 统计软件中,用 t 检验对人员均数进行比较,用回归分析建立人员数量和采血量的回归方程,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 采供血机构的人员情况 350 家采供血机构 2014 年共有职工 34 534 人。省级血液中心的平均人数是中心血站的 3.1 倍(256.75/82.76),采集 1 吨血所需人数是中心血站的 0.66 倍(8.44/12.84);依据 2014 年的采血量(另文报道)对 350 家采供血机构按规模划分,结果显示,平均人数随机构规模的增大而增加,采集 1 吨血所需人数随规模的增大而降低(表 1)。

2.2 人员数量与采血量的关系 见表 2。

表 1 350 家采供血机构人员概况

	机构数量 (n)	人员总数	机构人数			1 吨血所需人数			
			范围	均值	中位数	范围	均值	中位数	
机构类型	血液中心	32	8216	27-719	256.75▲	246.00	4.62-31.28	8.44	6.96
	中心血站	318	26318	6-346	82.76▲	72.00	4.23-134.98	12.84	9.92
采血量*(吨)	< 2	36	695	6-46	20.58★	21.00	13.54-134.98	33.32◆	24.52
	≥ 2-5	66	3335	25-146	49.83★	45.00	8.56-41.74	14.78◆	13.11
	≥ 5-10	111	8279	45-176	74.59★	72.00	6.44-25.26	10.47◆	9.92
	≥ 10-25	97	11441	62-230	117.95★	113.00	4.23-15.55	7.81◆	7.59
	≥ 25	40	10784	117-719	269.60★	246.50	4.42-9.29	6.44◆	6.35
合计	350	34534	6-719	98.67▲▲	77.00	4.23-134.98	12.44◆	9.60	

注:1. ※ 采血量为全血血量与机采血小板量之和,1 治疗量机采血小板按 200 ml 计;2. ▲ 血液中心、中心血站及合计均值之间两两比较,F 值分别为 53.79、13.93、17.80,P 值均 < 0.05,具有显著性差异;3. ★ 除 <2 吨与 ≥2-5 吨、≥2-5 吨与 ≥5-10 吨两组之外,其余各组两两比较,P 值均 < 0.05,具有显著性差异,F 值略;4. ◆ ≥2-5 吨与合计均值、≥10-25 吨与 ≥25 吨两组之外,其余各组两两比较,P 值均 < 0.05,具有显著性差异,F 值略

表 2 350 家采供血机构人员数量与采血量的关系

机构数量	方程	R ²	F	方程	常数项	系数
< 2	y = 12.714x + 9.798	0.576	46.264	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05
≥ 2-5	y = 6.952x + 25.743	0.077	5.306			
≥ 5-10	y = 7.351x + 21.653	0.208	28.677			
≥ 10-25	y = 5.892x + 27.527	0.435	73.286			
≥ 25	y = 4.699x + 70.457	0.704	90.481			
合计	y = 5.445x + 32.112	0.88	2556.971			

注:x 为全血血量与机采血小板量之和,1 治疗量机采血小板按 200 mL 计,换算为单位吨;y 为人员数量

3 讨论

由于我国幅员辽阔,经济发展的巨大差异和地理位置的特殊性,决定了我国拥有数量众多的采供血机构,仅市、地级以上就有 350 余家,且人员数量和血站规模相差悬殊。卫生部 2000 年修订的《血站基本标准》曾提出卫生技术人员数与年采供血量的参考比例,考虑到其他人员与采供血工作的密切关系和近年来卫生技术人员的比例均未达到《血站基本标准》和《血站质量管理规范》中规定的 75% 的比例^[1,2],本文采用职工总数与采血量关系进行分析。

调查结果显示,我国年采血量不足 2 吨的血站和年采血

量超过 25 吨的血站占比均超过 10%。采供血机构所需的人员数量随机构规模的增大而增加,但采集 1 吨血所需的人员数量却相应降低。例如,年采血量超过 25 吨的大型机构平均人数虽然是 2 吨以下血站的 13.1 倍(269.60/20.58),但是采集 1 吨血所需的人数却仅为 2 吨以下血站的 1/5(6.44/33.32),充分表明采供血工作效率在大型机构中所具有的规模效应。省级血液中心由于 68.75%(22/32)是年采血量 25 吨以上的大型机构,因此,其与中心血站之间的差异也符合规模效应。

《血站设置规划指导原则》要求,部分采血量较小的地区,邻近血站可以进行整合,对血站的功能进行调整,采血量

一般在 10 吨以上的,可以开展采供血、血液制备、血液检测等工作;采血量在 5-10 吨之间,一般不承担血液检测任务;采血量在 5 吨以下,仅负责采供血。依据该要求,部分规模较小的血站将整合成中等规模的血站,依托较大的血站推进集中化检测进程,可以较好地利用规模效应减少人员的重复设置,提高中小血站的采供血效率。

依据采血量,参照人员数量与采血量之间的线性关系方程,可以使采供血机构明确本机构工作人员的设置是否合理,是否存在因岗位设置不合理、不分层次地使用人才或人员专业、学历等结构不合理等原因造成的人员不足或人员浪费现象。通过工作分析、岗位评价、绩效考核和薪酬结构等管理技术与手段,把有限的人员合理安置在胜任的岗位上,充分调动现有员工的积极性和主动性,使岗得其人,人尽其才,在“一法两规”的框架内,既做到对现有人员的充分利用,又能达到提高效能的目的^[1-2]。

总之,人员因素作为第一要素,是开展采供血工作的先决条件,只有积极实现人力资源的优化配置,重视人力资源管理人才梯队的建设,努力创造人才的发展环境,建立适应采供血机构岗位特点、符合岗位要求的人才培养机制,我国的无偿献血事业才能取得更好的发展,也才能为人民群众提供良好的医疗保障服务。

参考文献

- [1] 潘凌子,安万新,梁晓华,等.全国 357 家省、市两级采供血机构业务岗位设置比较与分析.中国输血杂志,2013,26(1):16-18.
- [2] 徐爽,刘青宁,安万新,等.采供血机构人力资源管理存在的问题及对策.中国输血杂志,2011,24(3):194-196.

(2016-07-14 收稿,2017-03-20 修回)

本文编辑:夏玲

· 论著 ·

全国省市两级采供血机构血液成分制备技术开展情况调查与分析

潘凌子¹ 孟庆丽¹ 范亚欣^{1,2} 安万新^{1,2} 梁晓华^{1,2,Δ}

(1. 大连市血液中心,辽宁 大连 116001;2. 中国输血协会献血促进工作委员会)

摘要:目的 了解血液成分制备技术的使用与开展的新情况、新趋势。**方法** 向全国省、市级中心血站以上的采供血机构发放问卷,对白细胞过滤、病毒灭活、血小板采集分离、血液辐照、血液冷冻保存及冷沉淀制备等技术的开展情况进行调查,汇总统计数据。**结果** 至 2014 年,我国血液成分分离率上升至 99.17%,去白悬浮红细胞、辐照红细胞制备比例达 49.68% 和 2.87%,手工血小板的机构开展比例下降至 32.57%,冷沉淀制备比例达 7.07%。**结论** 我国采供血机构血液产品的供应结构日趋优化,随机机构类别、采供血规模不同,血液制备技术的发展呈现不同特点。合理开展,利用现有的技术手段,提高成分制备自动化水平,从而为临床提供更加安全、有效的血液产品。

关键词: 血液成分制备;采供血规模;采供血机构

中图分类号: R457.1⁺2 R193.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0482-04

Investigation and analysis of blood component preparation in provincial and municipal blood banks PAN Lingzi¹, MENG Qingli¹, FAN Yaxin^{1,2}, AN Wanxin^{1,2}, LIANG Xiaohua^{1,2}. 1. Dalian Blood Center, Dalian 116001 China; 2. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. Corresponding author: LIANG Xiaohua

Abstract: Objective To find out new status and new trends of technical application in blood component preparation. **Methods** A questionnaire was designed survey the provincial and municipal blood centers on technical application in blood component preparation. **Results** Until 2014, the proportion of blood component separation had risen to 99.17%. The ratio of leukocyte-reduced red blood cells and irradiative red blood cells had risen to 49.68% and 2.87%, while cryoprecipitate had risen to 7.07%. The ratio of blood banks which helped to prepare platelet concentrates had fallen to 32.57%. **Conclusion** The supply of blood products in China has become more and more optimized. The development of blood production technology presents with different characteristics. Proper use of technology and improvement in automation can provide safe and effective use of blood components.

Key words: blood component preparation; scale of blood collection; blood bank

别的基础上,优化产品结构,提高血液产品的安全性与有效性。我们向全国省、市级中心血站以上的采供血机构发放问卷,对白细胞过滤、病毒灭活、血小板采集分离、血液辐照、血液冷冻保存及冷沉淀制备等技术的开展情况进行调查汇总,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的 32 个血液中心和地市级以上的 322 个中心血站,共计 354 家采供血机构,收到 350 家采供血机构(分站和中心血库的资料汇入所辖市级中心血站)反馈。

1.2 方法 《调查表》于 2015 年 7 月 1 日以中国输血协会的名义发出,对 354 个省市两级采供血机构 2012-2014 年度开展白细胞过滤、病毒灭活、血小板采集与分离、血液辐照、血液冷冻保存及冷沉淀制备等技术开展情况进行调查。截至 8 月 31 日,共收回 350 份《调查表》,回收率为 98.87%。收回的《调查表》经数据核实,确认 350 份均为有效数据,有效率为 100%。

2 结果

2.1 血液成分分离率 2012-2014 年度全国血液成分分离

表 2 红细胞类成分制备采供血机构开展率

机构	机构开展率(%)							
	全血	非去白红细胞悬液	去白红细胞悬液	辐照红细胞	RhD(-)解冻红细胞	洗涤红细胞	浓缩红细胞	
2012 年	血液中心	93.75	84.38	75	50	96.88	96.88	0
	中心血站	90.57	60.38	73.27	8.18	62.26	85.53	0.63
	合计	90.86	62.57	73.43	12	65.43	86.57	0.57
2013 年	血液中心	90.63	84.38	78.13	53.13	93.75	96.88	21.88
	中心血站	88.05	59.43	75.47	9.75	65.41	85.85	7.86
	合计	88.29	61.71	75.71	13.71	68	86.86	9.14
2014 年	血液中心	93.75	84.38	78.13	53.13	96.88	96.88	15.63
	中心血站	87.42	55.97	79.56	11.64	67.92	87.74	5.97
	合计	88	58.57	79.43	15.43	70.57	88.57	6.86

表 3 2012-2014 年度红细胞类成分年均制备率

机构	红细胞年均 献血量(万 U)	年均成分制备率(%)						
		非去白红细胞悬液	去白红细胞悬液	辐照红细胞	RhD(-)解冻红细胞	洗涤红细胞	浓缩红细胞	
年采血量(吨)	>50	331.52	72.98	19.38	5.02	0.15	2.02	0.02
	25-50	413.88	26.76	69.98	0.44	0.19	1.52	0.71
	10-25	655.84	31.38	63.06	3.10	0.23	1.42	0.36
	5-10	386.54	39.97	52.18	3.65	0.2	0.86	0.4
	2-5	106.55	50.76	45.29	0.15	0.19	0.56	1.07
	<2	15.00	44.22	47.54	0.01	0.16	0.27	0
机构	血液中心	565.41	59.16	33.57	4.23	0.17	1.91	0.54
	中心血站	1343.92	32.68	62.11	2.17	0.21	1.15	0.38
合计	1909.33	44.64	49.68	2.87	0.19	1.25	0.01	

2.2 红细胞类制品制备情况 2012-2014 年度,各级采供血机构中,制备去白悬浮红细胞、辐照红细胞的机构比例均呈上升趋势;制备洗涤红细胞的中心血站比例也逐年升高(表 2)。血液中心与中心血站在辐照红细胞、解冻红细胞等成分的机构开展率方面差异显著(表 2)。年采血量>50 吨机构制备的红细胞成分以非去白红细胞悬液为主,年采血量 5-50 吨的机构以去白红细胞悬液为主;血液中心制备的红细胞成分以非去白红细胞悬液为主,中心血站以去白红细胞悬液为主(表 3)。

2.3 血小板类成分制备情况 机采血小板采集量上升迅速,2012 年为 95.87 万治疗量,至 2014 年已达 122.33 万治疗量。全血制备手工血小板的比例呈下降趋势,中心血站的制备比例显著高于血液中心(图 1)。年采供血量>50 吨的机构中有 63.64%制备手工血小板供应临床,远高于全国平均水平 36.00%。制备辐照血小板的血液中心比例显著高于中心血站,中心血站的机构开展率逐年上升(表 3)。辐照机采血小板随机构年血量的减少,制备率呈下降趋势,血液中心与中心血站的制备率差异显著(表 4)。

率总体高于 98%,呈逐年缓慢上升趋势,血液中心总体略高于中心血站(表 1)。

表 1 全国血液成分分离率情况

机构	数量	成分分离率(%)			
		2012 年	2013 年	2014 年	
年采血量(吨)	>50	11	99.44	93.91	99.72
	25-50	29	99.43	99.61	99.74
	10-25	97	99.42	99.63	99.65
	5-10	111	96.30	97.55	97.82
	2-5	66	97.74	98.08	98.32
	<2	36	92.57	94.85	95.41
机构	血液中心	32	99.44	99.67	99.77
	中心血站	318	98.30	98.83	98.96
合计	350	98.65	99.06	99.17	

2.4 血浆及其他类产品的制备情况 开展制备新鲜冰冻血浆、病毒灭活血浆、普通冰冻血浆、冷沉淀和浓缩白细胞的采供血机构中,血液中心的比率均高于中心血站(表 6)。中心血站以制备病毒灭活血浆为主,其比例显著高于血液中心。随年采供规模不同,各机构血浆产品的供应比例差异显著(表 7)。冷沉淀制备量由 2012 年的 165.39 万单位上升至 2014 年的 236.65 万单位,由血浆制备冷沉淀的比例从 2012 年的 6.01%上升至 2014 年的 8.36%。年采血量 25-50 吨的采供血机构冷沉淀制备率最高,而年采血量 10-25 吨的采供

血机构中冷沉淀制备的开展率最高(图 2)。

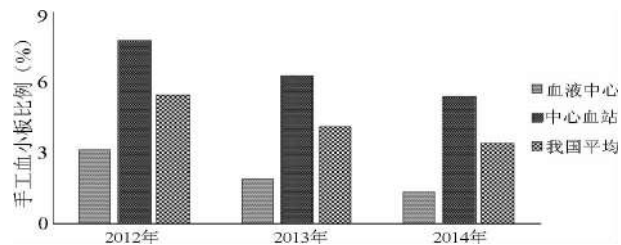


图 1 采供血机构血小板供应中手工血小板情况

表 4 血小板成分制备采供血机构开展率

机构	机构开展率(%)					
	普通机采	辐照机采	冰冻机采	普通手工	辐照手工	冰冻手工
2012年 血液中心	93.75	50.00	37.50	46.88	12.50	0.00
2012年 中心血站	87.74	5.66	38.36	37.42	1.57	6.60
2012年 合计	88.29	9.71	38.29	38.29	2.57	6.00
2013年 血液中心	93.75	50.00	34.38	40.63	15.63	0.00
2013年 中心血站	88.36	7.23	37.74	36.16	0.63	6.92
2013年 合计	88.86	11.14	37.43	36.57	2.00	6.29
2014年 血液中心	93.75	50.00	31.25	37.50	12.50	3.13
2014年 中心血站	88.99	7.55	42.14	32.08	0.94	7.55
2014年 合计	89.43	11.43	41.14	32.57	2.00	7.14

2.5 血液成分制备方法根据自动化程度,将血液成分制备分为纯手工分离、手工为主自动化为辅、手工与自动化各半、自动化为主手工为辅、纯自动化分离 5 种。手工分离仍是主

表 5 2012-2014 年度血小板类成分年均制备率

年采血量(吨)	机采血小板献血量 (万治疗量)	机采血小板年均成分制备率(%)			手工血小板 制备量(单位)	手工血小板年均成分制备率(%)		
		普通机采	辐照机采	冰冻机采		普通手工	辐照手工	冰冻手工
>50	35.68	83.27	16.14	0.59	5.03	98.38	1.62	0.00
25-50	31.93	91.63	5.39	2.98	3.69	88.92	0.01	11.07
10-25	30.67	91.51	1.93	6.55	17.63	94.18	4.89	0.93
5-10	10.77	89.55	0.28	10.17	18.87	74.43	1.81	23.77
2-5	2.17	83.88	0.22	15.91	4.66	74.66	0.00	25.34
<2	0.19	86.06	0.11	13.83	0.26	48.72	0.00	51.28
机构 血液中心	54.36	86.59	12.65	0.76	11.53	91.96	8.03	0.01
机构 中心血站	57.05	90.43	2.16	7.41	38.61	82.57	0.93	16.50
合计	111.41	89.03	6.42	4.55	50.14	85.60	2.50	11.90

表 6 血浆及其他成分制备采供血机构开展率

机构	机构开展率(%)						
	新鲜冰冻血浆	病毒灭活血浆	普通冰冻血浆	冷沉淀	浓缩白蛋白	其它	
2012年 血液中心	90.63	65.63	90.63	90.63	25.00	6.25	
2012年 中心血站	79.25	55.66	75.47	81.76	6.60	1.89	
2012年 合计	80.29	56.57	76.86	82.57	8.29	2.29	
2013年 血液中心	90.63	68.75	87.50	90.63	25.00	3.13	
2013年 中心血站	78.62	59.12	75.47	82.39	5.66	2.52	
2013年 合计	79.71	60.00	76.57	83.14	7.43	2.57	
2014年 血液中心	90.63	68.75	90.63	90.63	21.88	6.25	
2014年 中心血站	78.93	59.75	73.90	83.96	4.09	3.14	
2014年 合计	80.00	60.57	75.43	84.57	5.71	3.43	

继 2009-2011 年,全国采供血机构中开展单采血小板的机构更加普及,制备手工血小板的比例小幅下降^[1]。随着医疗水平不断提高,临床对血小板的需求量迅速增加,全国采供血机构仅机采血小板的供应上升幅度就达 27.60%。然而,近年来日益严重的“血荒”现象造成多地机采血小板供应不足以满足临床需求,制备手工血小板依然是血小板供应的重要补充。年采血量>50 吨的采供血机构是“血荒”的重灾

要的血液成分制备方法,采用全手工分离与手工分离为主的制备方法的采供血机构大于 50%(表 8)。

3 讨论

伴随医疗水平的提高,临床输血正朝着规范化和标准化的方向发展。成分输血的比例继 2009-2011 年度继续升高^[1],至 2014 年已达到 99.17%,但部分年采供血量<10 吨的机构仍有一定的上升空间。

数据显示,2012-2014 年间全国采供血机构供应的红细胞类产品结构更趋合理。中心血站与年采供血 10-50 吨的较大机构更倾向于使用白细胞过滤技术制备去白细胞悬浮红细胞供应临床,使用该技术的采供血机构比例逐年增加,至 2014 年已达到 79.43%。2012 年颁布的《血站技术操作规程》重新定义了洗涤红细胞的保存期限^[2],一定程度上推动了洗涤红细胞的制备与应用,洗涤红细胞的制备机构小幅增加,制备比例随年采血量下降而下降。滤白、洗涤、辐照等红细胞制备技术的广泛应用具有重大意义,制备比例的提高一方面体现了采供血机构不断优化血液产品以减少由于白细胞和血浆蛋白过敏等原因造成的临床输血不良反应的工作目标,也反映了经过多年输血相关的培训与检查,临床医生对有输血需求的特定患者在红细胞产品类型的选择上更为明确。

区,从其远高于平均水平的手工血小板机构开展率中也可见端倪。冰冻保存血小板对血小板供应也起到调剂作用,年供血量 10 吨以下的采供血机构血小板供应调节能力较差,地域广阔、供血情况复杂、保存期短等现实原因导致采供血机构对冰冻保存血小板的依赖程度依然较大。

表 7 2012-2014 年度血浆及其他成分年均制备率

年采血量(吨)	血浆类 年均献血量 (万 U)	年均成分制备率(%)				
		新鲜冰冻血浆	病毒灭活血浆	普通冰冻血浆	冷沉淀	
>50	309.36	37.18	22.91	39.91	11.55	
25-50	384.82	24.01	49.68	26.31	12.89	
10-25	1124.39	11.24	72.53	16.23	6.50	
5-10	580.48	35.66	21.63	42.71	5.56	
2-5	323.02	8.57	46.98	44.46	1.68	
<2	61.23	88.05	8.07	3.88	1.02	
机构 血液中心	520.59	35.43	29.33	35.24	12.52	
机构 中心血站	2262.71	19.35	53.35	27.30	5.82	
合计	2783.30	22.36	48.86	28.78	7.07	

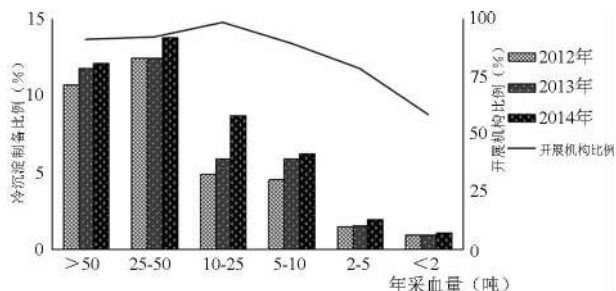


图 2 采供血机构冷沉淀制备情况

表 8 采供血机构血液成分制备方法 (%)

	纯手工分离	手工分离为主	手工与自动化各半	自动化分离为主	纯自动化分离
血液中心	22.58	32.26	0	19.35	25.81
中心血站	47.08	18.18	2.60	13.96	18.18
全国	44.84	19.47	2.36%	14.45	18.88

近几年来,血浆病毒灭活技术的应用更为广泛,开展血浆病毒灭活的机构由 2011 年的 50.42% 上升至 2014 年的 60.57%^[1],进一步降低了输血传播疾病的发生率,提高了临床输血的安全性。在病毒灭活技术的推广应用方面,中心血站显著优于血液中心,年采血量 10-25 吨的机构优于其他采供血机构。普通冰冻血浆的供应比例逐年下降。

随着临床医生成分输血意识的提高,“小容量、高浓缩”的冷沉淀应用在过去几年也呈迅速增加的趋势,在 2012 年全国血浆量的 6.01% 被用于制备冷沉淀,这一比例在 2014 年上升至 8.36%,制备总量上升 43.09%,制备的机构数量上升 7.07%,许多地区仍出现供不应求的现象。冷沉淀的制备与新鲜冰冻血浆的供应存在矛盾关系,冷沉淀的制备随机构年供血量减少,总体呈下降趋势,年供血量 < 2 吨的采供血机构提供的血浆类产品以新鲜冰冻血浆为主。

血液中心在分离手段、分离技术的应用方面存在优势,但白细胞过滤和血浆病毒灭活等技术应用比例中心血站优势明显。据供血量划分,年采供血 10-50 吨的中型血站在成

分制备技术的应用方面存在优势。手工分离血液成分虽存在输血不良反应和输血传染病风险高等问题^[3],但在目前供血紧张的大环境下,节约血液资源,保证临床供血的有效方法。成分制备是采供血机构向临床提供合理、有效血液产品的重要保障环节,对血液成分的制备已非简单的成分分离,对红细胞、血浆和血小板等利用现有的滤白、洗涤、辐照、浓缩、病毒灭活、冷冻保存、冷沉淀制备等技术的应用,纯化目标血液成分,去除血浆、白细胞、病毒等可能引起患者输血不良反应“多余”成分,是成分制备的工作目标。针对一些 ABO 亚型或者血浆蛋白过敏的患者,可以提供洗涤血小板或者少浆血小板等血液成分,使血液成分的品种多元化,向临床提供适宜每一名患者实际需求的精细化、个性化的“定制”血液产品,从“覆盖面”到“涵盖点”,也是临床对血液制备工作提出的要求。部分成分制备部门尚存在人员技术水平偏低,仪器设备不足,自动化程度低的情况^[4],建议相关采供血机构增加资金投入和人员培训力度,提高血液成分制备水平,提高标准化水平,以满足临床日益增加的用血需求。

参 考 文 献

[1] 梁晓华,孟庆丽,安万新,等. 2009-2011 年全国 357 家采供血机构开展血液制备新技术情况和分析. 临床血液学杂志(输血与检验版),2014,27(12):146-149.
 [2] 中华人民共和国卫生部. 血站技术操作规程(2012 版). 2011: 15.
 [3] 周明,沈建军,王敏,等. 单采和手工血小板治疗效果的 Meta 分析. 临床输血与检验,2011,13(1):33-36.
 [4] 雷宇,杨群身,李执如,等. 四川省血站成分科人员设备和血液成分制备调查. 医学信息旬刊,2010,5(12):3466-3467.

(2016-07-14 收稿,2017-03-10 修回)

本文编辑: 闻欣

《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》出版

为庆祝《中国输血杂志》创刊 25 周年(1988-2013 年),由本刊编辑部精心策划、本刊第六届编委会 22 名编委或顾问联袂奉献的《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》(本刊第 26 卷增刊)于日前正式出版发行。全辑共收录 27 篇专文,分别以编委各自所在专业研究领域的现状与发展,所正在从事和取得的科研或管理工作成果,以及对杂志与其专业、行业关系的认识和对杂志今后进步的期望与寄托等为视角,“全景式”地展示了输血学科、输血行业应有的面貌与本刊在学科建设、行业发展中应踞的地位。一辑在手,既可对输血医学及本刊有个清晰的了解,又颇具保存和收藏的价值。

定价 15 元/本,欲购请直接汇款到编辑部(免收邮寄费),地址:610052 四川省成都市成华区龙潭总部经济城华彩路 26 号。

(《中国输血杂志》编辑部)

· 论著 ·

全国省市两级采供血机构信息化建设与管理的调查与思考

王黎¹ 孟庆丽¹ 安万新^{1,2} 梁晓华^{1,2Δ}

(1.大连市血液中心,辽宁 大连 116001;2.中国输血协会献血促进工作委员会)

摘要:目的 了解 2012-2014 年全国采供血机构信息化建设与管理情况。**方法** 以发放调研表的形式,对全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的全部 354 个市级以上采供血机构的信息化建设与管理情况进行调查,对相关数据进行了后期整理、数据复核、结果汇总和统计分析等工作。**结果** 347 个采供血机构反馈了信息化管理情况,这些机构中共有信息化管理人员 677 人,其中专职人员占 60.56%,兼职人员占 39.44%;347 家机构使用信息管理系统对采供血工作进行管理,使用达到 99.71%;有 96.82% 的机构建立了完善的信息系统应急预案;采供血机构的防火墙和 VPN 的网络防护手段使用率较高,分别达到了 66.28% 和 70.61%,而入侵检测的投入使用情况较低,仅为 13.26%;有 74.06% 的采供血机构建立了网站,45.24% 的机构建立了微信平台,34.87% 的机构建立了微博平台。**结论** 无偿献血事业需要充分运用信息技术,加快信息化建设步伐,加强培养专业人员,建立行业信息化标准,加大信息化设备投入,提高采供血行业的信息化应用水平和管理水平,以保证无偿献血事业快速、健康发展。

关键词:采供血机构;信息化建设与管理;调查

中图分类号:R457.1⁺2 R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0486-03

Investigation and reflection on the informatization construction and management in blood collection services at provincial and municipal levels WANG Li¹, MENG Qingli¹, AN Wanxin^{1,2}, LIANG Xiaohua^{1,2}. 1. Dalian Blood Center, Dalian, 116001, China; 2. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. Corresponding author: LIANG Xiaohua

Abstract: Objective To understand the informatization construction and management in national blood collection and supply institutions from 2012 to 2014.**Methods** By issuing surveys, an investigation was conducted on informatization construction and management in blood collection and supply institutions, including 354 above-city level organizations from 31 provinces, autonomous regions, or municipalities directly under the central government and Xinjiang production and Construction Corps. Through the investigation, the relevant data review and results were analyzed by statistical analysis accordingly. **Results** The feedback from 347 blood collection and supply institutions reflected the situation on informatization management; these organizations contained 677 informatization management staffs, including 410 full-time staff and 267 part-time staff. The utilization rate of the firewall and VPN of the blood collection and supply institution was higher, which reached 66.28% and 70.61%, respectively. However, the utilization rate of the intrusion detection was lower, only at 13.26%. By the end of 2014, the utilization of network media in Chinese blood collection and supply institution is mainly characterized by website construction. 74.06% of the institutions established their own websites.**Conclusion** Informatization construction satisfies the current trend of the development of blood collection supply industry. Informatization management improves the management of blood collection supply, which means that the utilization of informatization technology can provide great productivity, improve industry informatization application level and management level, accelerate the pace of informatization construction, strengthen the training of professional personnel, increase investment in informatization technology equipment, and promote rapid and healthy development of blood transfusion industry.

Key words:blood collection and supply institution; informatization construction and management; investigation

血液管理信息化是血站管理的重要一环,血站的信息化建设对于提高和控制血液质量,提高规范管理起着积极作用^[1]。为了全面、详实地掌握 2012-2014 年度全国采供血工作的情况,了解我国输血领域的信息化管理建设情况^[2],我们对全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的全

部 354 个市级以上采供血机构的信息化建设与管理情况进行了调查,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的全部 354 个市级以上采供血机构(分站和中心血库的资料汇入所辖市级中心血站)。

1.2 调查方法 以发放《调查表》的方式,对全国省市采供血机构 2012-2014 年度的信息化建设与管理情况进行调查,

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.013

Δ通信作者:梁晓华(1968.07-),女,主任技师、教授,硕士研究生导师,主要从事血液免疫和血液安全的研究,电话:0411-82654596,Email:liangxh@dl.cn

包括信息化管理人员情况、信息管理系统使用情况、信息网络安全建设情况、网络媒体建设情况等。《调查表》于 2015 年 7 月 1 日以中国输血协会的名义发出,截至 8 月 31 日,共收回 350 份《调查表》,回收率为 98.87%。收回的《调查表》经数据核实,确认 347 为有效数据,有效率为 99.14%。

1.2 数据统计 本次调查包含计数资料、计量数据和描述性信息。其中计数资料和计量数据采用 Excel 2007 进行数据录入和整理,采用 SPSS 统计软件进行数据分析。描述性信息采取汇总后分析。

2 调查结果

表 1 信息化管理系统的使用情况

(n=347)

序号	软件开发商	系统名称	机构数量(n)	市场份额(%)	
1	唐山启奥科技有限公司	Modern 2000	116	33.40	
		SHINOW 9.0	107	30.84	
合计			223	64.27	
2	广东穿越医疗科技有限公司	PASS 2000C	54	15.56	
		PASS SPRING	29	8.36	
合计			83	23.92	
3	其他	烟台海默软件科技有限公司	血液安全与服务系统	16	4.61
		浙江卫生信息中心	浙江省血液信息管理系统	12	3.46
		广东迈科医学信息股份有限公司	血液信息管理网络系统	4	1.15
		乌鲁木齐市华天启元软件科技有限公司	启元现代	5	1.44
		奥斯邦医学数据有限公司	CAABB 输血标准化系统	3	0.86
		西安金智公司	西安金智软件	1	0.29
		合计		41	11.82

表 2 信息系统应急预案的建立情况 (n=347)

	机构数量(n)	比例(%)
已建立应急预案	336	96.82
未建立应急预案	11	3.18

2.3 信息安全建设情况 1)网络安全方面:采供血机构为保障信息系统的网络安全,分别采用了防火墙、VPN、上网行为管理、入侵检测等技术手段和设备。2014 年采供血机构的防火墙和 VPN 的网络防护手段使用率较高,分别达到了 66.28%和 70.61%,而入侵检测的投入使用情况较低,仅为 13.26%,网络防护手段的使用情况见表 3。2)数据安全方面:全国基本都采用了传统的数据备份,系统容灾实施较少。

表 3 采供血机构网络防护手段的使用情况 (n=347)

	防火墙		VPN		上网行为管理		入侵检测	
	n	%	n	%	n	%	n	%
已有防护设备	230	66.28	245	70.61	150	43.23	46	13.26
无防护设备	117	33.72	102	29.39	197	56.77	301	86.74

2.4 网络媒体建设情况 2014 年底,全国有 74.06%的采供血机构建立了自己的网站,45.24%的机构建立了微信平台,34.87%的机构建立了微博平台。目前,采供血机构对网络媒体的利用主要体现在网站建设上,建立、管理和运营情况见表 4。

表 4 采供血机构网站建设情况 (n=347)

网站建设情况	自建自管		自建托管		外建自管		第三方运维		未建	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
网站建设情况	107	30.86	140	40.34	4	1.15	6	1.73	90	23.88

2.1 信息管理人员情况 347 个采供血机构反馈了信息化管理人员情况,这些机构中共有信息化管理人员 677 人,其中专职人员 410 人,兼职人员 267 人,占比分别为 60.56%和 39.44%。

2.2 血液信息管理系统的使用情况 1)348 个反馈数据的采供血机构中,除 1 家未使用信息管理系统外,其余 347 家均使用信息管理系统对采供血工作进行管理,信息管理系统的使用率达到 99.71%,信息管理系统的使用情况见表 1。2)96.82%的采供血机构建立了完善的信息系统应急预案,使用情况见表 2。

3 讨论

随着采供血行业信息技术的普及应用,血站信息化建设的必要性和重要性已被认可,但目前我国采供血机构信息化队伍建设比较滞后,既懂信息技术又懂业务的复合型人才很少。调查发现,只有 35%的采供血机构具有专职的信息化管理人员,专职人数仅占信息化管理人员总数 60.56%。因此,我国采供血机构在加强信息化技术队伍的建设方面具有相当大的紧迫性。

血液信息管理系统已全面应用于采供血工作全过程的控制。在调查的 348 个采供血机构中,有 347 个(99.71%)使用了信息管理系统,基本实现全覆盖。由于我国采供血机构数量众多,各家采用的系统不尽相同,相同的管理系统之间也存在新、旧版本的差异,由此也造成了不同采供血机构之间的献血者信息共享难度大、血液调剂困难多、患者异地用血报销难的技术问题。随着卫计委“十三五”卫生信息化发展规划的开展实施,国家卫生信息标准体系建设的逐步完善,采供血机构应借此契机建立统一的行业信息化标准,逐步实现各信息系统衔接,完成采供血机构间的数据交互、信息共享、资源整合,完善采供血行业的信息化管理平台。

信息化技术的应用为采供血行业提供巨大的帮助的同时,网络安全和数据安全问题不能忽视。调查发现,绝大多数采供血机构的网络、数据和应用安全仍处于初级阶段,没有部署高性能信息安全设备。一旦网络系统受到攻击,就会导致业务中断、献血信息和用血信息的泄露,对采供血机构造成不可估量的损失。因此,采供血机构应以《信息安全等级保护管理办法》为标

准,采用先进的数据备份和系统容灾技术,采取强有力的安全策略,构建安全、稳定、可靠的数据应用平台和备份平台来保障采供血数据的安全,保障采供血业务的连续性。

采供血机构对网络媒体的利用主要体现在网站建设上,微博、微信呈上升趋势,采供血机构已充分认识到新媒体宣传对无偿献血工作的便捷作用,今后仍应加大利用信息化技术,与时俱进地利用网络开展采供血宣传工作。

总之,信息化建设是采供血行业发展的需要,信息化管理是提高采供血机构管理水平的重要手段。无偿献血事业需要充分运用信息技术,加快信息化建设步伐,加强培养专

业人员,加大信息化设备投入,提高采供血行业的信息化应用水平和管理水平,以保证无偿献血事业快速、健康发展。

参 考 文 献

[1] 朱永明, 励修楣. 血液管理信息系统的现状和发展. 中国输血杂志, 2009, 22(12): 961-962.

[2] 孟庆丽, 张磊, 叶萍, 等. 我国输血领域信息化管理和网络化建设的现状与展望. 中国输血杂志, 2013, 26(1): 18-19.

(2016-07-14 收稿, 2017-04-10 修回)

本文编辑:夏玲

• 论 著 •

全国采供血机构非标量及凝块血液报废情况调查分析

郑井滨¹ 张丽¹ 安万新^{1,2} 梁晓华^{1,2△}

(1.大连市血液中心,辽宁 大连 116001;2.中国输血协会 献血促进工作委员会)

摘要:目的 了解全国采供血机构采集的全血中因非标量及凝块所致血液报废的情况。**方法** 采用问卷调查辅以电话核实的方式,对全国 354 个采供血机构所采集的非标量及凝块血液的报废情况进行回顾性分析。**结果** 2012-2014 年度非标量血液报废率分别为 0.268%、0.245%、0.256%,凝块血液报废率分别为 0.037%、0.033%、0.036%。血液中心与中心血站数据对比,报废率均有统计学差异。随着采供血机构规模的扩大,总体报废率呈现递减趋势。**结论** 采供血机构应正确分析非标量及凝块血液的报废的原因,有针对性地进行管理控制,降低血液在采集过程中的报废率。

关键词:无偿献血;全血;血液报废;非标量血液;凝块

中图分类号:R457.1⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0488-03

Investigation and analysis of the original whole blood discards in blood collection services in China ZHENG Jingbin¹, ZHANG Li¹, AN Wanxin^{1,2}, LIANG Xiaohua^{1,2}. 1. Dalian Blood Center, Dalian 116001, China; 2. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. Corresponding author: LIANG Xiaohua

Abstract: Objective To understand the rate of whole blood discards in blood collection and supply establishments across the country. **Methods** A retrospective investigation was conducted on the discarding rate of whole blood in 354 blood collection and supply establishments by means of questionnaire and telephone inquiries. **Results** In 2012, 2013 and 2014, the proportions of nonstandard amount whole blood was 0.268%, 0.246% and 0.256% respectively. The proportions of blood clots were 0.038%, 0.033% and 0.036%, respectively. There were significant differences between blood centers and blood banks. With the increasing scale of blood collection and supply establishments, the overall rate of discards showed a declining trend. **Conclusion** The blood collection facilities should analyze their own situation and take targeted action to reduce blood wastes in the process of blood collection.

Key words: blood donation; whole blood; blood discards; non-standard amount; blood clots

血液是一种特殊的宝贵资源,在运用科学技术也不能人工合成的今天,从健康的献血者身上采集血液是获取血液或血液成分的唯一途径。因此,血液显得尤其珍贵。科学合理地利用血液资源,就要从每一袋血液的采集开始加强管理,降低血液的非检验报废率。为了解我国采供血机构因非标

量及血液凝块所致全血的报废情况,中国输血协会献血促进工作委员会对全国采供血机构 2012-2014 年间的血液报废情况进行了问卷调查,我们对调查的数据进行了汇总分析,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 2012-2014 年度全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的全部 354 个市级以上的采供血机构。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.014

△通信作者:梁晓华(1968.07-),女,主任技师、教授,硕士研究生导师,主要从事血液免疫和血液安全的研究,电话:0411-82654596,Email:liangxh@dl.cn

1.2 调查方法 向全国 354 个采供血机构发放《调查表》，辅以电话询问及核实的方式进行。内容包括年采血量、年全血采集袋数、非标量(不足量或超量)血液报废袋数、凝块全血报废袋数及其它等几项内容。血液报废标准主要参考新旧两版《全血及成分血质量要求》^[1-2]。《调查表》于 2015 年 7 月 1 日以中国输血协会献血促进委员会的名义发出,8 月 31 日前共收回 350 份,回收率为 98.87%。经数据核实与确认,将未填写数据、全部数据均填写“0”、报废袋数占采血袋数 10% 以上者视为无效数据。将无效数据剔除后,非标量血的有效数据共 195 份,有效率为 55.71%,凝块血的有效数据共 118 份,有效率为 33.71%。将有效数据按采血量吨数 0-2

吨、2-5 吨、5-10 吨、10-25 吨、25-50 吨、50 吨以上等 6 组进行分组分析。

1.3 统计学分析 使用 SPSS17.0 统计软件,采用 χ^2 检验对血液中心与中心血站的数据进行对比分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非标量血液报废情况 2012-2014 年期间 195 个采供血机构非标量血液报废情况见表 1。总体报废率维持在 0.245%-0.268%。3 年间血液中心与中心血站报废率对比均有统计学差异($P < 0.05$),血液中心报废率低于中心血站。

表 1 2012-2014 年 195 个采供血机构非标量血液报废情况

机构数 (个)	2012 年			2013 年			2014 年			
	采血数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	采血数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	采血数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	
血液中心	24	289.06	0.66	0.228	288.80	0.62	0.215	298.31	0.64	0.215
中心血站	171	502.38	1.46	0.291	513.91	1.35	0.263	517.97	1.45	0.280
合计	195	791.44	2.12	0.268	802.71	1.97	0.245	816.28	2.09	0.256

注:血液中心与中心血站对比,2012-2014 年的 χ^2 依次为 255.855、174.806、295.714,均为 $P < 0.05$

2.2 凝块血液报废情况 3 年间凝块血液总体报废率为 0.033%-0.037%。血液中心与中心血站报废率对比均有统

表 2 2012-2014 年 118 个采供血机构凝块血液报废情况

机构数 (个)	2012 年			2013 年			2014 年			
	采血数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	采血数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	采血数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	
血液中心	18	242.87	0.08	0.033	241.93	0.07	0.029	250.13	0.08	0.032
中心血站	100	322.33	0.13	0.040	332.38	0.12	0.036	335.97	0.13	0.039
合计	118	565.20	0.21	0.037	574.31	0.19	0.033	586.10	0.21	0.036

注:血液中心与中心血站对比,2012、2013、2014 年的 χ^2 依次为 23.439、13.680、19.230,均为 $P < 0.05$

2.3 不同规模采供血机构非标量及凝块血液报废情况 除 0-2 吨采供血机构外,随着采供血机构规模的扩大,报废率呈现递减趋势(图 1)。

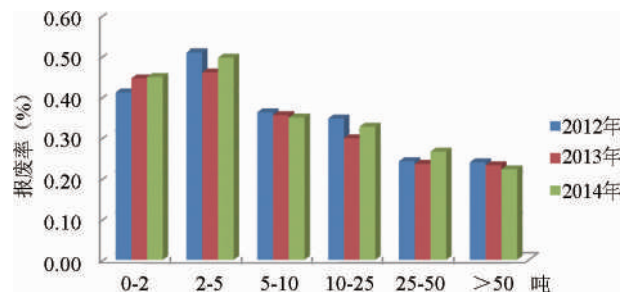


图 1 2012-2014 年度不同规模采供血机构非标量及凝块血液报废情况

3 讨论

采集后的全血因尚未进入分离制备过程,影响此时全血质量的因素主要存在于血液的采集过程,如献血者血流不畅或血液采集时混匀不充分等会造成采集到非标量血和凝块血。此外,血液色泽异常、溶血、气泡、重度乳糜、血导管热合不严、血袋质量缺陷、血液储存运输过程冷链失控、保密性弃血等原因所导致的报废在此过程也同样存在,但因其判定标准受主观因素影响大、所占比重少以及各机构管理软件分类不一致等因素,故本次调查对此未单独进行专项统计分析,将其合并汇入《调查表》的“其它”类别中。

从《调查表》反馈情况看,全血报废情况的数据有效率较低,主要原因有:1)部分机构未填写数据或填写不完整;2)填写的数据与其年采血量明显不符,例如年采血量近 20 吨的血站一年中仅有 1-2 袋采血非标量产生,明显低于相近地区同规模血站统计数字;3)有少数机构将检验不合格血液报废数也计入统计中,等等。为了避免这些汇总数据对总体分析产生影响,我们采用电话核实以及同规模机构类似比较等方式对可疑数据进行了删减,致使有效统计数据量偏低。这也反映出,非检验报废的血液质量管理在采供血机构的管理体系中处于薄弱环节,此项工作在很多机构还没有引起足够的重视,改进提升空间较大。

从统计结果看,非标量血液是采集后全血报废的主要原因,比例占全血采集总袋数的 0.245%-0.268%。2013 年报废数略低于 2012 年和 2014 年数据,整体趋势呈现小幅波动,但总体变化不大。血液中心的报废率低于中心血站的报废率,这可能与血液中心在血液采集环节的整体管理与技术水平要好于中心血站有关。各采供血机构间非标量血报废率最低为 0.035%,最高为 1.322%,差距较大。分析其原因,部分机构报废率明显低于平均值,可能是有些机构对采血过程进行了严格管理,有效地降低了报废率;也可能有机构对非标量血液进行了再次利用,未将这部分血液归为非标量。从剔除无效数据的数量偏多(占 44.29%)来看,也不乏有些机构缺乏针对性管理、数据缺失、填写数字欠真实,但其所报

数据未被列入汇总数据剔除行列,从而对总体数据分析产生了一定影响。报废率偏高的机构中既有大型的血液中心也有规模较小的中心血站,具体原因尚不明确,但通过采取适当的管理措施,降低总体报废率的改进空间应该是存在的。凝块血的报废比例则比非标量血报废要低,占比在 0.033%~0.037%,血液中心的报废率低于中心血站 0.007%,该项目血液报废情况同样是血液中心好于中心血站,但各机构间报废率同样差异较大,原因与非标量血的情况基本类似。

从采供血机构规模对比来看,除 0-2 吨的血站外,随着机构规模的扩大,全血报废率呈逐渐下降的趋势,这可能与规模大的采供血机构质量体系完备、人员配备充足,分工明确,岗位培训充分、业务熟练度高有关,而规模较小的机构,往往兼职多、人员流动性大,在一定程度上可能会影响到个人采血技术及对献血者的献血服务工作。0-2 吨机构中仅有 8 家反馈了有效数据,占分组内机构的 23.5%(8/34)。由于样本数偏少,可能存在一定偏差。

采血非标量与凝块血液往往相伴产生,其原因既有献血者自身因素,也有采血者技术、采血环境等因素。如献血者精神紧张、过度疲劳、血管过细、体重偏低^[3];采血人员技术不熟练,穿刺位置选择不当;献血环境不理想,人员拥挤,献血等候时间过长^[4];秋冬季气温低,献血者血液循环差,血

管收缩,血流缓慢而导致非标量血液的采集^[5]。另外,采血设备未校准,采血时血袋及导管放置位置不当等也会对血液的采集量及凝块的产生造成影响。总之,血液采集过程中的任一环节控制不当,都会增加血液报废风险。为了最大限度降低报废率,珍惜和合理地利用好每一袋血液,各机构应详细分析血液采集过程中造成血液报废的各项影响因素,有的放矢地进行改进,采取切实有效措施针对前述可能存在问题进行改进,不断提高采供血机构的质量管理水平。

参考文献

- [1] 全血及成分血质量要求.GB18469-2001.
- [2] 全血及成分血质量要求.GB18469-2012.
- [3] 高峰.临床输血与检验.2 版.北京:人民卫生出版社,2007:36-38.
- [4] 石杰,郑建勇,骆莺,等.184 例不足量血液的原因分析.临床血液学杂志,2015,28(10):884-885.
- [5] 汤传敏,洪纛,席光湘,等.采血不足量的原因分析.中国输血杂志,2014,27(11):1228-1229.

(2016-07-14 收稿,2017-03-20 修回)

本文编辑:李弘武

• 论著 •

全国采供血机构加工制备环节血液报废情况分析

郑井滨¹ 张丽¹ 安万新^{1,2} 梁晓华^{1,2Δ}

(1.大连市血液中心,辽宁 大连 116001;2.中国输血协会献血促进工作委员会)

摘要:目的 了解全国采供血机构在血液加工制备过程中因质量问题而导致的血液报废情况。**方法** 采用问卷调查辅以电话核实的方式,对全国的 354 家采供血机构在血液加工制备过程中的报废情况进行回顾性调查和分析。**结果** 在加工制备过程中血液报废最主要的原因是脂肪血,2012-2014 年脂肪血总体报废率为 2.523%。其它血液报废原因如血袋破损、溶血、纤维蛋白析出、特殊抗体也各占一定比例,但均少于 1%。**结论** 各采供血机构应仔细分析加工制备环节血液报废的原因,加强质量管理,采取有效措施,降低血液报废率。

关键词: 血液制备;血液报废;脂肪血;血袋破损

中图分类号:R457.1⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0490-03

Analysis on blood discards during the process of blood component preparation in blood collection and supply agencies in China ZHENG Jingbin¹, ZHANG Li¹, AN Wanxin^{1,2}, LIANG Xiaohua^{1,2}. 1. Dalian Blood Center, Dalian 116001, China; 2. Blood Donation Promotion Committee of Chinese Society of Blood Transfusion. Corresponding author; LIANG Xiaohua

Abstract: Objective To understand the status of blood discards in processing blood components in blood collection and supply agencies across the country. **Methods** A retrospective investigation was conducted on discards during blood preparation process in 354 establishments by means of questionnaire and telephone inquiries. Data related to discards were analyzed. **Results** Lipemia was the main cause for blood discards in the preparation of components. Its ratio was 2.523%

during 2012 - 2014. Other reasons, such as broken bags, hemolysis, fibrin strands and specific antibody, accounted for a certain proportion respectively, but each was less than 1%. **Conclusion** Blood collection and supply agencies should carefully

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.015

Δ通信作者:梁晓华(1968.07-),女,主任技师、教授,硕士研究生导师,主要从事血液免疫和血液安全的研究,电话:0411-82654596,Email:liangxh@dl.cn

analyze the reasons for blood discards, enhance quality management and take preventive actions to reduce unnecessary blood wastes in processing blood components.

Key words: components preparation; blood discards; lipemic blood components; broken bags

血液成分制备是指将采集出来的全血,用物理方法分离成体积小、纯度高、临床疗效好、不良反应少的单一血液成分的技术。血液成分制备包括过滤、离心、分离、热合、速冻、包装等多个环节。血液在制备过程中可能发现或出现的质量问题主要有脂肪血、溶血、血袋破损、纤维蛋白析出、含有特殊抗体等。为了解我国采供血机构血液制备过程中报废情况,不断提高制备技术及管理水平,减少血液资源的浪费,中国输血协会献血促进工作委员会对全国采供血机构 2012-2014 年血液制备过程中的报废情况进行了问卷调查,我们对调查的数据进行了汇总分析,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 2012-2014 年全国 31 个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的全部 354 家市级以上采供血机构。

1.2 调查方法 向全国 354 家采供血机构发放《调查表》,辅以电话询问及核实的方式进行。内容包括年采血量、年血液制备量以及因脂肪血、血袋破损、溶血、纤维蛋白析出、特殊抗体等原因导致的非检测报废数等内容。报废血液含红细胞类产品和血浆类产品,仅统计总数,未分类。《调查表》

于 2015 年 7 月 1 日以中国输血协会献血促进委员会的名义发出,8 月 31 日前共收回 350 份,回收率为 98.87%。经数据核实与确认,将未填写数据、全部数据均填写“0”者视为无效数据。将无效数据剔除后各项报废原因有效数据机构数及所占比例分别为:脂肪血报废有效数据共 321 家,有效率为 91.71%;血袋破损有效数据 327 家,占 93.43%;溶血有效数据 250 家,占 71.43%;纤维蛋白析出有效数据 195 家,占 55.71%;特殊抗体有效数据 198 家,占 56.57%。

1.3 统计学分析 使用 SPSS17.0 统计软件,采用 χ^2 检验对血液中心与中心血站的结果进行对比分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脂肪血液报废情况 2012-2014 年期间 321 家采供血机构脂肪血液报废情况见表 1。3 年间总体报废率为 2.523%,血液中心的总体报废率为 1.899%,中心血站的总体报废率为 2.760%,3 年间血液中心与中心血站报废率对比均有统计学差异 ($P < 0.05$)。

表 1 2012-2014 年 321 家采供血机构脂肪血液报废情况

机构数 (个)	2012 年			2013 年			2014 年			
	制备数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	制备数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	制备数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	
血液中心	27	590.41	11.10	1.880	605.01	11.43	1.889	609.33	11.74	1.927
中心血站	294	1 526.45	42.14	2.761	1 612.86	43.57	2.701	1 615.19	45.52	2.818
合计	321	2 116.86	53.24	2.515	2 217.87	55.00	2.480	2 224.52	57.26	2.574

注:血液中心与中心血站对比,2012、2013、2014 年的 χ^2 依次为 13 436.099、11 984.615、14 044.135,均为 $P < 0.05$

2.2 血袋破损报废情况 2012-2014 年间 327 家采供血机构因血袋破损导致血液报废情况见表 2。血液中心报废率略

高于中心血站报废率。

表 2 2012-2014 年 327 家采供血机构血袋破损导致血液报废情况

机构数 (个)	2012 年			2013 年			2014 年			
	制备数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	制备数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	制备数 (万袋)	报废数 (万袋)	报废率 (%)	
血液中心	28	627.41	0.53	0.084	640.46	0.55	0.086	644.34	0.55	0.085
中心血站	299	1 555.94	1.18	0.076	1 645.06	1.11	0.067	1 649.42	1.12	0.068
合计	327	2 183.35	1.71	0.078	2 285.52	1.66	0.073	2 293.76	1.67	0.073

注:血液中心与中心血站对比,2012、2013、2014 年的 χ^2 依次为 40.625、213.614、204.204,均为 $P < 0.05$

2.3 溶血、纤维蛋白析出、特殊抗体报废情况 2012-2014 年 250 家采供血机构因溶血导致的报废率分别为 0.044%、0.043%、0.043%。195 家采供血机构纤维蛋白析出血液报废情况分别为 0.028%、0.026%、0.026%。198 家采供血机构因特殊抗体血液报废情况分别为 0.028%、0.027%、0.027%。3 项指标总体比较平稳,没有太大波动。

3 讨论

从 2012-2014 年我国采供血机构填报的血液在加工制备过程中的报废情况看,脂肪血报废率为 2.523%,是此环节血液报废的最主要原因,高于其它原因所导致的血液报废。

不同机构间脂肪血报废率差异较大,波动范围在 0.005%-19.957%。血液中心脂肪血液报废率明显低于中心血站。影响血脂水平的因素很多,有年龄、性别、遗传因素、居住地区、生活方式、饮食习惯、劳动类型、文化水平等诸多方面^[1-3]。此外在血液的采供活动中还可能与下列因素有关:1)献血前血液初筛模式。血液中心一般采用静脉血进行初筛,而中心血站多采用毛细血管血液进行初筛。静脉血离心后可以较好地观察血浆的乳糜程度,而毛细血管采血法,采血量少,不离心时很难观察血液的乳糜程度,会将乳糜血作为合格血液采集。2)脂肪血乳糜程度判定标准不一致。在血液加工制备过程中脂肪血乳糜程度的判定差异直接影响

了脂肪血报废率。《全血及成分血质量要求》GB18469-2001 附录 A 中给出了测定血液乳糜程度的方法,但新版《全血及成分血质量要求》GB18469-2012 实施后,旧版标准被废止而新版中并没有提供血液乳糜程度的判定方法,工作人员多依据个人经验目视判断,希望行业相关部门能及早出台具体判定标准。3)不同机构对脂肪血处理方式存在差异。虽然本次调研未将红细胞类产品与血浆类产品分别进行统计,但从文献资料来看,红细胞类产品的乳糜报废率远低于血浆类产品的报废率^[4-6]。一方面是对红细胞类产品不易判定乳糜程度,另一方面多家采供血机构对于轻中度乳糜的血液采取只报废血浆类产品,而保留红细胞成分(如洗涤后供应临床),最大程度利用一部分血液资源。

因破损导致的血液报废率维持在 0.073%~0.078%,是非检验报废的第 2 个重要原因。数据统计显示中心血站报废率低于血液中心(0.008%~0.019%),具体原因还需进一步分析,血袋破损往往与下列因素有关:1)离心。离心机的离心半径、离心转速、离心时间、离心温度、离心加速强度及离心减速强度等参数直接影响血液成分的分离效果,参数选择不当会增加血袋破损的风险。另外,离心时血袋放置位置受力是否均匀,离心桶内是否光滑无异物,血袋自身是否存在质量缺陷等也是离心破损的原因。2)热合。在热合过程中扭转或牵拉导管或者将多段配血管再次连接等操作很容易发生渗漏。3)冻存。血浆类产品速冻后储存在-18℃以下,冷冻后塑料血袋的脆性增加,如果操作不规范在血液制备、保存及运输过程中极易发生破损。

溶血报废占比 0.043%~0.044%,纤维蛋白析出占比 0.026%~0.028%,3 年总体数据没有太大变化。它们的成因相对复杂,血液采集和加工制备中的很多环节都可能会出现,常见原因有血液在采集过程中采血不流畅、血液与抗凝剂混匀不充分、血液冷链控制不理想等。血液在未分离时不

易观察,常在加工制备过程中才被发现。含有特殊抗体的血液报废率与采供血机构是否开展血液抗体筛查等技术手段直接相关,目前采供血机构中开展血液抗体筛查工作尚未普及,检测的水平也存在差异,这可能是导致该项报废率低的主要原因。虽然经过数据对比,血液中心、中心血站的数据在血袋破损、溶血、纤维蛋白析出、特殊抗体几个方面均有统计学差异($P<0.05$),但由于分组数据波动较大,实际差异可能并不明显。

综上,在血液制备过程中所导致的血液报废原因是多方面的,虽然很多血液因乳糜、溶血、纤维蛋白析出在制备过程中被报废,但原因可能从血液采集开始就已经存在。因此采供血机构应该从无偿献血宣传与咨询开始,提高血液采集技术,重视冷链管理,提升血液分离制备能力,针对各自机构中不同报废原因有针对性采取有效预防措施,降低血液在加工制备过程中的报废率,节约宝贵的血液资源。

参 考 文 献

- [1] 李红.克拉玛依中心血站 2010-2013 年血液报废情况调查分析.中国输血杂志,2015,28(1):67-68.
- [2] 张西春,曹丽,王晓华,等.西安地区血液报废的原因分析.中国输血杂志,2005,18(3):237-238.
- [3] 冯飞,符慧杰,章雅清.2006-2010 年海南无偿献血血液报废原因分析.中国输血杂志,2012,25(4):382-383.
- [4] 陈兴智,陈普娟,韦丽菊.柳州市血液报废原因调查与分析.临床输血与检验,2007,9(1):39-41.
- [5] 杜滨,孙美贞,王同显.青岛地区血液采集及血液报废情况分析.中国输血杂志,2011,24(8):699-701.
- [6] 李翠,刘丽丽,宋丽芹.血液报废的原因分析与对策.临床输血与检验,2015,17(2):66-67.

(2016-07-14 收稿,2017-03-20 修回)

本文编辑:李宜蔓

《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目

《临床输血进展》46.00 元/册;《中国输血杂志》合订本:88 年、89 年、90 年卷每卷均 21.00 元,99 年卷 30 元/本,2000 年卷(含增刊)40 元/本,2001 年卷 48 元/本,2002 年卷、2003 年卷、2004 年卷每本均为 51 元,2005 年卷 60 元/本,2006 年卷 70 元/本,2007 年卷 80 元/本,2008 年卷上册 100 元、下册 100 元,2009 年卷上册 100 元、下册 100 元,2010 年卷上册 100 元、下册 100 元,2011 年卷上册 100 元、下册 100 元,2012 年卷上册 120 元、下册 120 元,2013 年卷上册 120 元、下册 120 元,2014 年卷上册 130 元、下册 130 元,2015 年卷上册 130 元、下册 130 元,2016 年卷上册 130 元,下册 130 元;增刊:1994 年 2.5 元/本,1996 年 4 元/本,2001 年 98 元/本,2004 年 20 元/本,2008 年 5 元/本,2010 年 35 元/本,2012 年 38 元/本。2015,2016 年《中国输血杂志》15.00 元/期,全年订价 180.00 元。2017 年《中国输血杂志》16.00 元/期,全年订价 192.00 元,可直接汇款至本刊编辑部邮购(地址:610052 四川省成都市东三环二段龙潭总部经济城华彩路 26 号,收款人:《中国输血杂志》编辑部),并请注明书(刊)名、合订本年卷名、本数,如需要购书发票者请注明。

· 论著 ·

· 基础医学与实验研究 ·

弱 D72 血型的血清学特征及分子生物学分析*

姬艳丽^{1#△} 梁倩妮^{2#} 骆宏¹ 王贞¹ 温机智¹ 张润青¹ 魏玲¹ 贾双双¹ 罗广平¹

(1.广州血液中心 临床输血研究所,广东 广州 510095;2.广东省第二人民医院 输血科)

摘要:目的 了解广州地区人群中弱 D72 血型的血清学特征及分子遗传背景。**方法** 从广州血液中心献血者人群中收集了 62 人份 D 变异型标本,采用多重连接依赖的探针扩增 (MLPA) 技术做 *RHD* 及 *RHCE* 基因分型;对于 MLPA 检测不到的 *RHD* 突变型等位基因,对其 10 个外显子做直接测序分析,并采用 D 抗原表位分析试剂盒 (D-Screen) 及其他 7 种单克隆抗-D 做 D 抗原表位血清学检测。**结果** 在 62 例 D 变异型标本中,共发现 26 例弱 D 表型,其中弱 D72 突变型等位基因 5 例 [占 8.1% (5/62)], 4 例为 *RHD** weak D type 72/*RHD** 01N. 01 (*RHD* 基因缺失) 和 *Ccee*, 1 例为 *RHD** weak D type 72/*RHD** DVI. 3 和 *CCeee*。取 1 例 *RHD** weak D type 72/*RHD** 01N. 01 的红细胞标本做 D 抗原表位血清学检测:其与 D-Screen 试剂盒的 9 种单克隆抗-D 均呈阳性反应,反应强度为 1+~2+, 与其余 7 种单克隆抗-D 也均呈阳性反应,反应强度为 w+~1+。**结论** 血型血清学分析初步提示弱 D72 血型 D 抗原表位完整,但该血型个体在免疫刺激下是否不会产生抗-D 仍需进一步临床证据证实。

关键词: 弱 D72 血型; D 变异型; MLPA 技术; D 抗原表位; 单克隆抗-D

中图分类号: R457. 1⁺ 1 R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X (2017) 5-0493-05

The serological characteristic and genetic background of weak D type 72 *Ji Yanli*¹, *LIANG Qianni*², *WANG Zhen*¹, et al. 1. Institute of Clinical Blood Transfusion, Guangzhou Blood Center, Guangzhou 510095, China; 2. Guangdong No.2 Provincial People's Hospital. Corresponding author: *Ji Yanli*.

Abstract: Objective To obtain the serological characteristic and genetic background of weak D type 72 in the Chinese population. **Methods** The blood samples from sixty-two blood donors with D variants phenotype were collected in the Guangzhou Blood Center. The *RHD* and *RHCE* genotypes were analyzed by the developed Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) assay. For the donors with D variants phenotype but without aberrant *RHD* variant alleles identified by the MLPA analysis, the ten exons of *RHD* gene were further sequenced. The detailed serological typing for D antigen was conducted by using the panel anti-D (D-Screen, Diagast) and another seven kinds of monoclonal anti-D available. **Results** A total of 26 individuals with weak D phenotype were identified and five of them (8.1%, 5/62) were confirmed with the *RHD** weak D type 72 allele through the MLPA analysis and the sequencing of *RHD* gene. Among them, *RHD** weak D type 72/*RHD** 01N. 01 (*RHD* deletion) and *Ccee* genotypes in four individuals and *RHD** weak D type 72/*RHD** DVI. 3 and *CCeee* genotypes in one individual were identified. The blood sample was available in one individual with the *RHD** weak D type 72/*RHD** 01N. 01 genotype for the detailed serological typing for D antigen epitopes. The RBCs of this individual positively reacted with all nine monoclonal anti-D of D-Screen with the agglutination strength of 1+~2+ and also positively reacted with other seven kinds of monoclonal anti-D with the agglutination strength of w+~1+ by the tube method for IgM anti-D and the tube IAT method for IgG anti-D. **Conclusion** The primary D epitope analysis indicates the existence of complete epitopes for weak D type 72. Whether or not the individuals with *RHD** weak D type 72 could produce anti-D after immune exposure still warrants confirmation based on the clinical evidence.

Key words: D variant; weak D type 72; MLPA assay; epitopes of D antigen

Rh 血型系统 (ISBT004) 是仅次于 ABO 以外的最重要的血型系统, 现已知该血型抗原共有 54 个 (http://www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/Working_parties/WP_on_Red_Cell_Immunogenetics_and/Table_of_blood_group_antigens_within_systems_v6_170205.pdf)。Rh 血型中根据 D 抗

原在红细胞上表达的情况, 又分为为 D 阳性、阴性和变异型血型^[1]。D 变异型血型包括弱 D (weak D)、部分 D (partial D) 及 D 放散型 (D^{el}), 通常认为弱 D 是由跨膜氨基酸变异引起 D 抗原表达减弱, 但抗原表位完整; 部分 D 由膜外氨基酸变异或 *RHD-CE-D* 杂合等位基因等导致 D 抗原表位部分缺失; 而 D 放散型表达弱 D 抗原, 仅能通过吸收放散试验才能鉴定出来, 有氨基酸变异和剪接异常等多种分子形成机制, 根据其 D 抗原表位完整与否, 分为部分 D^{el} (partial D^{el}) 及完全性 D^{el} (complete D^{el})^[2]。由于弱 D 及部分 D 的命名较为混乱, 如很多最初命名的弱 D 血型后续发现其 D 抗原表位

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.016

* 基金项目: 广州市科技计划项目 (201607010027), 广州市血液安全重点实验室项目 (201509010009); # 并列第 1 作者; △ 通信作者: 姬艳丽 (1980. 02-), 女, 医学博士, 副主任技师, 主要从事红细胞血型分子遗传学研究, 电话: 020-83595049, Email: jiyanni2013@163.com

存在部分缺失,临床实践中常给医生们造成困惑,出现沟通困难,因此 Daniels 等^[3]提出面对临床医生时,将各种弱 D 及部分 D 统称为 D 变异型,然后给出将该血型个体作为阴性或阳性受血者处理的建议,现已为红细胞血型界普遍接受。弱 D72 血型等位基因序列最早在 2006 年由上海血液中心的朱自严等提交到 Genbank (EF103573),该等位基因由 1 个 *RHD* 基因外显子 9 的特异性点突变定义 (c. 1212C>A, p. 404Asp>Glu),其编码的氨基酸位于 D 抗原多肽胞质 C 终端区域。我们对所收集的广州地区 62 例 D 变异型表型标本做了血型血清学分析,对所发现的弱 D 表型个体中弱 D72 个体的 *RHD* 基因型及其血清学特征做了重点分析,同时进一步分析了,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2010-2012 年本中心初次献血者中送检至本研究所做 RhD 血型确证的 D 变异型标本共 62 例,均为汉族,其中男性 32 例、女性 30 例;同时收集本中心献血者正常 D 阳性、D 阴性表型(已经过抗-D 吸收放散试验排除了 D^a表型)和弱 D15(经过 *RHD* 基因测序证实携带 845G>A 突变,研究中发现的共 14 例弱 D15 标本之一)各 1 例。

1.2 主要仪器与试剂 96 孔 PCR 产物纯化滤板(批号 R9DN90352,美国 Millipore 公司);梯度 PCR 扩增仪(Veriti),基因序列分析仪(3100XL)(美国 ABI 公司);核酸测定仪(Nanophotometer Pearl P330,德国 Implen);IgM 单克隆抗-D 试剂(克隆号 Rum-1,批号 20100725 上海血液生物医药有限公司);单克隆抗-D(IgM+IgG)试剂(IgM 克隆号 TH-28、IgG 克隆号 MS-26,批号 BMK1507C,美国 Millipore 公司);D 抗原表位分析抗-D 试剂盒(D-Screen,批号 443000,法国 Diagast 公司);7 种单克隆抗-D 试剂(克隆号 LHM 169/81、IV-I-60 5C8、HIRO-16、IV-I-65 LOS1、LHM 76/58、IV-I-64 8D8、IV-I-63 LOS2,荷兰 Sanquin 血液中心红细胞血型参比实验室 Peter Lighthart 馈赠);抗球蛋白卡(批号 16022.01,西班牙 GRIFOLS 公司);DNA 提取试剂盒(批号 D3494-04,美国 O-MEGA 公司);多重连接依赖的探针扩增技术(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)相关试剂(批号 A1-1011/X1-0615,荷兰 MRC-Holland 公司馈赠);LIZ500 DNA 长度内参条带(批号 13101355),2×GeneAmp 快速 PCR 预混液(批号 4359187),BigDye 末端终止 v3.1 循环测序试剂盒(批号 1402133,美国 ABI 公司)。

1.3 D 变异型血型血清学鉴定 采用 IgM 单克隆抗-D(克隆号 Rum-1)及 96 孔反应板法对标本做 D 抗原初步鉴定,反应阴性及弱凝集者则进一步用单克隆抗-D(IgM+IgG)试剂采用盐水试管法及抗球卡凝胶卡法分别检测,反应均为弱凝集(≤2+)初步判断为弱 D 表型,而与不同克隆号抗-D 反应结果不一致者(与某些克隆号抗-D 反应强阳性,与某些克隆号抗-D 反应阴性)被初步鉴定为部分 D,均为 D 变异型。

1.4 DNA 提取 以 2 mL (EDTA-K₂ 抗凝)外周血作为检材,按照 DNA 提取试剂盒操作,提取 D 变异型标本的基因组

DNA;以核酸测定仪测定所提 DNA 浓度及纯度。

1.5 *RHD* 及 *RHCE* 基因分型 MLPA 高通量血型基因分型试剂盒不但包含针对 *RHD* 和 *RHCE* 基因的 22 条野生型探针,可以与 *RHD* 基因的 7 个外显子(3-7 及 9、10)、部分内含子和 *RHCE* 基因 2、5 外显子(针对 c、E 和 e 特异性位点)互补结合,完整地检测 *RHD* 基因并做 *RHCE* 基因型鉴定,而且还包括 21 条针对常见 *RHD* 突变位点的探针,可用于检测常见的 D 变异型对应的基因突变位点;因此 MLPA 血型试剂盒可以对 *RHD* 合子型、常见 *RHD* 变异型、融合基因、及 *RHCE* 基因型等做明确鉴定,其相应的探针分别混合于 3 个不同的反应体系管中(Mix401, 402, 404)。严格按照试剂盒说明书及文献[4]方法操作。

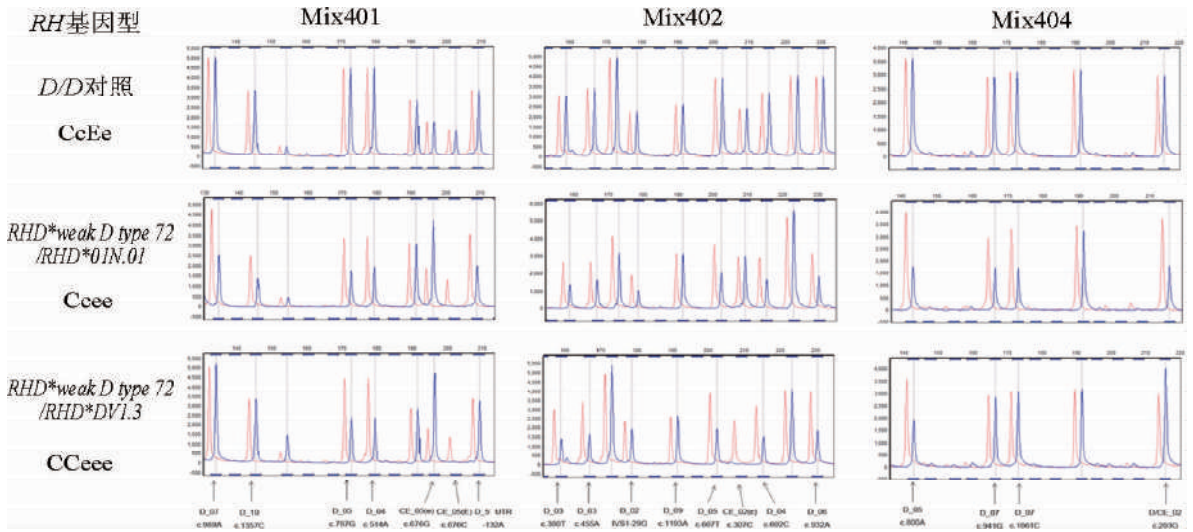
1.6 *RHD* 基因测序 PCR 扩增 *RHD* 基因外显子 1-10,扩增引物、体系及反应条件参照文献[4]方法。参照 96 孔 PCR 产物纯化滤板使用说明,纯化 PCR 扩增产物,利用 BigDye 末端终止 v3.1 循环测序试剂盒测序,利用乙醇/EDTA/醋酸钠方法纯化测序产物,纯化产物溶解于 10 μL Hi-Di 甲酰胺溶液中,95℃热变性 10 min,置于冰上冷却,上基因分析仪做毛细管电泳,测序结果用 DNASTARv. 5.0 软件(美国 DNASTAR 股份有限公司)与标准序列比对,对碱基变异做鉴定。

1.7 D 抗原表位血型血清学分析 用 D-Screen 试剂盒中的 9 种单克隆抗-D(表 1)及其他 7 种单克隆抗 D(表 2)检测 D 变异型标本的 D 抗原表位,其中 IgM 抗-D 采用盐水试管法、IgG 抗-D 采用抗球试管法检测,对凝集强度做判读;同时检测正常 D 阳性、D 阴性表型和弱 D15 表型各 1 例作为对照。

2 结果

2.1 D 变异型血清学检测 在 62 例 D 变异型标本中,共有 26 例显示为弱 D 表型,其中 5 例与 IgM 单克隆抗-D(克隆号 Rum-1)在 96 孔反应板中反应,凝集强度为 w+。进一步与单克隆抗-D(IgM+IgG)试剂在盐水介质中反应:凝集强度为 w+~1+(试管法离心);与单克隆抗-D(IgM+IgG)试剂在抗球凝胶卡中反应:凝集强度为 3+~4+。

2.2 D 变异型标本 *RHD* 及 *RHCE* 的 MLPA 基因分型 用 MLPA 试剂盒对 5 例 D 变异型标本做基因分型:1)有 4 例仅携带有 1 条 *RHD* 等位基因,另外 1 条为 *RHD* 基因缺失,*RHD* 基因型为 *RHD/RHD**01N.01,但携带的突变不能用 MLPA 检出(MLPA 仅能检出其试剂盒内包含的突变探针对应的 *RHD* 点突变),4 例 *RHCE* 基因型为 *Ccee*(图 1 第 2 列);2)只有 1 例携带 2 条 *RHD* 等位基因,其中 1 条为部分 *DVI3* 型等位基因[*RHD-CE*(3-6)-*D*],其 *RHD* 基因外显子 3-6 的拷贝数仅为 1,其余外显子拷贝数为 2,并且针对 *RHCE* 基因外显子 5 *RHCE**e 位点拷贝数为 3,显示携带有 1 条外显子完整的 *RHD* 等位基因,而另 1 条 *RHD* 等位基因则缺乏外显子 3-6,且它们全被 *RHCE* 相应外显子取代,所以出现针对 *RHCE**e 位点位点的 *RHCE* 外显子 5 拷贝数为 3,所以其 *RHCE* 基因型为 *CCeee*。而显示外显子完整的那条 *RHD* 等位基因携带的突变不能用 MLPA 检出(图 1 第 3 列)。



注:采用 Genemarker v. 1. 85 软件分析,红色峰为对照标本峰(基因型为 *CcDDEe*),蓝色峰为检测标本对应位点的产物峰;第 1 行为对照标本与自身比较,故红色峰与蓝色峰高度相同;第 2 行 *RHD* 基因所有野生型位点的蓝色峰高度均为红色峰 1/2,故其基因型为 *RHD/RHD*01N.01*;第 3 行 *RHD* 基因外显子 3-6 对应的检测位点,其蓝色产物峰高度为对照标本红色峰的 1/2,即拷贝数仅为 1,而其余外显子其蓝色产物峰高度与对照标本红色峰一致,即拷贝为 2,故其基因型为 *RHD/RHD*VI.3*,而针对 *RHCE*c* 位点(*RHCE* 基因外显子 2 的 c. 307C)无蓝色产物峰,*RHCE*e* 位点(*RHCE* 外显子 5 的 c. 676G)蓝色产物峰高度为对照标本红色峰的 3 倍,所以其 *RHCE* 基因型为 *CCeee*;图最底部为 *RHD* 及 *RHCE* 基因外显子及对应的特异性位点及碱基的缩写

图 1 1 例弱 D72 型标本的 *RHD* 及 *RHCE* 基因 MLPA 基因分型

2.3 *RHD* 基因测序 对 5 例有完整外显子但携带有 MLPA 无法检出其突变的 *RHD* 基因标本做 *RHD* 基因外显子 1-10 测序,外显子 9 的错义点突变(c. 1212C>A, p. 404Asp>Glu),导致 D 抗原第 404 位氨基酸由天冬氨酸(Asp)突变为谷氨酸(Glu),该变异为定义弱 D72 等位基因的特异性点突变(图 2)。结合 MLPA 基因拷贝数及 *RHD* 基因测序分析结果,4 例 *Ccee* 标本的 *RHD* 基因型为 *RHD*weak D type 72/RHD*01N.01* (*RHD* 基因缺失),1 例 *Cceee* 标本的 *RHD* 基因型为 *RHD*weak D type 72/RHD*VI.3*。

3 讨论

D 变异型通常在 RhD 血型鉴定或 D 阴性确证的过程中被发现,弱 D 表现为与 ≥1 种抗-D 检测试剂反应弱凝集(通常 ≤2+),而部分 D 则表现为与某些抗-D(即其拥有的抗原表位对应的单克隆抗-D)反应阳性(反应强度 1+~4+),与某些抗-D(缺乏 D 抗原表位对应的单克隆抗-D)反应阴性。一些 D 变异型可以通过 D 抗原表位检测试剂盒的反应格局等来鉴定,而大多数弱 D 及其他血清学特征尚不清楚的 D 变异型,只有通过分子生物学检测才能明确鉴定。D 变异型血型的明确鉴定是准确指导临床输血相关实践的基础,迄今为止已报道的明确产生同种抗-D 的 D 变异型 >30 种^[3],仍有大量尚不清楚能否产生同种抗-D 的 D 变异型,现阶段均作为 D 阴性受血者对待^[3]。

目前已报道的中国人人群中的弱 D 及部分 D 等位基因或基因型共有 40 余种(表 2),其中弱 D15 及 DVI3 型最常见,两者合计分布频率 >65%,且抗原表位均不完整,均可能产生同种抗-D^[3]。2006 年,朱自严等向 Genbank 提交了 1 条 D 变异型标本的 *RHD* 部分外显子序列,被国际输血协会(IS-BT)命名为弱 D72,但一直缺乏相关的血型血清学资料。直到 2012 年,深圳有 1 例献血者弱 D72 血型的个案报道,作者采用针对 D 抗原不同表位的 12 种单克隆抗-D 检测;该例标本的红细胞与这些抗体均呈弱阳性反应,提示弱 D72 血型红血细胞可能不存在 D 抗原表位缺失^[5]。我们对本次发现的 5 例弱 D72 标本,采用商品化的 D 抗原表位检测试剂盒(D-Screen)(内含 9 种单克隆抗-D)以及其他 7 种单克隆抗-D,对其中 1 例先证者标本做了 D 抗原表位检测;其红细胞与全部 16 种单克隆抗 D 均呈弱阳性反应(试管法的凝集强度均为 1+~2+)(表 1)。进一步支持了弱 D72 血型红血细胞可能不

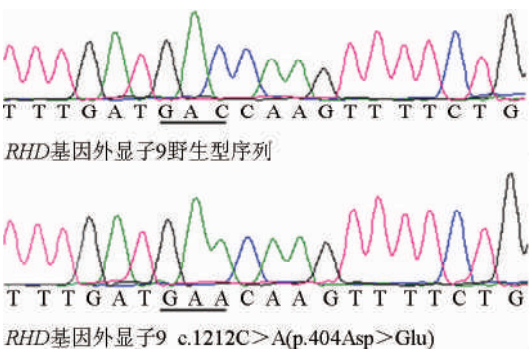


图 2 *RHD* 基因外显子 9 测序 2. 4 D 抗原表位检测

2.4 弱 D72 的 D 抗原血清学特征 从 5 例携带 *RHD*weak D type 72* 等位基因的标本中选 1 例 *RHD*weak D type 72/RHD*01N.01* (*RHD* 基因缺失)做详细的抗原表位血清学分析:其与 D-Screen 抗原表位检测试剂盒及其他 7 种单克隆抗 D 反应均为弱阳性,凝集强度为 1+~2+(表 1)。抗-D 阳性标本与所有单抗反应均为 4+,抗-D 阴性标本与所有单抗反应均为阴性,弱 D15 标本仅与其中 4 种单克隆抗-D(克隆号 MS-26 针对 D 抗原表位 9. 1, P3* 249 针对 D 抗原表位 2. 1, LHM 169/81 针对 D 抗原表位 6. 3, IV-I-63 LOS2 针对的 D 抗原表位尚不清楚)反应呈现弱凝集(1+),表现为弱部分 D 表型。

现阶段,根据不同种类和数量的单克隆抗-D 来区分和定义 D 抗原表位,有几种 D 抗原表位命名的模型最初命名了 8/9 个表位^[6-7],随后的模型将 D 抗原表位扩展到了 16、30 及 37 个,不同表位的命名之间有一定的对应关系^[8-11]。理论上讲,D 变异型个体是作为阴性还是阳性受血者对待,取决于其 D 抗原表位是否完整。如果其 D 抗原缺乏某些抗原表位,就有可能产生针对其缺乏表位对应的同种抗-D,应该作为 D 阴性受血者对待(即患者输注 D 阴性血液,孕产妇定期监测抗体筛查并注射抗-D 免疫球蛋白);如果其 D 抗原表位完整,输注 D 阳性血的患者或孕有 D 阳性胎儿的孕妇,不会产生同种免疫,应该作为 D 阳性受血者对待^[12]。但由于目前尚可能存在未被发现的 D 抗原表位,所以主要是依据已报道的 D 变异型是否产生同种抗体来指导临床,即已经有大量证据显示不会产生抗-D 的 D 变异型可以作为阳性受血者对待,而对于已经产生同种抗-D 和尚不清楚是否产生同种抗-D 的 D 变异型个体,出于输血安全考虑,现阶段作为 D 阴性受血者对待^[3]。因此,对于弱 D72 血型个体是否会产生抗-D,仍需要更多临床同种免疫相关证据的支持,现阶段仍建议临床作为 D 阴性受血者对待。下一步可以通过对孕有阳性胎儿的弱 D72 血型孕妇或紧急情况下输注阳性血的弱 D72 受血者的追踪,来最终证实究竟弱 D72 血型个体是否会产生抗-D,为制定弱 D72 受血者输血指导原则和孕期监测策略提供依据。

参 考 文 献

- Flegel WA. Molecular genetics of RH and its clinical application. *Transfus Clin Biol*, 2006, 13(1-2): 4-12.
- Kormoczi GF, Gassner C, Shao CP, Uchikawa M, Legler TJ. A comprehensive analysis of DEL types; partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization. *Transfusion*, 2005, 45(10): 1561-1567.
- Daniels G. Variants of RhD-current testing and clinical consequences. *Br J Haematol*, 2013, 161(4): 461-470.
- Haer-Wigman L, Veldhuisen B, Jonkers R, et al. RHD and RHCE variant and zygosity genotyping via multiplex ligation-dependent probe amplification. *Transfusion*, 2013, 53(7): 1559-1574.
- 吴筱莹,庄乃保,徐红先,等. 1 例新的弱 D 型的鉴定. *临床输血与检验*, 2012, 14(2): 103-106.
- Lomas C, McColl K, Tippett P. Further complexities of the Rh antigen D disclosed by testing category DII cells with monoclonal anti-D. *Transfus Med*, 1993, 3(1): 67-69.
- Lomas C, Tippett P, Thompson KM, et al. Demonstration of seven epitopes on the Rh antigen D using human monoclonal anti-D antibodies and red cells from D categories. *Vox Sang*, 1989, 57(4): 261-264.
- Tippett P, Lomas-Francis C, Wallace M. The Rh antigen D: partial D antigens and associated low incidence antigens. *Vox Sang*, 1996, 70(3): 123-131.
- Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. *Transfus Med*, 1995, 5(3): 171-184.
- Scott M. Rh serology-Coordinator's report. *Transfus Clin Biol*, 1996, 3: 333-337.
- Liu W, Avent ND, Jones JW, et al. Molecular configuration of Rh D epitopes as defined by site-directed mutagenesis and expression of mutant Rh constructs in K562 erythroleukemia cells. *Blood*, 1999, 94(12): 3986-3996.
- Shao CP. Transfusion of RhD-positive blood in "Asia type" DEL recipients. *N Engl J Med*, 2010, 362(5): 472-473.
- Ye L, He Y, Gao H, et al. Weak D phenotypes caused by intronic mutations in the RHD gene: four novel weak D alleles identified in the Chinese population. *Transfusion*, 2013, 53(8): 1829-1833.
- Ye L, Wang P, Gao H, et al. Partial D phenotypes and genotypes in the Chinese population. *Transfusion*, 2012, 52(2): 241-246.
- Ye LY, Guo ZH, Zhu ZY. Homo sapiens Rhesus blood group D antigen (RHD) gene, RHD-weak D allele, exon 1 and partial cds (EU335051); Homo sapiens Rhesus blood group D antigen (RHD) gene, RHD-weak D allele, exon 9 and partial cds (EF103573); and Homo sapiens Rhesus blood group D antigen (RHD) gene, RHD (A414V) allele, exon 10 and partial cds (EU604751). 2016-12-14 [2016-12-15] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>.
- He J, Ying Y, et al, Zhu F, Lv H. Molecular basis and zygosity determination of D variants including identification of four novel alleles in Chinese individuals. *Transfusion*, 2015, 55(1): 137-143.
- Yan L, Wu J, Zhu F, et al. Molecular basis of D variants in Chinese persons. *Transfusion*, 2007, 47(3): 471-477.
- Ye SH, Wu DZ, Wang MN, et al. A comprehensive investigation of RHD polymorphisms in the Chinese Han population in Xi'an. *Blood Transfus*, 2014, 12(3): 396-404.
- Shao CP, Maas JH, Su YQ, et al. Molecular background of Rh D-positive, D-negative, D(el) and weak D phenotypes in Chinese. *Vox Sang*, 2002, 83(2): 156-161.
- Lin IL, Shih MC, Hsieh MH, et al. Molecular basis of weak D in Taiwanese. *Ann Hematol*, 2003, 82(10): 617-620.
- Chen Q, Li M, Li M, et al. Molecular basis of weak D and DEL in Han population in Anhui Province, China. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(18): 3251-3255.
- 孙国栋,景海珍,熊文,等. 在中国人群中首次发现 1 例 Rh 血型弱 D12 型. *中国输血杂志*, 2006, 19(1): 14-17.
- 罗广平,骆宏,张润青,等. 弱 D25 型的血清学和分子生物学特征研究. *热带医学杂志*, 2013, 13(9): 1086-1088.

(2016-12-16 收稿,2017-05-23 修回)

本文编辑:蔡辉

· 论著 ·

利用流式细胞仪检测两性霉素 B 依赖性抗体*

王嘉励 叶欣[△] 夏文杰 邓晶 徐秀章 刘静 丁浩强 陈扬凯 陈大伟 邵媛
(广州血液中心 输血研究所, 广东 广州 510095)

摘要:目的 建立流式细胞术检测药物依赖性血小板抗体的标准方法。**方法** 针对 1 名再生障碍性贫血患者的血小板抗体检测,通过 ELISA 法检测其血浆中和血小板上特异性和自身抗体,用 Lifecodes LSATM Class I(Luminex 试剂盒,磁珠液相悬浮芯片系统)检测患者血浆中 HLA- I 类抗体特异性;以流式细胞术检测患者血浆中两性霉素 B 依赖的血小板抗体。**结果** ELISA 法检测:血小板特异性抗体和自身抗体均为阴性;Luminex 试剂盒测得:患者血清中 HLA- I 类抗体阳性率为 1%,未检出有特异性的 HLA- I 类抗体。流式细胞术检测:患者血浆中存在两性霉素 B 依赖的血小板抗体。**结论** 流式细胞术或可成为检测药物依赖性血小板抗体的实验室标准手段,为临床预防和治疗药物引起的血小板减少症提供可靠的理论和技术保障。

关键词:血小板减少症,药物引起;血小板抗体;药物依赖性抗体;流式细胞术;两性霉素 B;血小板输注无效

中图分类号:R446. 62 Q503 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0498-03

Detection of Amphotericin-B-dependent antibodies by flow cytometry WANG Jiali, YE Xin, XIA Wenjie, DENG Jing, LIU Jing, DING Haoqiang, CHEN Yangkai, CHEN Dawei, SHAO Yuan. Blood Transfusion Institution of Guangzhou Blood Center, Guangdong 510095, China. Corresponding author: YE Xin

Abstract: Objective To construct a laboratory technology to detect drug-dependent antibodies by flow cytometry. **Methods** The sample of one patient with aplastic anemia was detected using ELISA and Luminex for platelet-specific and autoantibodies, HLA class I antibodies, respectively. Amphotericin B-dependent antibody was detected by cytometry. **Results** The platelet-specific and-auto antibody were both negative and the positive rate of HLA class-I antibody was 1%, and had no specificity. The amphotericin B-dependent antibody was positive. **Conclusion** The sensitivity and ability to provide quantitative results of flow cytometry were useful for standard laboratory use for detecting drug-dependent antibodies, providing theoretical and technical support for clinical treatment of drug-induced thrombocytopenia.

Keywords: Drug-induced thrombocytopenia; drug-dependent antibody; flow cytometry; Amphotericin B

药物引起的血小板减少症 (drug-induced thrombocytopenia, DITP) 通常指患者血小板计数 (Plt) $<20 \times 10^9/L$ 且伴有出血、药物依赖性血小板抗体 (drug-dependent antibodies, DDABs), 并在停药后 Plt 可升至正常水平为主要表现的临床综合征; DITP 见于任何性别与年龄的人, 已有出血引起死亡的病例报道^[1]。由于临床患者用药的多样性和复杂性以及 DITP 实验室检测手段尚未标准化, 使得 DITP 的诊断非常困难^[2]。两性霉素 B 是 1 种多烯类抗真菌药, 其主要副作用为贫血、肾毒性、周围神经炎等, 这些副作用会随着停药而消除症状^[3]。我们在日常工作中从 1 例再生障碍性贫血标本中检测到两性霉素 B 引起的 DDABs, 并藉此建立了标准的实验室检测 DDABs 方法, 现报道如下。

1 病例与方法

1.1 病例资料

患者, 女, 34 岁, 2014 年 3 月 20 日因头晕、
doi:10. 13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 05. 017
* 广东省医学科研基金项目 (A2015316), 广州市血液安全重点实验室项目 (201509010009), 广东省自然科学基金委 (面上项目) (2016A030313123, 2016A030313124), 广州市科技计划项目 (201607010007), 广州市科技计划项目 (201707010021); [△] 通信作者: 叶欣 (1968. 11-) 女, 主任医师, 主要从事输血遗传免疫学研究, 电话: 020-83595201, Email: huang_yexin@qq. com

乏力入南方医科大学珠江医院就诊, 诊断为“重型再生障碍性贫血”收住入院; 住院期间患者肺部产生真菌感染, 应用两性霉素 B (20 mg, q. d.) 抗感染治疗 1 周, 后皮肤出现瘀点、瘀斑, 查 Plt $10 \times 10^9/L$, 遂使用 TPO 治疗 (1 $\mu g/kg$, 连用 2 周), 效果不佳, 又连续输注 ABO 同型的随机单采血小板 >3 次 (1 个治疗量/次 (血小板 2.5×10^{11} 个/治疗量) 后, 24 h 血小板增加校正指数 (CCI) <4.5 , 判为血小板输注无效 (PTR)。2014 年 5 月 18 日抽取患者血液标本 15 mL (静脉血, EDTA 抗凝, 常温保存) 送至本研究所检测。

1.2 ELISA 法检测血小板特异性抗体和自身抗体 血小板特异性抗体检测包含抗-HLA, 抗血小板膜糖蛋白 GP I b/IX、GP II b/III a、GP I a/II a 及 GP IV; 血小板自身抗体包含抗血小板膜糖蛋白 GP I b/IX、GP II b/III a、GP I a/II a; 按照 LifecodesPakplus 试剂盒 (批号 3001709) 和 LifecodesPakAuto 试剂盒 (批号 3002663) (美国 Immucor) 说明书操作; 在酶标仪 (ELx800GTI, 美国 BioTek) 上读取最后试验结果。根据酶标仪读取的各孔吸光度 (A) 值, 阴性对照的 2 倍为 Cut off 值, 测定孔 A 值大于 Cut off 值即视为阳性。

1.3 磁珠液相悬浮芯片系统检测抗-HLA 抗体特异性 按照 LIFECODES LSA Single Antigen 试剂盒 (批号 09172B, 美国 Immucor 公司) 说明书操作; 以 LIFECODES LSA Class I 微珠

(检测 HLA Class I 糖基蛋白的 IgG 抗体)与患者血浆孵育 30 min,利用抽真空方法洗涤除去未结合抗体,再加入 PE 标记的二抗染色,通过 Luminex 平台获取特异性结合微珠的荧光信号,再利用软件 GEN-PROBE MATCH IT (Version: 1.00, 美国 gen-probe 公司)分析得到特异性抗体类型及阳性率。

1.4 流式细胞术检测两性霉素 B 依赖性抗体 随机选取 3 名 O 型健康献血者全血(2-4)mL/(人)份(广州血液中心采集制备,EDTA 抗凝),提取富含血小板血浆,再通过离心提取血小板,并混合重悬于 EDTA-PBS (pH7.1)0.1% BSA (牛血清白蛋白,0218054210,美国 MP Biomedical 公司)中,最终浓度为 $1.5 \times 10^6 / \mu\text{L}$ 。流式检测混合物成分: 2.5×10^7 个血小板,30 μL 0.2 mmol/L 两性霉素 B 溶于 1×PBS 中,60 μL 患者血清,终体积为 100 μL ;以上混合物室温孵育 40 min 洗涤 3 次[洗液为 pH7.4 含有 0.2 mmol/L 两性霉素 B 的 PBS 1%BSA (PBS-albumin)]后,将血小板重悬于 200 μL 按 1:150 稀释的 FITC-anti-human IgG F(ab')₂(批号 104348,美国

Jackson 公司),室温避光孵育 20 min;洗涤 1 次后,重悬于 1 μL PBS-albumin 中,此时的洗液无需添加药物。上机 (BD FACSCanto™ II,美国 Becton, Dickinson and Company)测线性模式下的 MFI 值;对照设置 3 组:患者血清不添加药物(在无药物溶液的刺激下得出 MFI 值)组、正常血清添加药物组、正常血清不添加药物组。患者血清两性霉素 B 依赖性抗体 MFI 的确定:ratio=患者血清添加两性霉素 B 的 MFI 值/不添加组 MFI 值。检测 10(人)份正常献血者血清,均添加两性霉素 B,并与均不添加两性霉素 B 的 MFI 值相比,得到 1 个平均 ratio 值。患者血清检测得出的 ratio 值与之相比。

2 结果

2.1 ELISA 法检测患者血小板特异性和自身抗体 抗-HPA (包括特异性和自身),Pak Plus 和 Pak Auto2 种方法,测定孔均为阴性,抗 HLA-I 类测定孔为阳性(表 1)。

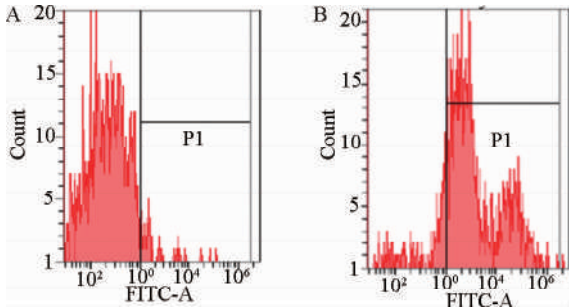
表 1 Pak Plus 和 Pak Auto 法检测抗-HPA 和抗-HLA- I 吸光度值(A)

	NC	GP II b/III a (抗-HPA-1a/1a,3a/3a,4a)	GP II b/III a (抗-HPA-1b/1b,3b/3b,4a)	GP I a/II a (抗-HPA-5b/5b)	GP I a/ I a (抗-HPA-5a/5a)	GP I b/IX	GP IV	HLA- I
Pak Plus 法	0.11	0.196	0.202	0.211	0.215	0.13	0.181	1.328*
Pak Auto 法	0.063	0.123	0.121	0.116	0.093	0.084	Nt	Nt-

* A 值>0.22(Pak Plus 固相 ELISA 法 Cut off 值),为阳性;Pak Auto 固相 ELISA 法 cutoff 值为:A=0.126(GPIV 和 HLA- I 该试剂盒无法检测);NC 为阴性对照,是由试剂盒提供的阴性质控血清检测所得出的结果

2.2 患者抗-HLA- I 特异性检测 根据 2.1 结果显示患者存在抗-HLA- I,遂以 Lifecodes LSA Class I Single Antigen(磁珠液相悬浮芯片系统)检测:患者血清中抗-HLA- I 阳性率为 1%(该阳性率是通过 Luminex 分析软件直接算出),未检出特异性抗-HLA- I。

2.3 患者血清中两性霉素 B 依赖性抗体的检测 通过检测 10(人)份正常献血者血清(添加和不添加两性霉素 B,得到了 1 个平均 ratio 值=1.20±0.18(3s)作为正常基准,患者血清 ratio=2.15,>2.0 认定为药物依赖性抗体阳性(图 1)^[4]。



A 患者血清中不添加两性霉素 B;B 患者血清中添加两性霉素 B(此处所指的患者血清不添加药物,是指孵育和洗涤时无药物溶液加入)

图 1 流式细胞术检测患者血清中两性霉素 B 依赖性抗体

3 讨论

通过非免疫或免疫机制,许多药物可以引起血小板减少症。非免疫的血小板减少症病因包括一般骨髓毒性(如化疗)、剂量依赖的骨髓抑制(如利奈唑胺)或是特异性的巨核细胞功能阻碍(如硼替佐米)^[5];免疫介导的血小板减少症通过药物依赖的血小板抗体加速血小板破坏^[6],该类药物可

引起血小板清除(如奎宁和奎尼丁)或是血小板活化(如肝素)^[7,8]。药物依赖的巨核细胞抗体同样可引起免疫介导的抑制血小板产生^[9]。

DITP 的症状与原发血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura,ITP)在临床上难以区分,因此作为血小板减少症的 1 个病因常被忽略,且 DITP 的诊断必须依靠 1 份完整的临床用药资料和实验室检测结果。本例中的患者由于血小板减少,输注随机机采血小板无效,才特来本实验室做血小板特异性抗体检测,经 ELISA、Luminex 的方法发现其血清中抗-HPA 阴性,抗-HLA- I 类抗体阳性率为 1%,且无特异性(表 1),故暂且排除由血小板特异性同种抗体引起的血小板减少症。

目前国际上能有效检测引起 DITP 药物的实验室方法包括流式细胞术、血小板悬液免疫荧光试验、放射性标记的抗球蛋白分析、抗原捕获 ELISA(ACE)、酶联免疫分析、免疫沉淀、免疫印迹^[10]。实验室的检测手段目前仍只有几个参比实验室具备,并且尚未标准化^[11];究其原因有:1)检测手段对某些药物依赖的 DDabs 不敏感;2)每种药物必须对应特定的分析,其中有些药物在中性 pH 条件下是不可溶的;3)引发 DITP 的药物代谢物在试验中难以获得;4)其他血小板抗体可能混在药物依赖性抗体中^[12]。国际血栓和止血组织正致力于对最具普遍影响的药物所引起依赖性血小板抗体的实验室检测的标准化。将流式细胞仪检测药物依赖性抗体结合到完整血小板上的或可成为检测大部分药物的标准方法。Reesse 等^[12]将流式细胞仪检测 DDabs 阳性 Cut off 值定义为健康献血人群平均值+3s,其可信区间为 99%;在本实验中结果为 1.20+0.18(图 1)。另外 Curtis 等^[4]早就认定阳性值 ratio>2.0。参考以上 2 种方法,本例中 ratio=2.15,故认

为流式细胞术检测两性霉素 B 依赖的抗体结果阳性。流式细胞术因其特异性及可以提供定量结果是最常用的,但在国内尚未有实验室开展,我们通过对本例的检测建立了流式细胞术检测两性霉素 B 依赖的血小板抗体的方法。

为了更好地确定某一药物是血小板减少症起因,宜建立相应的临床评价系统。Hackett^[13]等提出的标准是:1)当患者用药时产生血小板减少症,一旦停药缓解,并且停药后不再复发;2)排除了其他原因;3)重新用药后血小板减少症复发;4)体外实验显示药物依赖的血小板抗体阳性。实验室检测结果为阳性再暴露或是阳性都足以支持诊断。我们依据这些标准从文献中检索到了 24 种可以导致 DITP 的药物;而早在 1998 年,George 等^[1]利用相似的临床标准确立了 DITP 药物的等级并证实了 48 种有明确联系的药物,两性霉素 B 也在其中。本例中我们通过流式细胞术检测到患者血浆中的两性霉素 B 依赖性抗体,这与之前 George 的证实相符合。

总之,DITP 相关发病机理的研究在我国还未引起应有的关注和重视,故研究基础薄弱,亟待起步。我们通过对 1 名血小板减少症患者的血小板特异性抗体及药物依赖性抗体的检测,建立了流式细胞术检测药物依赖的血小板抗体的方法,后续将扩大病例标本及筛查更多可能引起血小板减少症的药物,为预防和治疗血小板减少症提供可靠的理论和技术保障。

参 考 文 献

[1] George JN, Raskob GE, Shah SR, et al. Drug-induced thrombocytopenia: a systematic review of published case reports. *Ann Intern Med*, 1998, 129(11):886-890.

[2] Aster RH, Curtis BR, McFarland JG, et al. Drug-induced immune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis, and management. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(6):911-918.

[3] Chan CS, Tuazon CU, Lessin LS. Amphotericin-B-induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med*, 1982, 96(3):332-333.

[4] Curtis BR, McFarland JG, Wu GG, et al. Antibodies in Sulfonamide-induced Immune Thrombocytopenia recognize Calcium-dependent epitopes on the Glycoprotein I_b/III_a complex. *Blood*, 1994, 84(1):176-183.

[5] Wazny LD, Ariano RE. Evaluation and management of drug-induced thrombocytopenia in the acutely ill patient. *Pharmacotherapy*, 2000, 20(3):292-307.

[6] Arnold DM, Nazi I, Warkentin TE, et al. Approach to the Diagnosis and management of drug-induced immune thrombocytopenia. *Transfus Med Rev*, 2013, 27(3):137-145.

[7] Brinker AD, Beitz J. Spontaneous reports of thrombocytopenia in association with quinine: clinical attributes and timing related to regulatory action. *Am J Hematol*, 2002, 70(4):313-317.

[8] Lee DH, Warkentin TE, Denomme GA, et al. A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia: detection of platelet microparticles using flow cytometry. *Br J Haematol*, 1996, 95(4):724-731.

[9] Perdomo J, Yan F, Ahmadi Z, et al. Quinine-induced thrombocytopenia: drug-dependent GPIIb/IX antibodies inhibit megakaryocyte and proplatelet production in vitro. *Blood*, 2011, 117(22):5975-5986.

[10] Curtis BR, McFarland JG. Detection and identification of platelet antibodies and antigens in the clinical laboratory. *Immunohematology*, 2009, 25(3):125-135.

[11] Wu GG, Kaplan C, Curtis BR, et al. Report on the 14th International Society of Blood Transfusion Platelet Immunology Workshop. *Vox Sang*, 2010, 99(4):375-381.

[12] Reese JA, Li XN, Hauben M, et al. Identifying drugs that cause acute thrombocytopenia: an analysis using 3 distinct methods. *Blood*, 2010, 116(12):2127-2133.

[13] Hackett T, Kelton JG, Powers P. Drug-induced platelet destruction. *Semin Thromb Hemost*, 1982, 8(2):116-137.

(2016-07-14 收稿, 2017-05-20 修回)

本文编辑:蔡辉

严 正 声 明

近期不断地有各地编委老师,投稿作者反应,有冒《中国输血杂志》之名的“钓鱼网站”以各种方式非法收取所谓“定稿费”、“录用证明费”、“发表费”等各种明目的费用,对本刊长期以来形成的良好声誉造成了十分恶劣的影响。

在此郑重声明:本刊正式的收费项目只有审稿费(60元/篇),版面费,杂志发行费(16元/本)3种。除此之外的任何费用,均与《中国输血杂志》编辑部无关!此外,本部未开通任何形式的网上支付方式,如广大同仁在投稿,发稿,购买本刊印刷品过程中,发现任何问题,请及时与本刊编辑部电话联系确认,不要轻易转账付款,以杜绝此类“钓鱼牟利”事件的发生,维护广大作者,读者权益和编辑部声誉!

特此声明,谢谢大家!

· 论著 ·

外用人纤维蛋白粘合剂凝胶性能研究

蒋桂香 朱光祖[△] 罗观文 胡川 周燕莉 殷如(广东双林生物制药有限公司,广东 湛江 524000)

摘要:目的 开发生产人纤维蛋白粘合剂产品,并对其成胶速度、持续时间、弹力及抗张强度等凝胶性能指标进行研究。**方法** 通过乙醇沉淀,离子交换层析等分离纯化方法和多重病毒灭活工艺制备产品;体外拉伸试验和小鼠试验研究其凝胶性能指标。**结果** 所制得纤维蛋白原及凝血酶各项性能指标均优于中国药典标准,纤维蛋白粘合剂成品成胶时间均在 2 s 以内,具有较快的成胶速度;37 °C 下凝胶持续时间在 600–700 min 内,使用牛抑肽酶试液溶解纤维蛋白原的试验组成胶速度有所降低,而凝胶的持续时间有所延长;纤维蛋白粘合剂平均单位面积拉伸高度 6.4–7.4 mm,具有较好的弹性指数,而抗张强度差异较大,最佳抗张强度为 80 g/cm²,抗张强度方面有所不足。**结论** 所开发的人纤维蛋白粘合剂制品具有高强度、高弹力、成胶速度快,持续时间久的凝胶性能。

关键词:纤维蛋白粘合剂;纤维蛋白原;人凝血酶;凝胶性能

中图分类号:R457.1 R977.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0501-03

Research on gelation ability of fibrin sealant JIANG Guixiang, ZHU Guangzu, LUO Guanwen, HU Chuan, ZHOU Yanli, YIN Ru. Shuanglin Biological Pharmaceutical Co., LTD, Zhanjiang 524000, China. Corresponding author: ZHU Guangzu

Abstract: Objective To development and produce fibrin adhesive products. Gel performance indicators such as gel speed, duration, elasticity and tensile strength were studied. Methods Product was prepared by separation of ethanol precipitation, ion exchange chromatography and multiple virus inactivated process. Tensile test in mice were used to study in vitro on gel performance indicators. **Results** All performance indicators of fibrinogen and thrombin were superior to Chinese pharmacopoeia standards. The bonding time of the binder is within 2 s and gel with fast speed; the gel duration within 600–700 min at 37 °C. Using bovine test solution, the fibrinogen dissolution decreased, while the duration of the gel was extended. The average per unit area stretching height for fibrin glue was 6.4–7.4 mm, the best tensile strength was 80 g/cm², which was insufficient. **Conclusion** Human fibrin sealant products were developed with gel properties, such as increased strength, high elasticity, fast gel and long duration.

Key words:Fibrin sealant; fibrinogen; thrombin; gelation ability

人纤维蛋白粘合剂(fibrin sealant, FS)是从健康人血浆中提取的 1 种天然生物蛋白粘合剂,通常由人纤维蛋白原和凝血酶组成,主要通过模拟机体的凝血反应,由凝血酶将液态的纤维蛋白原转化为固态的纤维蛋白胶体网,从而达到止血和粘合创面组织的功效^[1]。其具有止血速度快,组织相容性良好,使用安全的优点,它能适应伤口的自然愈合或组织再生,并可由新生的组织所替代,是 1 种理想的新型天然生物止血材料,目前冻干人纤维蛋白粘合剂已广泛使用在各类外科手术中^[2–4]。为了使纤维蛋白粘合剂在机体内存在足够的时间,纤维蛋白原溶解液组成中一般含有抑制蛋白降解的物质抑肽酶,市售商品抑肽酶大部分来自牛肺,牛抑肽酶中含有非人源性蛋白,用于人体时易产生过敏反应。有学者经对比试验认为不加抑肽酶也可以获得同样的治疗效果^[5]。市售 FS 产品一般由纤维蛋白原和凝血酶的冻干粉 2 部分组成,临用前分别溶于含有抑肽酶和 CaCl₂的溶剂中,利用相应的辅助设备喷洒或注射于待粘合创面。人纤维蛋白粘合剂的主要临床用途(止血和粘合创面组织)要求其具有高强度、高弹力、成胶速度快,持续时间久的凝胶性能,而目前国内对

人纤维蛋白粘合剂凝胶性能的研究较少^[6–7]。

本文利用 cohn 组分 I 及组分 III 沉淀为原料,采用乙醇沉淀,离子交换层析等分离纯化方法和 S/D 法+干热法,纳滤法等多重病毒灭活工艺,开发生产了 6 批人纤维蛋白粘合剂产品,并对其不加抑肽酶与加用抑肽酶时的成胶速度、持续时间、弹力及抗张强度等凝胶性能指标进行了研究。

1 材料与与方法

1.1 材料 cohn 组分 I 和组分 III(本公司自制);Tween-80(德国默克);磷酸三丁酯(德国默克);枸橼酸钠(德国默克);乙醇(遂溪华联);蔗糖(湖南尔康);氯化钙(台山新宁);氯化钠(江苏勤奋)。

1.2 纤维蛋白原制备 称取组分 I 沉淀 200 g,切碎为直径 2 cm 左右的小块,加入含枸橼酸钠和氯化钠的悬浮液,25–27 °C 下搅拌溶解 3 h,200 目滤纸过滤去除不溶性蛋白,加入磷酸三丁酯和 Tween-80,保温 6 h 灭活脂包膜病毒,再经 2 次低温乙醇沉淀,离心分离进一步去除杂蛋白和残余 S/D 灭活剂,加入适量保护剂,经除菌分装后进行真空冷冻干燥,并再次干热灭活病毒,最终得到纤维蛋白原制品^[8]。

1.3 人凝血酶制备 称取组分 III 沉淀 200 g,切碎为直径 2 cm 左右的小块,加入含枸橼酸钠和氯化钠的溶解液,20 °C 下

搅拌溶解 3 h, 200 目滤纸过滤并收集沉淀, 再次加入含无机离子激活剂的溶解液溶解沉淀, 用适宜浓度的 PEG 沉淀去除脂类和杂蛋白, 上清液加入磷酸三丁酯和 Tween-80, 保温 6 h 灭活脂包膜病毒, 再经阴离子交换树脂层析进一步纯化, 洗脱液经过滤后加入适量保护剂, 纳滤法除病毒, 除菌分装, 冷冻干燥得到人凝血酶制品。

1.4 纤维蛋白原及凝血酶相关性能指标测定 纤维蛋白原的凝固活力、纯度、凝血酶效价的测定: 采用《中国药典》三部(2015 年版)的测定方法。

1.5 纤维蛋白粘合剂混合 将以上方法制备的不同批次纤维蛋白原和人凝血酶分别使用纤维蛋白原溶解液和凝血酶溶解液溶解后按 1:1 的体积比混合, 即得到多批次的纤维蛋白粘合剂制品(混合及溶解方式如表 1 所示)。

表 1 纤维蛋白粘合剂混合及溶解方式

纤维蛋白粘合剂	纤维蛋白原批号	人凝血酶批号	纤原溶解液	凝血酶溶解液
20160101	20150603	20140501	注射用水	Ca ²⁺ 溶解液
20160102	20150705	20150501	注射用水	Ca ²⁺ 溶解液
20160103	20150706	20150501	注射用水	Ca ²⁺ 溶解液
20160104	20150603	20140502	注射用水	Ca ²⁺ 溶解液
20160105	20150705	20140502	注射用水	Ca ²⁺ 溶解液
20160106	20150706	20140502	注射用水	Ca ²⁺ 溶解液
20160201	20150603	20140501	抑肽酶溶液	Ca ²⁺ 溶解液
20160202	20150705	20150501	抑肽酶溶液	Ca ²⁺ 溶解液
20160203	20150706	20150501	抑肽酶溶液	Ca ²⁺ 溶解液
20160204	20150603	20140502	抑肽酶溶液	Ca ²⁺ 溶解液
20160205	20150705	20140502	抑肽酶溶液	Ca ²⁺ 溶解液
20160206	20150706	20140502	抑肽酶溶液	Ca ²⁺ 溶解液

1.6 FS 成胶速度及持续时间测定 纤维蛋白原试液: 称取冻干纤维蛋白原干粉 0.1 g, 分别使用 2 mL 灭菌注射用水和 2 mL 含 4 000 kIU 牛抑肽酶的抑肽酶溶液溶解, 37℃ 水浴 30 min 待用。凝血酶试液: 称取冻干人凝血酶干粉 1 000 IU, 使用 2 mL Ca²⁺ 溶解液溶解(含 300 mmol/L NaCl, 40 mmol/L CaCl₂)。取等量纤维蛋白原试液和人凝血酶试液, 使用 Y 型注射器在 37℃ 水浴条件下充分混匀, 使用全自动血凝仪记录其凝固时间; 保持 37℃ 水浴条件, 每隔 30 min 观察凝胶状态, 记录凝胶持续时间^[9-10]。

1.7 FS 抗张强度测定 小鼠置于全封闭式吸入麻醉器中, 使用乙醚作为麻醉剂, 控制乙醚浓度 5% 左右。待小鼠口鼻吸入乙醚麻醉 4-6 min 后取出, 俯面固定于手术台上, 背部去毛, 用碘酒和酒精棉球消毒, 用 10 号手术刀剥离 1 cm×1 cm 的背部皮肤, 擦去血液及组织液; 使用 Y 型注射器混合等量纤维蛋白原试液和人凝血酶试液, 立即粘合创口和皮肤, 盖上纱布, 静置, 分别测定 5 min 和 40 min 的极限拉力^[11]。

1.8 FS 弹力测定 单位面积拉伸高度 $H^{\circ} = \frac{H}{L^2}$ (1)。取等量纤维蛋白原试液和人凝血酶试液, 使用 Y 型注射器在 37℃ 水浴条件下于毛面玻璃上充分混匀, 涂成厚度为 2 mm 的正方形胶块, 静置 10 min 后用镊子夹住凝胶块中部轻轻上提, 测定其最大被拉伸的高度(mm); 并使用直尺测定正方形胶块的边长, 按(1)式计算可得。式中: H 为凝胶中部最大被拉伸高度(mm); L 为正方形胶块的边长(mm)。

2 结果

2.1 纤维蛋白原及凝血酶性能指标 纤维蛋白原的凝固活力、纯度、凝血酶效价等相关性能指标均关系到纤维蛋白粘合剂的性能, 纤维蛋白原及凝血酶相关性能指标的检定结果如表 2 所示, 各项性能指标均优于中国药典标准。

表 2 纤维蛋白原及凝血酶性能指标

纤维蛋白原批号	纯度 (%)	凝固活力 (s)	人凝血酶批号	效价 (IU/支)
20150603	82.5±3.3	42±3.2	20140501	1052±64
20150705	81.7±4.1	41±2.3	20150502	1072±37
20150706	82.2±2.2	45±1.5	/	/

表 3 纤维蛋白粘合剂成胶时间及持续时间

纤维蛋白粘合剂	纤维蛋白原批号	人凝血酶批号	成胶时间 (s)	持续时间 (min)
20160101	20150603	20140501	1±0.1	700±12
20160102	20150705	20150501	1±0.1	650±17
20160103	20150706	20150501	1±0.1	700±8
20160104	20150603	20140502	2±0.2	600±19
20160105	20150705	20140502	1±0.1	650±11
20160106	20150706	20140502	1±0.1	650±12
20160201	20150603	20140501	2±0.2	900±24
20160202	20150705	20150501	2±0.2	800±12
20160203	20150706	20150501	3±0.2	850±23
20160204	20150603	20140502	3±0.3	800±18
20160205	20150705	20140502	2±0.1	850±20
20160206	20150706	20140502	4±0.2	850±16

2.2 FS 成胶速度及持续时间 由表 3 结果可见, 使用注射用水溶解纤维蛋白原的试验中, 本公司自制的 6 个批次纤维蛋白粘合剂制品的成胶时间均在(2±0.2) s 以内, 具有较快的成胶速度; 凝胶在 37℃ 条件下的持续时间在(600±19-700±12) min 范围内, 其中 20160101 和 20160103 这 2 个批次的持续时间最长, 达到了(700±12) min。相较注射用水溶解试验组, 使用牛抑肽酶试液溶解纤维蛋白原的试验组成胶速度有所降低, 平均在(3±0.3) s 左右凝固; 而凝胶的持续时间有所延长。

2.3 FS 抗张强度 由表 4 结果可见, 本公司自制的 6 个批次纤维蛋白粘合剂制品粘合小鼠皮肤 5 min 时的抗张强度差异较大, 其中抗张强度最佳的 20160103 批次制品, 其抗张强度可达(80±2.6) g/cm², 抗张强度最差的是 20160102 批次制品, 抗张强度为(40±1.1) g/cm²; 而粘合小鼠皮肤 40 min 后的抗张强度普遍较低, 仅为(10±0.4g-20±3.7) g, 这可能是由于时间延长后小鼠皮肤分泌组织液较多, 对纤维蛋白粘合剂的粘合效果产生了不利影响^[12]。

表 4 纤维蛋白粘合剂抗张强度

纤维蛋白粘合剂	纤维蛋白原批号	人凝血酶批号	抗张强度 (5 min, g/cm ²)	抗张强度 (40 min, g/cm ²)
20160101	20150603	20140501	60±1.3	20±0.5
20160102	20150705	20150501	70±1.7	10±0.7
20160103	20150706	20150501	80±2.6	20±1.1
20160104	20150603	20140502	40±1.1	10±0.4
20160105	20150705	20140502	50±0.9	20±3.7
20160106	20150706	20140502	45±1.5	10±0.3

2.4 FS 弹力测定 不同批次的纤维蛋白粘合剂弹力测定结果如表 5 所示; 本公司自制的 6 个批次纤维蛋白粘合剂制

品的平均弹力拉伸高度在(6.4±0.1-8.9±0.1) mm 之间,单位面积拉伸高度在(6.4±0.1-7.4±0.1) mm 之间,具有较好的弹性指数;其中 20160102 和 20160106 这 2 个批次的单位面积弹力拉伸高度最高,达到了(7.4±0.1) mm。

表 5 纤维蛋白粘合剂弹力测定(mm)

纤维蛋白 粘合剂	胶块 边长	拉伸高度 (平行 1)	拉伸高度 (平行 2)	拉伸高度 (平均)	单位面积 拉伸高度
20160101	12	7.1	6.9	7.0±0.1	4.5±0.1
20160102	10	7.9	6.9	7.4±0.5	7.4±0.5
20160103	11	8.0	8.9	8.5±0.5	6.9±0.5
20160104	12	7.8	8.1	7.9±0.2	5.5±0.2
20160105	10	6.4	6.5	6.4±0.1	6.4±0.1
20160106	11	8.9	9.0	8.9±0.1	7.4±0.1

3 结论

2000 年以来国外上市的生物胶制品已达数种,如 Beriplast P[®]; Hemaseel[®]; Biocol[®] 等。本文利用 cohn 组分 I 和组分 III 为原料,采用乙醇沉淀,离子交换层析等分离纯化方法和 S/D 法,干热法,纳滤法等多重病毒灭活工艺,开发生产了 6 批人纤维蛋白粘合剂产品。并对不加抑肽酶与加用抑肽酶时的成胶速度、持续时间、弹力及抗张强度等凝胶性能指标进行了研究。

钱庆达等^[13]报道:纤维蛋白原浓度<20 mg/mL 时,凝胶块有弹性,但易碎,撕裂强度差;>40 mg/mL 时,胶块质地较硬,弹性大。凝血酶浓度为 100 U/mL 时,凝固时间接近 60 s,500 U/mL 时,凝固时间 10 s 左右。而陈安清^[14]等在纤维蛋白胶用于心血管外科手术的实验中发现所用纤维蛋白胶凝固止血时间为(14.67±6.18) s,显著优于对照组。本试验中对不加抑肽酶与加用抑肽酶时纤维蛋白粘合剂的成胶速度、持续时间的研究发现:试验所用 6 个批次纤维蛋白粘合剂制品的成胶时间均在(2±0.2) s 以内,具有较快的成胶速度;凝胶在 37 ℃ 条件下的持续时间在[(600±19)-(700±12)] min 范围内。相较注射用水溶解试验组,使用牛抑肽酶试液溶解纤维蛋白原的试验组成胶速度有所降低,平均在 3 s 左右凝固;而凝胶的持续时间有所延长。在对人纤维蛋白粘合剂进行弹力拉伸高度及抗张强度的研究方面,成都生物制品研究所李征等^[15-16]报道:从混合人血浆中制备的纤维蛋白胶,其中含有高含量的纤维蛋白原、因子 X、纤维结合蛋白等,平均张力可达(135.6±23.6) g/cm²。而本次粘合小鼠皮肤试验中,我公司不同批次纤维蛋白粘合剂的抗张强度差异较大,最佳抗张强度为(80±2.6) g/cm²,抗张强度有所不足,后期可进一步改进提升;6 个批次纤维蛋白粘合剂制品的单位面积拉伸高度在(6.4±0.1-7.4±0.1) mm 之间,具有较好的弹性指数。

通过本公司的血浆复合利用技术路线开发的人纤维蛋白粘合剂,各项技术指标达到较高水平,具有高强度、高弹力、成胶速度快,持续时间久的凝胶性能,提供了一种理想的新型天然生物止血材料,也可实现血浆资源的最大化利用,满足各类人群的需要。

参考文献

- [1] 吴广球,刘赴平,刘仁强,等.自体纤维蛋白胶的研制.中国输血杂志,1998,11(4):189-191.
- [2] Reiss RF. Autologous fibrin glue production and clinical use. Transfusion, 1996, 10 (2): 185-189.
- [3] Kipshidze N, Ferguson JJ, Keelan MH. Endoluminal reconstruction of the arterial wall with endothelial cell glue matrix reduces restenosis in an atherosclerotic rabbit. Am Coll Cardiol, 2000, 36 (1): 1396-1403.
- [4] 卢俊民.自体纤维蛋白胶应用于溃疡病急性穿孔.右江民族医学院学报, 2001, 21(1): 39-40.
- [5] Jubran M, Widenfalk J. Repair of peripheral nerve transections with fibrin sealant containing neurotrophic factors. Exp Neurol, 2003, 181 (13): 204-212.
- [6] 罗洁,王凤山.医用软组织粘合剂的研究进展及临床应用现状.药物生物技术, 2014, 21(3): 274-278
- [7] 堵疾.纤维蛋白胶成胶 37℃ 维持时间的实验.包头医学院学报, 2002, 18(10): 7-10.
- [8] Bergels. Uber wirkungen des fibrins. Dtsch Wochenschr. 1909, 35 (15): 633-635.
- [9] 刘红,杨超,陈国庆,等.纤维蛋白胶不同复合方式对牙囊细胞增殖活性的影响.华西口腔医学杂志, 2015(02): 135-140.
- [10] 刘赴平,刘景春,莫晓燕.乙醇沉淀法快速制备纤维蛋白胶.中国输血杂志, 2003 16(4): 273-274.
- [11] 张力,李奇,唐银丽.增强组织工程支架-纤维蛋白胶稳定的初步研究.第二军医大学学报, 2000, 21(7): 673-676.
- [12] Alving BM. Fibrin sealant; summary of a conference on characteristics and clinical uses. Transfusion, 1995, 35(9): 783-790.
- [13] 钱庆达,汤漪凡,李云芬.纤维蛋白胶的实验研究及临床应用.生物医学工程与临床, 1998, 2(1): 33-38.
- [14] 陈安清,王哲,王春生,等.冻干纤维蛋白胶在心血管外科手术中的应用.药物与临床, 2005, 23(6): 348-350.
- [15] 李建,赵家宏.新型外用生物止血剂—纤维蛋白胶.消化外科, 2003, 2(1): 72-74.
- [16] 夏占强,张华,易喻,等.纤维蛋白粘合剂作为抗肿瘤等药物缓释载体的研究进展.肿瘤药理学, 2012(4): 253-256.

(2016-12-16 收稿, 2017-05-20 修回)

本文编辑:夏玲

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www. cjbt. cn

bloo. cbpt. cnki. net

· 论著 ·

羧甲基壳聚糖-血小板复合材料在兔耳动脉出血模型中止血作用的实验研究

张卫^{1,2} 单桂秋^{1,2Δ} 黎诚耀¹ 程颺³ 林放² 施琳颖² 王玲² 杨域^{1,3}

(1.南方医科大学,广东 广州 510515;2.广州军区广州总医院 输血科;3.广州军区广州总医院 整形外科)

摘要:目的 探讨可溶性羧甲基壳聚糖-浓缩血小板复合止血材料在新西兰白兔耳动脉出血模型的止血效果。**方法** 将 32 只新西兰白兔随机分为 4 组:可溶性羧甲基壳聚糖/血小板复合止血材料组(CC/PRP)、羧甲基壳聚糖组(CC)、冻干血小板组(FDP)及空白对照组(BC),8 只/组,建立耳动脉出血模型,并将对应的止血材料敷于新西兰白兔耳部出血创面,观察各组材料的止血时间和出血量。**结果** 对于建立的耳动脉出血模型,各组材料均可完成止血。CC/PRP 组、CC 组及 FDP 组的止血时间和出血量均明显少于 BC 组,差异有统计学意义($P<0.05$);而 CC 组与 FDP 组间止血时间及失血量差异显著($P<0.05$);与单独使用 CC 或 FDP 相比,CC/PRP 组止血时间显著性缩短,出血量明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 羧甲基壳聚糖和 PRP 联合使用对新西兰白兔耳动脉出血具有更加显著的止血效果。

关键词:羧甲基壳聚糖;止血材料;冻干血小板

中图分类号:R977.8 R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0504-04

Hemostatic effects of absorbable carboxymethyl chitosan composite biomaterials associated with platelet rich plasma on the artery wound in rabbits ZHANG Wei^{1,2}, SHAN Guiqiu^{1,2}, LI Chengyao¹, CHENG Biao³, LIN Fang², SHI Linying², WANG Lin², YANG Yu^{1,2}. 1. Southern Medical University, Guangzhou 510010, China; 2. Department of Blood Transfusion, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command. 3. Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command. Corresponding author: SHAN Guiqiu.

Abstract: Objective To study the hemostatic effect of absorbable carboxy-methyl chitosan composite biomaterials associated with platelet rich plasma (CC/PRP) on an artery wound by means of New Zealand rabbit models. **Methods** Traumatic artery bleeding models were established in 32 rabbits. The rabbits were divided into 4 groups randomly: one group using carboxymethyl chitosan/concentrated platelets (group CC/PRP); one group using carboxymethyl chitosan (group CC); one group using freeze-dried platelets (group FDP) and one blank control group (group BC). Every group included 8 rabbits with auricular artery wound. The hemostatic time and the blood loss on the wounds were observed. **Results** In all the groups, hemostasis was achieved. In groups CC/PRP, CC and PRP, hemostasis was obtained more rapidly and there was less blood loss than that in group BC($P<0.05$); There were significant differences in the hemostatic ability between group CC and FDP($P<0.05$). Compared with CC and FDP used alone during hemostasis, there was less blood loss and bleeding time in synergistic actions of these ($P<0.05$). **Conclusion** The synergistic actions of CC and PRP possess a better hemostatic effect on wounds with induced artery bleeding.

Key words: carboxymethyl chitosan; hemostatic biomaterials; FDP

创伤失血是导致患者死亡的首要原因之一^[1-3],可造成创面感染、休克、体温过低、凝血障碍、酸中毒、败血症甚至多器官衰竭等严重后果^[4,5]。如何快速有效的止血也成为当今医学界研究的重点。随着生物医学工程的发展,各种生物止血材料的研究和应用越来越引起人们的关注,临床上常用的局部生物止血材料主要有胶原蛋白类、氧化纤维素类、甲壳素类及纤维蛋白胶等。这些传统止血材料各有优势,同时也有其局限性,如胶原蛋白材料来自猪皮或牛皮,纤维蛋白胶原料来自猪或牛的血浆,存在种属差异,用于人体止血易导

致变态反应;氧化纤维素类敷料表面粗糙,附着性差,易引起伤口感染;甲壳素生物降解缓慢,组织相容性差;壳聚糖敷料因用酸作溶剂,有很强的酸性刺激气味,同时有一定的神经毒性,故这些类别的止血敷料应用受到一定限制^[6-13]。因此,研究 1 种具有良好生物相容性的新型高效的止血材料显得更有实用价值。复合生物功能材料在临床的应用是现今研究的热点之一。本实验采用水溶性的羧甲基壳聚糖(carboxymethyl chitosan, CC)联合富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)做复合材料,具有更好止血功能的同时,还有促进创面、减少创面感染的功效。采用真空冷冻干燥技术,制备 1 种新型羧甲基壳聚糖-血小板复合功能止血材料,评估其对外伤性动脉出血的止血效果,为其临床应用提供实验依据。

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 05. 019
Δ通信作者:单桂秋(1963. 10-),男,主任技师,主要从事血小板拓展应用研究,电话:020-88653445,Email:rabbit_2007@126.com

1 材料与与方法

1.1 试剂与仪器 海藻糖(广州晶欣,批号 20100719), PGE1(美国 Sigma,批号 P7527), NaCl、KCl、CaCl₂、MgSO₄、NaHCO₃、柠檬酸、柠檬酸钠、乙酸钠、葡萄糖(广州化学试剂厂)、羧甲基壳聚糖(青岛博益特)、葡萄糖酸钙、3%戊巴比妥钠(本院动物实验中心提供),无菌手术包,秒表,无菌棉球等。大容量冷冻离心机(美国 thermo)、T-ACE II 全自动血液成分分离机(日本 Terumo)、BC-3000 全自动血细胞分析仪(深圳迈瑞)、SH2B 水浴两用振荡器(上海悦丰)、DH-101S 磁力搅拌器(巩义予华)、真空冷冻干燥机(CHRIST Alpha-4 LSC Plus)、电子天平、S-3700N 型扫描电子显微镜(日本 HITACHI)、离子溅射仪 E-1010(Ion sputter E-1010)。

1.2 PRP 来源、制备 来自本院血液中心 2016 年 7~9 月采集的健康自愿无偿献血者 36 人份,均按我国献血者血液检测标准检测合格。献血前 3 d 禁服用阿司匹林及其类似药物。全血采集后于 4~6 h 内利用全自动血细胞分离机、白膜法分离制备 PRP。

1.3 血小板冻干前预处理 取 6 袋 PRP 进行汇集,1 500 g 离心 10 min,去上清,再用等体积的预处理液重悬血小板,37℃水浴振荡 4 h,使血小板保持悬浮状态。水浴后,将血小板悬液以 1 500 g 离心 15 min,弃预处理液,再用预先配制好的冻干保护液重悬血小板,调整血小板浓度至 $1\ 500 \times 10^9/L$ 左右。

1.4 羧甲基壳聚糖/血小板复合品的制备、冻干及保存 将羧甲基壳聚糖用除菌水彻底溶解,混匀,浓度为 2%,并将溶液的 pH 调整为 7~8。将羧甲基壳聚糖溶液与 PRP 按 1:1 体积混合,加入无菌的 24 孔培养板中,1 mL/孔。于 -80℃ 冰箱冷冻过夜,然后转移至冷阱温度为 -54℃、真空度为 0.996 mbar 的冷冻干燥机中冻干 36 h。干燥完成后,取出冻干品,用封口膜封口,常温保存。

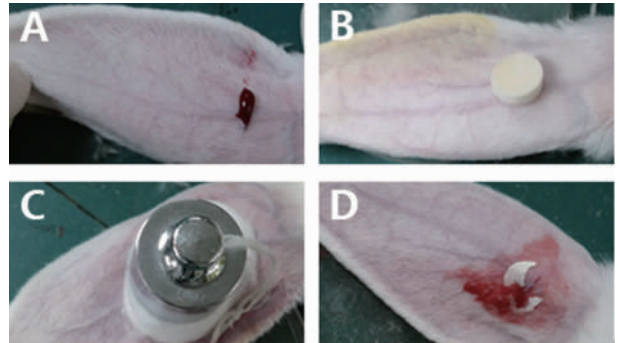
1.5 扫描电镜观察其结构 将冻干品用双面导电胶布固定,先用离子溅射仪对其进行喷金处理,然后用扫描电子显微镜在 5 kv 的加速电压下观察冻干品的表面结构。

1.6 实验动物 新西兰白兔 32 只,普通级,平均体重 2.5 Kg,雄性,由广东省实验动物中心提供,实验动物许可证号:SCXK(粤)2016-00135390,合格证号:NO44007600003465,设施合格证号:SYXK(粤)2014-0100。实验动物分组:将 32 只新西兰白兔单笼适应性饲养 1 周后。随机分为 4 组,CC/PRP 为实验组、CC 为对照 1 组、FDP 为对照 2 组及 BC 为空白对照组,8 只/组。

1.7 动物出血实验模型制备 新西兰白兔实验前禁食 8 h,自由饮水,用 3%戊巴比妥钠经耳缘静脉麻醉注射,剂量为 1 mL/kg。麻醉后固定于手术台上,用碘伏消毒兔背侧面中央区,用手术刀横断耳动脉,但不切透耳朵,建立耳动脉出血模型^[14]。造模、止血过程见图 1。

1.8 出血量观察 实验前预先精确称量无菌医用脱脂棉球和冻干品的干重。造模后立即于各组创面分别敷相同质量的 CC/PRP、CC、FDP 粉后,盖上无菌棉球,BC 照组直接敷盖无菌棉球,用 100 g 砝码加压,并开始计时,观察 10 min。观

察时间点分别为 30 s、20 s、10 s、5 s,之后每隔 5 s 观察 1 次创面出血情况,并记录止血时间。止血后精确称量各组棉球和冻干品的湿重,计算出血量。出血量 = 止血后湿棉球重量 - 止血前干棉球重量。以移去敷料及砝码后 3 min 不再出血为止血成功^[15]。



A:耳动脉出血创面;B:给药;C:给药后加压止血;
D:成功止血后创面

图 1 新西兰白兔耳动脉出血模型止血实验操作过程

1.9 统计学处理 本实验中所有数据均采用 $\bar{X} \pm S$ 表示,数据处理用 SPSS 20.0 软件,对 4 组均数比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),4 组均数之间两两比较采用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 全血及 PRP 中血细胞计数 全血结果按 36 袋测量结果统计,PRP 按汇集后 6 袋的测量结果统计。PRP 中血小板浓度和白细胞、红细胞的残留浓度如表 1 所示。制备的 PRP 为淡黄色,实验用 PRP 中血小板浓缩倍数为全血中的 4~7 倍,与国内外文献所描述的一致^[14]。

表 1 全血及 PRP 的计数分析

	Plt* ($\times 10^6/mL$)	WBC ($\times 10^6/mL$)	RBC ($\times 10^9/mL$)	血小板 浓缩倍数
全血组	272.00 \pm 30.20	7.76 \pm 0.96	4.93 \pm 0.25	
PRP 组	1537.33 \pm 30.35	0.46 \pm 0.153	0.07 \pm 0.03	4~7

注:Plt:血小板;WBC:白细胞;RBC:红细胞;PRP:富血小板血浆;*与 PRP 比较, $t = -50.781, P < 0.05$

2.2 CC/PRP 的形态学结构观察结果 肉眼可见冻干后的羧甲基壳聚糖/PRP 复合材料外观为规则圆柱状,表面均匀、光滑、平整、淡黄色、质软、有一定弹性。扫描电镜结构显示 CC/PRP 呈多孔样结构,可见血小板负载到羧甲基壳聚糖多孔支架材料上(图 2)。



A:冻干前羧甲基壳聚糖与 PRP 的混悬液;B:羧甲基壳聚糖/PRP 冻干后产品;C:冻干后产品的扫描电镜结构图;箭头代表复合支架上负载的血小板

图 2 羧甲基壳聚糖/PRP 复合材料的形态结构

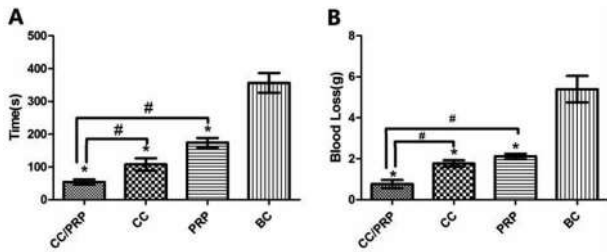
2.3 出血量和止血观察结果 如图 3 所示,CC/PRP 组、CC

组、PRP 组的止血时间和出血量分别与 BC 组相比,其差异均具有统计学意义 ($q = 26.80, 22.04, 16.16; 22.75, 17.82, 16.12, P < 0.05$)。CC/PRP 组的止血时间和出血量分别与 CC 组、PRP 组相比,其差异均具有统计学意义 ($q = 4.756, 10.64; 4.926, 6.628, P < 0.05$)。统计分析结果显示羧甲基壳聚糖/浓缩血小板复合材料比单独使用羧甲基壳聚糖、冻干血小板在止血方面具有显著优势。

表 2 4 组新西兰白兔耳动脉出血量和止血时间

	n	出血量(g)	止血时间(s)
CC/PRP 组	16	0.76±0.1976*	54.0±7.9*
CC 组	16	1.77±0.1537*#	107.7±18.9*#
FDP 组	16	2.11±0.1320*#	174.0±144.4*#
BC 组	16	5.40±0.6463	356.3±30.0

注:4 组间止血时间比较: $F = 136.3, P < 0.01$; 4 组间出血量比较: $F = 97.17, P < 0.001$; * 表示前 3 组与空白对照组的两两比较, $P < 0.05$; # 表示前 3 组之间的两两比较, $P < 0.05$



A: 止血时间统计图; B: 出血量统计图; * 表示前 3 组与空白对照组的两两比较, $P < 0.05$; # 表示前 3 组之间的两两比较, $P < 0.05$

图 3 4 组新西兰白兔耳动脉出血止血时间和出血量比较

3 讨论

Wolkers 等^[15]于 2001 年首先提出冻干血小板的概念,并证明冻干血小板与新鲜血小板具有类似的功能。Davidow 等^[16]发现将冻干血小板用于血小板减少症预防出血是可行的。Hernandez 等^[17]研究证明 FDP 仍保持了新鲜血小板的部分粘附功能。Fischer 等^[18]证明 FDP 在凝血过程中不仅仅是为凝血酶原的激活提供磷脂表面,同时通过磷脂酰肌醇-3 激酶信号转导途径在血栓形成的过程中起到了正反馈放大作用,促进止血。本课题组前期工作血小板冻干粉运用于 SD 大鼠股静脉出血及肝出血模型,结果显示 FDP 具有稍优于云南白药的止血效果^[19]。

羧甲基壳聚糖是壳聚糖经羧甲基化后的一类重要的新型衍生物,除壳聚糖的一般性质外,还具有良好的吸水溶胀性和更快的生物降解性^[20-21],应用领域更加广泛。其通过促进红细胞聚集^[22-23]、与血小板发挥协同作用^[24]、降低纤维蛋白溶解^[25]等途径发挥止血作用。吴伟萍等^[6]利用大鼠创伤出血模型也证明了羧甲基壳聚糖的止血效果。

本研究将羧甲基壳聚糖和浓缩血小板混合,经冷冻干燥工艺制备出理想的止血材料,建立统一的新西兰白兔耳动脉出血模型,并对 CC/PRP、CC 及 FDP 在不易缝合的外伤小动脉出血中的止血作用进行分析比较。对材料在止血前后精确称重,则可定量计算其在创面的出血量,同时为了保证结果的准确性,我们在实验过程中还将创面周围黏附的材料取

下,一并称重。造模方法参照崔永红等^[12]用针头刺破耳动脉制造外伤出血模型,并对其步骤进行了改进,是因为针刺出血量较少,各组材料均能短时间内止血,故与之不同的是我们采用手术刀横断耳动脉的方法来建立耳动脉出血的模型。实验结果显示,单纯羧甲基壳聚糖和单纯冻干血小板均具有止血效果,且两者联合制备的羧甲基壳聚糖/浓缩血小板复合材料的止血效果更好,差异具有统计学意义。故可以看出对新西兰白兔耳动脉出血模型,CC 和 FDP 联合使用的止血效果明显优于两者单独使用的止血效果,同时 CC 具有优于 FDP 的止血作用。本实验研究表明,CC/PRP 具有明显优于单纯 CC、PRP 的止血效果。

羧甲基壳聚糖与浓缩血小板均是有效的止血促凝物质。二者联合用于止血时具有显著的优势,组织相容性好,具有一定的协同作用、形成的凝胶易降解、吸收,无毒副作用,没有血栓形成风险^[26-27]。其中羧甲基壳聚糖成分可促进血小板的粘附聚集及释放,同时复水化的冻干血小板激活后对血栓形成发挥正反馈放大作用,从而增强止血效果,使创面流出的血液快速凝固,缩短止血时间,减少失血量。因此,羧甲基壳聚糖与浓缩血小板联合使用于外伤动脉出血比两者单独使用的止血效果更佳。此外,CC/PRP 复合材料体积小,运输方便,可室温长期保存,并且在保存期内保持内部成分稳定。因此,CC/PRP 复合材料作为止血敷料用于临床具有广阔前景。

参考文献

- [1] Champion HR, Bellamy RF, Roberts CP, et al. A profile of combat injury. J Trauma, 2003, 54(5 Suppl):S13-19.
- [2] McManus JG, Eastridge BJ, Wade CE, et al. Hemorrhage control research on today's battle field: lessons applied. J Trauma, 2007, 62(6 Suppl):S14.
- [3] Sauaia A, Moore FA, Moore EE, et al. Epidemiology of trauma deaths: a re assessment. J Trauma, 1995, 38(2):185-193.
- [4] Kauvar DS, Lefering R, Wade CE. Impact of hemorrhage on trauma outcome: an overview of epidemiology, clinical presentations, and therapeutic considerations. J Trauma, 2006, 60(6 Suppl):S3-11.
- [5] Malone DL, Dunne J, Tracy JK, et al. Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma. J Trauma, 2003, 54(5):898-905.
- [6] 吴伟萍, 彭宏宏, 韩宝三, 等. 羧甲基壳聚糖在大鼠创伤出血模型的止血效果的观察. J Surg Concepts Pract, 2010, 15(3):240-244.
- [7] Zhong Z, Li P, Xing R, et al. Antimicrobial activity of hydroxyl-benzenesul fonalides derivatives of chitosan, chitosan sulfates and carboxymethyl chitosan. Int J Biol Macrom, 2009, 45(2):163-168.
- [8] Acheson EM, Kheirabadi BS, Deguzman R, et al. Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine. J Trauma, 2005, 59(4):865-874.
- [9] Kheirabadi BS, Acheson EM, Deguzman R, et al. Hemostatic efficacy of two advanced dressings in an aortic hemorrhage model in Swine. J Trauma, 2005, 59(1):25-34.

- [10] Wang XH, Yan YN, Zhang RJ. A Comparison of chitosan and collagen sponges as hemostatic dressings. *J Bioac Compat Polym*, 2006, 21(1):39-54.
- [11] Jackson MR, Taher MM, Burge JR, et al. Hemostatic efficacy of a fibrin sealant dressing in an animal model of kidney injury. *J Trauma*, 1998, 45(4):662-665.
- [12] Spotnitz WD. Fibrin sealant; the only approved hemostat, sealant, and adhesive a laboratory and clinical perspective. *J ISRN Surg*, 2014, 15(3):148-151.
- [13] 孟志云, 窦桂芳, 刘敏霞, 等. 纤维蛋白胶干粉对大鼠出血模型的止血作用. *军事医学科学院院刊*, 2002, 26(1):51-53.
- [14] Giusti I, Rughetti A, D'Ascenzo S, et al. Identification of an optimal concentration of platelet gel for promoting angiogenesis in human endothelial cells. *J Transfusion*, 2009, 49(4):771-778.
- [15] Wolkers WF, Walker NG, Tablin F, et al. Human platelets loaded with trehalose survive freeze-drying. *J Cryobiology*, 2001, 42(2):79-87.
- [16] Davidow EB, Brainard B, Martin LG, et al. Use of fresh platelet concentrate or lyophilized platelets in thrombocytopenic dogs with clinical signs of hemorrhage; a preliminary trial in 37 dogs. *J Vet Emerg Crit Care*, 2012, 22(1):116-125.
- [17] Alemany M, Hernandez MR, Bozzo J, et al. In vitro evaluation of the hemostatic effectiveness of non viable platelet preparations: studies with frozen-thawed, sonicated or lyophilized platelets. *J Vox Sang*, 1997, 73(1):36-42.
- [18] Fischer TH, Merricks EP, Russell KE, et al. Intracellular function in rehydrated lyophilized platelets. *J British J Haematol*, 2000, 111(1):167-174.
- [19] 叶露露, 单桂秋, 马静, 等. 冻干血小板运用于 SD 大鼠出血模型止血效果的初步研究. *中国输血杂志*. 2014, 27(7):699-702.
- [20] Wang LC, Chen XG, Xu QC, et al. Plasma protein adsorption pattern and tissue-implant reaction of poly(vinylalcohol)/carboxymethyl-chitosan blend films. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2008, 19(1):113-129.
- [21] 周贵, 奚廷斐, 郑裕东, 等. 羧甲基壳聚糖膜的生物学评价与降解模型研究. *透析与人工器官*, 2008, 19(4):6-9.
- [22] Ray SD, Potential aspects of chitosan as pharmaceutical excipien. *J Acta PolPharm*, 2011, 68(5):619-622.
- [23] Wang QZ, Chen XG, Li ZX, et al. Preparation and blood coagulation evaluation of chitosan microspheres. *J Mater sci Mater Med*, 2008, 19(3):1371-1377.
- [24] Carraway JW, Kent D, Young K, et al. Comparison of a new mineral based hemostatic agent to a commercially available granular zeolite agent for hemostasis in a swine model of lethal extremity arterial haemorrhage. *J Resuscitation*, 2008, 78(2):230-235.
- [25] Fukasawa M, Abe H, Masaoka T, et al. The hemostatic effect of deacetylated chitin membrane on peritoneal injury in rabbit model. *J Surg Today*, 1992, 22(4):333-338.
- [26] Arnold P, Djerassi I, Farber S, et al. The preparation and clinical administration of lyophilized platelet material to children with acute leukemia and aplastic anemia. *J Pediatr*, 1956, 49(5):517-522.
- [27] Bode AP, Read MS, Reddick RL. Activation and adherence of lyophilized human platelets on canine vessel strips in the Baumgartner perfusion chamber. *J Lab Clin Med*, 1999, 133(2):200-211.

(2016-11-04 收稿, 2017-05-19 修回)

本文编辑:夏玲

严 正 声 明

近期不断地有各地编委老师, 投稿作者反应, 有冒《中国输血杂志》之名的“钓鱼网站”以各种方式非法收取所谓“定稿费”、“录用证明费”、“发表费”等各种明目的费用, 对本刊长期以来形成的良好声誉造成了十分恶劣的影响。

在此郑重声明: 本刊正式的收费项目只有审稿费(60元/篇), 版面费, 杂志发行费(16元/本)3种。除此之外的任何费用, 均与《中国输血杂志》编辑部无关! 此外, 本部未开通任何形式的网上支付方式, 如广大同仁在投稿, 发稿, 购买本刊印刷品过程中, 发现任何问题, 请及时与本刊编辑部电话联系确认, 不要轻易转账付款, 以杜绝此类“钓鱼牟利”事件的发生, 维护广大作者, 读者权益和编辑部声誉!

特此声明, 谢谢大家!

《中国输血杂志》编辑部

血浆输注治疗非甾体抗炎药相关性消化性溃疡 并出血的临床转归回顾性研究*

黄雯 乐爱平[△](南昌大学第一附属医院 输血科,江西 南昌 330006)

摘要:目的 探讨血浆输注对非甾体抗炎药(NSAIDs)相关性消化性溃疡并出血的临床转归影响。**方法** 收集本院 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血病例 97 例,根据是否曾输注血浆分为实验组:56 例输注红细胞和血浆;对照组:41 例仅输注红细胞;分析 2 组病例的一般临床资料、输血量、输血后疗效、临床转归相关指标。**结果** 实验组与对照组比较:1)2 组的性别、年龄、休克发生率、溃疡大小、溃疡 Forrest 分级、合并症、输血后 Hb 等无明显差异($P>0.05$);2)PT、APTT(s)在输血前分别为 20.30 ± 2.65 vs 19.76 ± 2.07 ($P>0.05$)、 49.70 ± 2.93 vs 46.93 ± 5.10 ($P>0.05$),在输血后分别为 13.12 ± 1.68 vs 18.13 ± 1.80 ($P<0.05$)、 31.67 ± 5.06 vs 40.41 ± 2.64 ($P<0.05$);实验组输血前、后凝血功能差异明显($P<0.05$),而对照组变化基数($P>0.05$);3)平均红细胞输注量(mL)分别为 420 ± 63.75 vs 673 ± 55.62 ($P<0.05$),好转率分别为 91.0% ($51/56$) vs 73.2% ($30/41$) ($P<0.05$),平均住院时间(d)分别为 6.37 ± 2.15 vs 11.21 ± 3.07 ($P<0.05$),再出血率分别为 5.4% vs 19.5% ($P<0.05$)。**结论** 早期输注血浆既可及时纠正 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者凝血功能,又能有效减少患者红细胞输注用量,缩短患者平均住院时间,有助于更好的临床转归预后。

关键词: 消化性溃疡;非甾体抗炎药;出血;血浆输注;临床转归

中图分类号: R457.1⁺4 R573.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0508-03

A retrospective study on the clinical outcomes of plasma infusion in patients with nonsteroid anti-inflammatory drugs induced peptic ulcer bleeding HUANG Wen, LE Aiping. Department of Blood Transfusion, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China. Corresponding author: LE Aiping.

Abstract: Objective To investigate the prognosis of clinical outcome of plasma infusion in patients with nonsteroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) induced peptic ulcer bleeding. **Methods** A retrospective analysis was conducted on 97 patients with NSAIDs and their incidences of peptic ulcer and bleeding in our hospital. The experimental group was infused with (transfusion of red blood cells and plasma, $n=56$) and the control group were infused with red blood cells only, $n=41$. These two groups of patients were analyzed based on their clinical characteristics, blood transfusion volume, curative effect after transfusion, and clinical outcome prognosis related indicators. **Results** When comparing research group and control group: 1) the shock rate, peptic ulcer size, Forrest classification, complication, and hemoglobin levels after transfusion of two groups had no statistical significant difference ($P>0.05$); 2) Before transfusion, PT and APTT were respectively 20.30 ± 2.65 vs 19.76 ± 2.07 ($P>0.05$), 49.70 ± 2.93 vs 46.93 ± 5.10 ($P>0.05$), after transfusion, PT and APTT were respectively 13.12 ± 1.68 vs 18.13 ± 1.80 ($P<0.05$), 31.67 ± 5.06 vs 40.41 ± 2.64 ($P<0.05$). There was statistic significant difference in coagulation function before and after blood transfusion in the research group ($P<0.05$), while there was no difference in the control group ($P>0.05$); 3) The average infusion dosage of red blood cells respectively were 420 ± 63.75 mL vs 673 ± 55.62 ($P<0.05$). The improvement rates were 91.0% ($51/56$) vs 73.2% ($30/41$) ($P<0.05$). The average hospitalization days were 6.37 ± 2.15 vs 11.21 ± 3.07 ($P<0.05$), and the rebleeding rates were 5.4% vs 19.5% ($P<0.05$). **Conclusion** Early infusion of plasma can correct coagulation disorders timely in patients with NSAIDs induced peptic ulcer bleeding, and then reduce the infusion dosage of red blood cells effectively, decrease the time of hospitalization, and achieve a better clinical outcome and prognosis in patients.

Key words: peptic ulcer; nonsteroid anti-inflammatory drugs; bleeding; plasma infusion; clinical outcome

消化性溃疡并出血是消化科常见的急诊疾病之一。非甾体抗炎药(nonsteroid anti-inflammatory drug, NSAIDs)是一类具有解热、镇痛、抗炎、抗风湿、降低血小板黏附力等作用

的药物,但其最常见的 1 个副作用便是引起服药者消化性溃疡并出血,治疗不当易导致溃疡复发、再出血、穿孔甚至危及生命^[1]。近年来,由于 NSAIDs 的应用日益普遍,消化性溃疡并出血发病率呈明显上升趋势^[2];因此如何有效治疗 NSAIDs 引发的消化性溃疡并出血,改善预后、减少复发正成为临床关注的焦点,而合理输注血液成分对提高消化性溃疡并出血患者的治愈率、改善预后有重要的临床意义^[3]。我们

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.020

* 基金项目:江西省科技重大项目(20144BBG70001);[△]通信作者:乐爱平(1971.11-),男,医学博士,主任技师,硕士研究生导师,从事临床输血研究,电话:0791-88692772,Email:leaping@126.com.

对本院消化科收治的 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血的住院病例作了回顾性研究,旨在了解红细胞联合血浆输注对该病临床转归预后的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 从本院消化科 2013 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日住院治疗的消化性溃疡并出血患者中,按照 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血治疗病例的纳入/排除标准——患者发病前<1 周服用 NSAIDs、有呕血或黑便等临床表现,且经胃镜检查确诊为消化性溃疡并出血,住院期间停用 NSAIDs 换以抑酸、止血等药物治疗为主且均未采取内镜下止血术,血小板计数(Plt)无明显异常,输血治疗是红细胞或联合新鲜冰冻血浆(FFP)输注,且未发生输血反应;排除合并恶性溃疡等其他可能引起上消化道出血的病例,剔除合并终末期疾病、死亡及放弃治疗的病例^[4]——纳入 97 个病例为研究对象,其中男性 63 例、女性 34 例,年龄 45-85 (64±17.28) 岁;按照输注的血液成分中是否有血浆分为实验组:56 例为红细胞联合血浆输注;对照组:41 例仅输注红细胞。

1.2 输血治疗 根据患者 Hb<60 g/L 或 Hct<0.20 且有缺氧症状,给予红细胞输注,输注量以缓解临床症状,满足患者生理需求为准;根据患者凝血功能 PT 或 APTT>1.5 倍正常值,给予血浆输注,以及患者有急性活动性出血,输注 FFP 补充凝血因子,改善凝血功能^[5]。红细胞制剂均为同种异体去白细胞悬浮红细胞,血浆为 FFP 浆(均由江西省血液中心提供,在有效期内输注)。

1.3 观察指标 1) 主要观察指标:平均红细胞输注量、输血后<24 h 凝血功能、平均住院天数、治疗好转率、再出血率、手术治疗率(好转:患者经治疗后症状改善,上腹部压痛体征消失,生命体征平稳,未解大便或大便转黄,无再次呕血、黑便、血红蛋白进行性下降等出血表现;再出血:患者经治疗出血停止后<1 周出现再发呕血、黑便,Hb 下降>20g/L)。2) 次要观察指标:性别、年龄、休克、溃疡大小与 Forrest 分级^[6]、并发症、输血后 Hb、休克指数(脉率/收缩压)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件处理数据,计量资料以“均数±标准差($\bar{x}\pm s$)或中位数表示,组间比较用 t 检验或 Mann-Whitney U 检验;计数资料比较用 χ^2 检验,当理论频数<5,改用 Fisher 确切概率法。显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果(表 1-3)

3 讨论

NSAIDs 是导致难治性消化性溃疡的主要病因之一^[7],易使患者的病情反复、迁延不愈。据报道服用 NSAIDs 的患者发生胃肠道病变或溃疡出血的概率比未服药者>3 倍^[8]。目前 NSAIDs 引起消化性溃疡并出血的发病机制尚不完全明确,可能与该药减少中枢前列腺素的生成,进而削弱前列腺素控制出血、保护胃粘膜的作用,以及抑制血小板聚集,影响凝血功能等途径密切相关^[9]。而人血浆中含有丰富的凝血因子及血浆蛋白,有助于改善机体凝血功能异常,对于 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者出现的 PT 及 APTT

延长有明显纠正作用,进而减少再出血的风险^[10]。

表 1 97 名 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者临床基本资料

	实验组 (n=56)	对照组 (n=41)	t/χ^2	P
男性(%)	34(60.7)	29(70.7)	1.043	>0.05
女性(%)	22(39.3)	12(29.3)		
休克指数≥1 例数(%)	8(14.3)	5(12.2)	0.089	>0.05
溃疡直径≥3 mm 例数(%)	47(83.9)	32(78.0)	0.541	>0.05
溃疡 Forrest 分级 IIb-III 级例数(%)	49(87.5)	36(87.8)	0.002	>0.05
合并疾病例数(%)	39(69.6)	27(65.8)	0.156	>0.05
心血管疾病例数(%)	21(37.5)	14(34.1)	0.115	>0.05
高代谢疾病例数(%)	16(28.5)	12(29.2)	0.006	>0.05
呼吸系统疾病例数(%)	2(3.5)	1(2.4)	0.101	>0.05
心血管疾病合并高代谢疾病例数(%)	14(25)	10(24.4)	0.005	>0.05
年龄(岁)	64.34±15.50	62.67±16.17	0.129	>0.05
红细胞输注量(mL)	420±63.75	673±55.62	-3.270	<0.05
新鲜冰冻血浆输注量(mL)	343.32±94.23	0		
输血频次(次)	2.0(1.0,2.0)	2.0(2.0,3.0)		>0.05
输血后 Hb(g/L)	73.25±6.65	74.67±5.13	-0.275	>0.05

表 2 2 组 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者输血前后凝血功能变化 ($\bar{x}\pm s$)

	输血前	输血后<24 h	t	P
实验组 PT(s)	20.30±2.65 [#]	13.12±1.68 [*]	1.988	<0.05
实验组 APTT(s)	49.70±2.93 [#]	31.67±5.06 [*]	2.889	<0.05
对照组 PT(s)	19.76±2.07	18.13±1.80	1.460	>0.05
对照组 APTT(s)	46.93±5.10	40.41±2.64	1.700	>0.05

* 与对照组比较, t 值分别为 1.633、2.798, $P<0.05$;# 与对照组比较, t 值分别为 1.388、1.622, $P>0.05$ 。

表 3 2 组 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者输血后临床转归

	实验组(n=56)	对照组(n=41)	t/χ^2	P
平均住院时间(d)	6.37±2.15	11.21±3.07	-3.615	<0.05
治疗好转例数(%)	51(91.0)	30(73.2)	1.701	<0.05
再出血例数(%)	3(5.4)	8(19.5)	0.717	<0.05
手术治疗例数(%)	2(3.6)	3(7.3)	0.679	>0.05

本组 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者输血前 PT、APTT 均出现轻度异常,而输注了红细胞和血浆的患者较单输红细胞的,不但凝血功能明显改善,红细胞输注量少,而且平均住院时间更短,治疗好转率亦更高($P<0.05$) (表 1-3)。提示早期红细胞及时联合血浆输注既能有效改善患者因 NSAIDs 引起的凝血功能异常,又能节约血液资源,改善患者临床预后;而仅靠抑酸、止血等药物治疗及机体自身凝血功能平衡,不利于 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者的临床转归,从患者血液管理角度,应及早纠正患者的凝血功能,以提高输血疗效。通过对是否输注了血浆的 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者一般资料的比较,我们考察了可能影响 NSAIDs 相关性消化性溃疡出血临床转归及预后的其他因素,如年龄、性别、有无休克、溃疡大小、溃疡分级、有无合并症等^[11],显示 2 组病例间均无明显差异($P>0.05$) (表 1),提示输注血浆可能是影响 NSAIDs 相关性消化性溃疡出血预后的独立因素,红细胞联合血浆输注可明显改善该类患者的凝血功能,进而有助于预防再出血的发生,提高好转率,改善临床转归及预后。

综上所述,我们建议对于有凝血功能异常的 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者,一旦具有输血指征,应尽早输注血浆,及时纠正凝血功能异常,改善贫血症状,降低再出血

及失血性休克的风险,以预防病情的加重,这既能减少红细胞的用量,缩短住院时间,节约医疗资源,减轻患者经济负担,又有助于改善患者预后,提高治愈率。但对于 NSAIDs 相关性消化性溃疡并出血患者的血浆输注量及与红细胞输注比例目前尚无统一的标准,临床宜根据患者症状、出血量、溃疡分级、凝血功能等多方面来综合考量。因此,针对该类患者的标准化输血治疗策略值得我们进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Nagata NI, Niikura R, Sekine K, et al. Risk of peptic ulcer bleeding associated with *Helicobacter pylori* infection, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, low-dose aspirin, and antihypertensive drugs: a case-control study. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30(2):292-298.

[2] Tseng CL, Chen YT, Huang CJ, et al. Short-term use of glucocorticoids and risk of peptic ulcer bleeding: a nationwide population-based case-crossover study. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 42(5):599-606.

[3] Laursen SB, Jørgensen HS, Schaffalitzky de Muckadell OB; Danish Society of Gastroenterology and Hepatology. National consensus on management of peptic ulcer bleeding in Denmark 2014. *Dan Med J*. 2014,61(11):B4969.

[4] Ting-Chun Huang and Chia-Long Lee; Diagnosis, Treatment, and

Outcome in Patients with Bleeding Peptic Ulcers and *Helicobacter pylori* Infections. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 658108.

[5] 中华人民共和国卫生部.临床输血技术规范.2000-06-01.

[6] Kim JS1, Park SM1, Kim BW, et al. Endoscopic management of peptic ulcer bleeding. *Clin Endosc*, 2015, 48(2):106-111.

[7] Kim HU. Diagnostic and treatment approaches for refractory peptic ulcers. *Clin Endosc*, 2015, 48(4): 285-290.

[8] Sostres CI, Lanas A, Should prophylactic low-dose aspirin therapy be continued in peptic ulcer bleeding? *Drugs*, 2011, 71(1):1-10.

[9] Kawasaki K1, Kurahara K, Yanai S, et al. Low-dose aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of bleeding in patients with gastroduodenal ulcer. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(4): 1010-1015.

[10] Irsch JL, Pinkoski L, Corash L, et al. INTERCEPT plasma: comparability with conventional fresh-frozen plasma based on coagulation function-an in vitro analysis. *Vox Sang*, 2010, 98(1):47-55.

[11] Kim SB1, Lee SH2, Kim KO, et al. Risk factors associated with rebleeding in patients with high risk peptic ulcer bleeding: focusing on the role of second look endoscopy. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(2): 517-522.

(2016-08-03 收稿,2017-05-19 修回)

本文编辑:蔡辉

• 论 著 •

国产羟乙基淀粉用于 ANH 对老年全膝关节置换术患者肾功能的影响

吴亚¹ 曹爽¹ 郭欣² 白明晨³

(1.河北省中医院检验科,河北 石家庄 050011;2.河北医科大学第二医院 检验科;3.河北省人民医院 检验科)

摘要:目的 探讨国产羟乙基淀粉用于急性等容血液稀释(ANH)对老年全膝关节置换术(TKA)患者肾功能的影响。**方法** 选择 80 例老年 TKA 患者,随机分为分为 I 组和 II 组,每组 40 例。2 组均于麻醉诱导后、手术前采集自体血,然后分别静脉输注等体积的国产羟乙基淀粉 130/0.4(I 组)进口羟乙基淀粉 130/0.4(II 组),自体血于术中或术后输注。记录 2 组围手术期平均动脉压(MAP)、中心静脉压(CVP)、心率(HR)等生命体征指标;检测 2 组术前、自血回输前、术毕时血红蛋白(Hb)、红细胞比容(Hct)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)及术前、术后 1d 及术后 3d 的 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、尿素氮(BUN)及血肌酐(Cr)等肾功能指标。**结果** 1) 2 组患者自血采集后各时间节点 MAP、CVP、HR 与自血采集前比较无显著变化,组间比较差异亦不显著($P>0.05$)。2) 2 组自血回输前、术毕时 Hb、Hct 水平与术前比较均有一定程度下降($P<0.05$),尤其在自血回输前有显著下降,但仍在正常范围内。2 组间各时点 Hb、Hct 水平比较无明显差异($P>0.05$)。2 组自血回输前、术毕时 PT、APTT、TT 等凝血指标与术前比较无明显变化($P>0.05$)。3) 2 组术后 1 d 及术后 3 d 的 BUN、Cr 及 β_2 -MG 水平与术前比较无明显变化($P>0.05$)。2 组各时点 BUN、Cr 及 β_2 -MG 水平比较无显著差异($P>0.05$)。**结论** 国产羟乙基淀粉作为扩容剂应用于 ANH,具有稳定的血浆扩充效果,同时对肾脏功能的影响较小,安全性较高。

关键词:羟乙基淀粉;国产;急性等容血液稀释;全膝关节置换术;肾功能

中图分类号:R457.1 R684 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0510-04

Impact of acute normovolemic hemodilution with domestic hydroxyethyl starch on renal function in elderly patients with total knee arthroplasty WU Ya¹, CAO Shuang¹, GUO Xin², BAI Mingchen³. 1. Clinical Laboratory, Hebei Province Chinese Medicine Hospital, Shijiazhuang 050011, China; 2. Clinical Laboratory, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China; 3. Clinical Laboratory, Hebei Province People's Hospital.

Abstract: Objective To explore the impact of acute

normovolemic hemodilution with domestic hydroxyethyl starch on renal function in elderly patients with total knee arthroplasty. **Methods** 80 cases of elderly patients with TKA were randomly divided into I group and II group, 40 cases in each group. Autologous blood was collected after anesthesia induction and before operation, then were infused with domestic hydroxyethyl starch (I group) and imported hydroxyethyl starch (II group) respectively in two groups. The autologous blood was infused back intraoperative and postoperative. The perioperative vital signs such as mean arterial pressure (MAP), central venous pressure (CVP), heart rate (HR) were recorded in two groups. Hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), RBC, prothrombin time (PT), activated partial clotting enzyme live time (APTT), thrombin time (TT) before operation, before autologous blood transfusion, the end of operation were determined in two groups. Blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Cr) and β 2-microglobulin (β 2-MG) before operation, 1d and 2d after surgery were determined in two groups. **Results** Compared with before autologous blood collection, MAP, CVP, HR after autologous blood collection showed no significant changes in two groups ($P>0.05$), the differences between groups were not significant ($P>0.05$). Compared with before operation, Hb and Hct decreased ($P<0.05$) before autologous blood transfusion, the end of operation, and more obvious before autologous blood transfusion in two groups, but they were still within the normal range. Hb, Hct showed no statistical difference ($P>0.05$) at each point in time in two groups. PT, APTT, TT before autologous blood transfusion, the end of operation compared with preoperative showed no significant change ($P>0.05$) in two groups. Compared with before operation, the levels of BUN, Cr and β 2-MG at 1d and 3d after surgery showed no significant changes ($P>0.05$) in two groups. The levels of BUN, Cr and β 2-MG showed no statistical difference ($P>0.05$) at each time point in two groups. **Conclusion** Domestic hydroxyethyl starch is the expansion agent used in ANH, has the stable plasma expansion effect, has little influence on renal function and has high security in elderly patients with TKA.

Key words: Hydroxyethyl starch; domestic; acute normovolemic hemodilution; total knee arthroplasty; renal function

近年来,临床上为减少异体血输注和提高手术的安全性,广泛应用自体输血技术。回收式自体输血是临床上应用最为广泛的自体输血方法,但其价格昂贵、回输的血液成分单一^[1]。急性等容性血液稀释(acute normovolemic hemodilution, ANH)是应用血液稀释技术来减少围手术期异体输血的有效方法,具有价格低廉、用血方便、各种血液成分齐全的优点,逐渐为患者及临床医师所认可^[2],并已在各类手术中得到广泛应用^[3-4]。羟乙基淀粉因其与人体血浆的理化性质十分接近,在临床上常作为 ANH 时的血液替代液。进口制剂被证实有较强的容量扩张效应且不良反应较少,但价格昂贵,推广应用受到一定限制。国产羟乙基淀粉因其扩容效果好、价格低廉,目前已广泛用于临床,但将其应用于 ANH 的安全性尤其对肾脏是否产生不利影响还不十分清楚。我们通过对比较观察国产与进口羟乙基淀粉应用于 ANH 对老年膝关节置换术患者肾功能的影响,探讨国产羟乙基淀粉用于 ANH 的安全性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 2 月-2016 年 10 月老年膝关节置换术患者 80 例,ASA II-III 级,年龄 60-81 岁,既往无麻醉药物及羟乙基淀粉过敏史,无心肺严重疾患,肝肾功能正常,术前血红蛋白(Hb) ≥ 110 g/L,红细胞比容(Hct) $>33\%$,凝血功能正常。按照数字列表法将患者随机分为 I 组和 II 组,每组 40 例。I 组 ASA II 级 26 例、III 级 14 例,其中男性 33 例、女性 7 例,年龄(67.3 \pm 8.5)岁,体重(71.3 \pm 12.2)kg; II 组 ASA II 级 28 例、III 级 12 例,其中男性 32 例、女性 8 例,年龄(67.7 \pm 3.9)岁,体重(68.7 \pm 10.9)kg。2 组患者在性别、年龄、体重等方面差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 患者入室后,行麻醉气体监测,麻醉前用药为盐酸乙戊奎醚,麻醉诱导用药为罗库溴铵、丙泊酚及瑞芬太尼。麻醉诱导后行桡动脉及右颈内静脉穿刺置管。常规监测生命体征。所有患者均在麻醉诱导 10 min 后经左肘贵要静脉采集自体血,然后快速静脉输注等体积的扩容液体, I 组为国产 6%羟乙基淀粉 130/0.4(南京正大天晴制药有限公司,天晴宁)、II 组为进口 6%羟乙基淀粉 130/0.4(德国费森尤斯卡比 Fresenius Kabi 医药公司,万汶)。羟乙基淀粉用量参照文献^[5]。采血量=体质量 $\times 7\% \times 2$ [Hct(采血前)-Hct(采血后)]/Hct(采血前)+Hct(采血后)。采血后 Hct 目标值设置为 30%^[6]。所采集的自体血储存于 ACD-A 血液保存液的储血袋内,于术中或术后输注,如患者 Hb <70 g/L 或血流动力学不稳定时,则输同型异体血^[7]。

1.3 观察指标 记录 2 组患者围术期平均动脉压(MAP)、中心静脉压(CVP)、心率(HR)等生命体征指标;于术前(入室后即刻)、自血回输前、术毕时抽取 2 组患者动脉血,检测 Hb、Hct 及凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)等凝血功能指标;2 组患者分别于术前、术后 1d 及术后 3d 由关节外科抽取静脉血,送检验科检查尿素氮(BUN)及血肌酐(Cr) β 2 微球蛋白(β 2-MG)等肾功能指标。

1.4 统计学方法 数据采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用配对 t 检验,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组采血前后生命体征比较 2 组患者自血采集后各时间节点 MAP、CVP、HR 与自血采集前比较无显著变化,组间比较差异亦不显著($P>0.05$),见表 1。

表 1 2 组采血前后生命体征比较

($\bar{x}\pm s$)

指标	组别	例数	自血采集前	自血采集后 5 min	自血采集 15 min	自血采集 30 min
MAP(mmHg)	I 组	40	85.9±2.6	83.6±3.0	80.2±2.8	78.3±3.1
	II 组	40	87.0±3.0	83.5±3.1	85.6±2.9	87.7±3.0
CVP(cmH ₂ O)	I 组	40	7.7±1.4	7.6±1.1	7.7±1.2	6.8±1.0
	II 组	40	7.3±1.1	7.2±1.2	7.3±1.1	7.0±1.3
HR(次/min)	I 组	40	81.6±3.2	83.9±2.8	84.8±3.1	78.6±2.7
	II 组	40	78.3±3.1	79.8±2.8	81.7±3.0	76.3±2.8

2.2 2 组围手术期 Hb、Hct 及凝血指标比较 2 组自血回输前、术毕时 Hb、Hct 水平与术前比较均有一定程度下降($P < 0.05$),尤其在自血回输前有显著下降,但仍在正常范围内。2 组间各时点 Hb、Hct 水平比较无明显差异($P > 0.05$)。2 组自血回输前、术毕时 PT、APTT、TT 等凝血指标与术前比较无明显变化($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 2 组围手术期 Hb、Hct 及凝血指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

指标	组别	例数	术前	自血回输前	术毕
Hb(g/L)	I 组	40	126.2±12.7	96.7±7.3*	118.3±10.7*
	II 组	40	127.1±13.1	98.2±7.6 [△]	119.0±11.2 [△]
Hct (%)	I 组	40	37.2±3.2	32.3±1.8*	34.6±2.7*
	II 组	40	38.7±3.1	32.6±1.7 [△]	35.3±3.1 [△]
PT(s)	I 组	40	12.2±3.9	14.1±3.8	14.6±3.7
	II 组	40	12.3±3.7	13.6±3.6	14.4±3.5
APTT(s)	I 组	40	26.5±4.1	29.1±4.3	30.0±4.6
	II 组	40	27.0±4.0	28.6±3.8	29.5±4.0
TT(s)	I 组	40	16.5±7.3	17.7±7.3	18.1±6.4
	II 组	40	16.4±7.0	17.3±6.9	17.8±5.8

*与术前比较, Hb: $t = 10.05, 6.31$; Hct: $t = 9.36, 6.40$ 。[△]与术前比较, Hb: $t = 4.86, 3.11$; Hct: $t = 5.41, 3.56, P$ 均 < 0.05

2.3 2 组手术前后肾功能指标的变化情况 2 组术后 1d 及术后 3d 的 BUN、Cr 及 β_2 -MG 水平与术前比较无明显变化($P > 0.05$)。2 组各时点 BUN、Cr 及 β_2 -MG 水平比较无显著差异($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 2 组手术前后肾功能指标的变化情况 ($\bar{x}\pm s$)

指标	组别	例数	术前	术后 1 d	术后 3 d
BUN(mmol/L)	I 组	40	4.96±0.83	6.10±0.96	5.51±1.02
	II 组	40	5.09±0.81	5.39±0.93	5.23±0.93
Cr(μ mol/L)	I 组	40	73.3±4.8	76.7±4.9	75.0±5.0
	II 组	40	72.8±4.6	73.9±5.0	73.2±4.5
β_2 -MG(mg/L)	I 组	40	1.45±0.28	1.60±0.31	1.53±0.30
	II 组	40	1.43±0.26	1.56±0.29	1.45±0.27

3 讨论

ANH 为麻醉诱导后、临手术前采集患者一定量的自体血,同时等量输注胶体液或/和晶体液以维持血容量的稳定,在手术适当的时机将自体血回输的自体输血方式。通过术前 ANH 不仅减少术中血细胞的丢失,同时又为手术储备血源,一旦出现大出血即可以快速回输,提高手术的安全性。研究证实只要患者 Hb $> 110g/L$, HCT > 0.33 ,凝血功能正常及无重要脏器疾患,即可进行一定量的血液稀释^[8]。

羟乙基淀粉 130/0.4 为血液容量扩充剂,经静脉滴注后,可较长时间停留于血液中,提高血浆渗透压,使组织液回流增多,迅速增加血容量,具有良好的扩容效果。低于肾阈的小分子通过肾脏经尿排泄,大分子羟乙基淀粉在通过肾脏排泄之前,被血浆 α -淀粉酶降解为小分子。研究证实进口羟

乙基淀粉 130/0.4 同时能完全经肾脏排泄,体内无蓄积,可减少停留于体内而产生的不良反应,同时在稳定血压和心率方面明显优于乳酸林格氏液^[5]。本研究中,2 组患者自血采集前后各时间节点 MAP、CVP、HR 未见显著改变,两组间差异不显著,表明国产羟乙基淀粉对老年患者的生命体征没有不良影响,作为扩容剂应用于 ANH,具有稳定的血浆扩充效果。本研究中 2 组患者经过 ANH 后 Hct 仍维持在 30% 以上,而 Hb 也在 90g/L 以上,证实国产羟乙基淀粉与进口羟乙基淀粉一样,在维持血液循环的稳定和保证机体组织器官正常氧供的前提下,可有效减少或避免异体输血,与其他研究^[9]结果基本一致。

但胶体液与晶体液相比在血管内停留时间长,可导致肾小球滤过率下降,干扰凝血功能。尤其对于老年手术患者由于机体功能减退,术中容量扩张易出现心肺不良反应。本研究中 2 组患者术中术后的凝血指标与术前相比均无明显改变,临床观察亦未发现凝血功能障碍,证实国产羟乙基淀粉应用的安全性。当肾实质受损害时,肾小球滤过率降低,血液中 BUN 及 Cr 的浓度水平就会增加。 β_2 -MG 几乎均在肾脏进行分解代谢,正常情况下, β_2 -MG 可自由通过肾小球,从肾小球滤过的 β_2 -MG 90% 以上被近曲肾小管重吸收和分解,当肾脏近曲小管轻度受损时, β_2 -MG 排泄量即明显增加。本研究中,2 组患者的 BUN、Cr 及 β_2 -MG 的血液浓度水平均在正常范围,组间比较无明显差异,表明国产羟乙基淀粉与进口羟乙基淀粉一样,作为 ANH 的扩容剂对肾功能的影响较小。当然大剂量的应用对机体可能产生怎样的影响还有待于进一步的研究。

综上所述,国产羟乙基淀粉作为扩容剂应用于 ANH,具有稳定的血浆扩充效果,同时对肾脏功能的影响较小,安全性较高。

参考文献

- [1] 张希,蔡小丽,李帆,等.急性等容血液稀释对冠心病患者凝血功能的影响观察.人民军医,2014,57(7):764-766.
- [2] 郭建荣,喻君,杜金满.急性等容血液稀释对老年肝癌患者围手术期凝血和纤溶功能的影响.中国实用外科杂志,2010,30(11):949-951.
- [3] 刘红菊,何志斌,虞雪融.急性等容血液稀释在妇科恶性肿瘤中的应用.中国医学前沿杂志:电子版,2015,7(5):85-88.
- [4] 胡进访,王白石,蒋涵超.急性等容血液稀释术在老年膝关节置换术中的应用评价.中华全科医学,2013,11(6):949-950,961.
- [5] 李小静,王荣宁,孙灿林,等.国产羟乙基淀粉用于老年人急性等容血液稀释的临床研究.实用临床医药杂志,2011,15(23):93-94,97.
- [6] 闭玉华,李凯,莫彩鲜.急性等容血液稀释联合控制性降压在肝脏手术中的应用.临床麻醉学杂志,2014,30(2):194-195.

· 论著 ·

· 调查研究 ·

四川省 40 家综合医院临床用血情况调查与用血评估模式的初步探讨

孔玉洁¹ 尹湧华¹ 田雪¹ 洪树青² 王向明¹ 田力¹ 宋宁¹ 刘忠^{1△}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所, 四川 成都 610052; 2. 安徽医科大学 公共卫生学院)

摘要:目的 了解四川省综合医院的临床用血情况,对医院临床用血评估模式进行初步探讨。**方法** 1)设计《临床用血调查表》,对四川省 40 家综合医院开展临床用血专项调研,统计 40 家医院临床成分血(红细胞、血浆、血小板和冷沉淀)用量在主要用血科室之间的分布情况;2)将成分血用量与医院年门诊人次、床位数、年住院人次和年手术台次做相关性分析;3)以单位年门诊人次用量、单位年住院人次用量、单位床位数用量、单位年手术台次用量为指标,分析红细胞用量,探索临床用血的评估机制。**结果** 1)红细胞和血小板用量最多的科室为内科,三级医院分别占总用量的 40.60%和 71.15%,二级医院分别占 36.62%和 51.04%;血浆主要用于内科和外科,三级医院分别占 37.11%和 34.90%,二级医院分别占 27.76%和 31.00%;2)三级医院的红细胞用量与年门诊人次、年住院人次、年手术台次及床位数的相关系数(r)分别为 0.792、0.818、0.838 和 0.728,二级医院分别为 0.242、0.780、0.793 和 0.693;3)三级医院以单位年手术台次红细胞用量为评估指标时,有 1 家医院偏离 $>\bar{x}+2s$;二级医院以单位年门诊人次、单位年住院人次、单位年手术台次和单位床位数红细胞用量为评估指标时,各有 1 家医院偏离 $>\bar{x}+2s$ 。**结论** 三级医院成分血应用较二级医院规范,红细胞是应用管理最好的血液成分。临床用血评估在了解医院用血情况的基础上,对同级医院进行用血量的对比分析,不仅可以在宏观上控制临床用血,也可为临床用血考评机制的建立提供有效的借鉴。

关键词:临床用血;成分血用量;综合医院;用血评估;三级医院;二级医院**中图分类号:**R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0513-04

Research on clinical blood transfusion and preliminary discussion of evaluation model of clinical blood use in forty general hospitals in Sichuan province KONG Yujie¹, YIN Yonghua¹, TIAN Xue¹, HONG Shuqing², WANG Xiangming¹, TIAN Li¹, SONG Ning¹, LIU Zhong¹. 1. Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Chengdu 610052, China; 2. School of Public Health, Anhui Medical University. Corresponding author: LIU Zhong

Abstract: Objective To provide an effective basis for the formulation of long-term dynamic index evaluation of clinical blood transfusion, by analysis of blood use in 40 general hospitals in Sichuan province and discussion on an assessment model of preliminary clinical blood usage. **Methods** 1) The distribution of blood component transfusion including red blood cells (RBCs), plasma, platelet and cryoprecipitate were calculated among departments of main blood use in 40 hospitals. 2) A correlation analysis was made between blood component use and annual outpatient numbers, inpatient numbers, operation numbers and bed numbers, respectively. 3) The average blood usage amount of outpatient, inpatient, surgery and bed numbers was used as the index to analyze red blood cells transfusion and to explore the evaluation model of clinical blood use. **Results** 1) RBCs and platelet are mainly used in the department of medicine. The proportion was 40.60% and 71.15% in third-tier hospitals and 36.62% and 51.04% in second-tier hospitals. The primary usage of plasma is in the department of medicine and surgery, the percentage was 37.11% and 34.90% in third-tier hospitals and 27.76% and 31.00% in second-tier hospitals. 2) The amount of RBCs in third-tier hospitals was positively correlated with the outpatient, inpatient, surgery and bed numbers and the correlation index was 0.792, 0.818, 0.838 and 0.728. The correlation coefficient in second-tier hospitals was 0.242, 0.780, 0.793 and 0.693, separately. 3) When evaluating by the average transfusion of red blood cells

per surgery in third-tier hospitals and the mean usage of red blood cells per outpatient, per inpatient, per surgery, or per bed in second-tier hospitals, five hospitals were two times standard deviation more than the average. **Conclusion** The use of blood

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.022

△通信作者:刘忠(1969-01-),男,主任技师,教授,博士研究生导师,主要从事输血医学研究,电话:028-68169108, Email: liuz@ibt.pumc.edu.cn

[7] 周莉莉,冯建萍.急性等容性血液稀释在前置胎盘剖宫产手术中的应用.江苏医药,2014,40(23):2945-2946.

[8] 效小莉,刘岚.急性等容稀释性自体输血在 Rh(D) 阴性孕妇分娩中的应用.现代妇产科进展,2012,24(9):713-714.

[9] 吴利东,周颖,朱晓红,等.国产胶体液用于急性等容量血液稀释对肾脏功能的影响.中国临床医学,2010,17(2):251-253.

(2016-11-05 收稿,2017-04-19 修回)

本文编辑:李宜蔓

component in third-tier hospitals is more standard than in second-tier hospitals. The use of RBCs is more than the other blood component. This study has analyzed the blood usage between the same level hospitals and expounds on the evaluation model of blood transfusion. The evaluation not only can control clinical blood transfusion macroscopically, but also can establish a foundation for the establishment of evaluation system of clinical blood transfusion.

Key words: clinical blood use; blood component use; general hospital; evaluation of blood usage; third-tier hospitals; second-tier hospitals

输血作为 1 种临床上重要的、无可替代的治疗措施^[1], 应用得当, 可以改善患者的病情、挽救患者的生命, 若应用不当, 也会带来许多可知与未知的风险, 甚至对患者造成严重危害^[2-3]。有调查显示, 当医院对临床输血适应证的把握不到位时, 易造成临床不合理用血及过度用血现象^[4-5]。近年来, 我国住院患者的数量和对血液的需求呈逐年猛增的趋势, 导致血液供不应求的状态日趋严重^[6]。因此, 应推崇科学、合理用血, 减少不必要的输血, 同时加强临床患者血液管理, 开展临床用血质量评估工作。目前, 临床用血合理性的评估主要是通过回顾性分析临床病例记录和临床用血申请单来完成, 针对的是个体患者的评估, 虽然这些方式在评估监管中的作用已被证实^[7], 但是不合理用血现象在我国仍然存在却是不争的事实, 加强临床用血管理仍任重道远, 有必要进一步探索, 制定新的评价和监督机制。为此, 我们调查了四川省 40 家二级以上综合医院的临床用血情况, 并依据调查数据初步探索了临床用血的评估模式, 现报道如下。

1 对象与方法

1.1 调研对象 由四川省临床输血质控中心组织, 2015 年对四川省除甘孜州和阿坝州的 19 个地市州的 40 家综合医院(除成都市选取 3 家三级医院和 1 家二级医院外, 其余每个地市州均随机选取 1 家三级医院和 1 家二级医院, 共计 21 家三级医院和 19 家二级医院)展开了临床用血专项调研。调研中采用《2014 年临床用血调查表》(简称《调查表》)的形式对这些医院 2014 年 1 月 1 日-2014 年 12 月 31 日的临床用血情况统计。

1.2 调查内容与发放及回收 1) 医院年红细胞、血浆、血小板和冷沉淀的总用量、年门诊人次、年住院人次、年手术台次和床位数; 2) 医院每个用血科室的年红细胞、血浆、血小板和冷沉淀的总用量、科室年门诊人次、年住院人次、年手术台次

和床位数。提前 1 个月以邮件的形式分别发给参与调研的 40 家医院的输血科, 并督促其在现场调研前完成。现场调研时, 由医院调研专人收回, 进一步统计分析。调查数据的汇总、编辑和计算采用 Microsoft[®] Excel 2013。

1.3 成分血用量分布比较 以医院等级和主要用血科室为类别, 分别计算红细胞、血浆、血小板和冷沉淀的用量, 比较成分血用量的分布情况。

1.4 相关性分析 以同级医院为单位, 比较客观指标(年门诊人次、年住院人次、年手术台次和床位数)与成分血用量(红细胞、血浆、血小板和冷沉淀)的相关性, 若双变量均满足正态性($P > 0.05$), 采用 *Pearson* 相关性检验, 否则, 采用 *Spearman* 秩相关分析($P < 0.05$ 时, 二者具有相关性)。当相关系数 $|r| = 1$ 时为完全相关, $0.8 \leq |r| < 1$ 时为高度相关, $0.3 \leq |r| < 0.8$ 为中度相关, $|r| < 0.3$ 时为低度相关。相关性分析采用统计学软件 SPSS Statistics 17.0。

1.5 临床用血评估 应用医学统计学正态分布理论, 按医院等级做同级医院间的评估, 分别计算三级医院和二级医院每家医院的单位年门诊人次、单位年住院人次、单位年手术台次和单位床位数的红细胞用量(例: 单位年门诊人次红细胞用量 = 某医院某年红细胞的总用量/该医院该年的门诊人次)。得到 4 组三级医院的数据(每组含 21 个子数据)和 4 组二级医院的数据(每组含 19 个子数据)后, 分别计算这 8 组数据的“均值±标准差($\bar{x} \pm s$)”, 统计红细胞用量偏离 $> \bar{x} + s$ 和 $> \bar{x} + 2s$ 的医院, 若红细胞用量 $> \bar{x} + 2s$, 则初步认为该数据为离群值, 有必要对该医院做进一步的核查。

2 结果

2.1 四川省 40 家二级以上综合医院成分血用量分布 见表 1。

表 1 四川省 40 家综合医院 2014 年成分血用量及科室分布

	红细胞(U)(%)		血浆(mL)		血小板(U)		冷沉淀(U)	
	三级	二级	三级	二级	三级	二级	三级	二级
内科	80 304(40.60)	15 658(36.62)	5 733 373(37.11)	327 267(27.76)	78 697(71.15)	2 812(51.04)	5 505(36.23)	89(4.93)
外科	62 056(31.37)	13 079(30.59)	5 391 543(34.90)	365 498(31.00)	9 246(8.36)	1 065(19.33)	2 850(18.76)	395(21.88)
妇产科	17 066(8.63)	4 224(9.88)	466 082(3.02)	63 120(5.35)	3 018(2.73)	184(3.34)	706(4.65)	149(8.25)
儿科	5 527(2.79)	372(0.87)	139 880(0.91)	2 446(0.21)	4 449(4.02)	104(1.89)	410(2.70)	0(0.00)
ICU	21 583(10.91)	4 782(11.18)	3 266 638(21.14)	309 039(26.21)	8 456(7.65)	1 126(20.44)	5 189(34.15)	1 045(57.89)
急诊科	1 176(0.59)	881(2.06)	509 96(0.33)	3 637(0.31)	214(0.19)	51(0.93)	100(0.66)	20(1.11)
肿瘤科	5 897(2.98)	770(1.80)	298 553(1.93)	1 516(0.13)	4 754(4.30)	145(2.63)	197(1.30)	107(5.93)
耳鼻喉科	511(0.26)	794(1.86)	34 989(0.23)	828(0.07)	184(0.17)	22(0.40)	29(0.19)	0(0.00)
合计	194 120(98.14)	40 560(94.86)	15 382 054(99.56)	1 073 351(91.04)	109 018(98.57)	5 509(100)	14 986(98.62)	1 805(100)
医院总用量	197 791	42 758	15 450 691	1 179 000	110 603	5 509	15 195	1 805

注: 三级医院共 21 家, 二级医院共 19 家; 括号内百分比 = (科室成分血用量/该成分血医院总用量) × 100%

2.2 相关性分析 见表 2。

表 2 四川省 40 家综合医院单位年门诊人次、年住院人次、年手术台次及床位数与各成分血用量的相关系数(*r*)

	红细胞(U)	血浆(mL)	血小板(U)	冷沉淀(U)
三级医院 年门诊人次	0.792	0.362*	0.461	0.564
年住院人次	0.818	0.230*	0.547	0.566
年手术台次	0.838	0.219*	0.596	0.624
床位数	0.728	0.302*	0.591	0.272*
二级医院 年门诊人次	0.242*	-0.536	-0.177*	0.229*
年住院人次	0.780	0.071*	0.026*	0.438*
年手术台次	0.793	-0.139*	0.005*	0.500
床位数	0.693	-0.220*	0.222*	0.500

注:经 Shapiro-Wilk 正态性检验,二级医院的年门诊人次、年住院人次、年手术台次和床位数均满足正态性($P>0.05$),红细胞用量满足正态性($P>0.05$);血浆、血小板和冷沉淀用量均不满足正态性($P<0.05$);三级医院各组变量均不能认为满足正态性($P<0.05$)

2.3 临床用血评估 见表 3,图 1-2。

表 3 四川省 40 家综合医院临床用血评估的相关指标及统计结果

	$\bar{x} \pm s$	$>\bar{x}+s$ 的医院(%)	$>\bar{x}+2s$ 的医院(%)
三级医院 年门诊人次红细胞用量	0.011±0.003	4(19.0)	0
年住院人次红细胞用量	0.179±0.045	2(9.5)	0
年手术台次红细胞用量	0.597±0.184	2(9.5)	1(4.8)
床位数红细胞用量	6.909±1.703	4(19.0)	0
二级医院 年门诊人次红细胞用量	0.012±0.007	2(10.5)	1(5.3)
年住院人次红细胞用量	0.098±0.038	2(10.5)	1(5.3)
年手术台次红细胞用量	0.411±0.177	2(10.5)	1(5.3)
床位数红细胞用量	3.875±1.538	1(5.3)	1(5.3)

注:括号内数值为离群医院数占该级医院全部医院数的比例

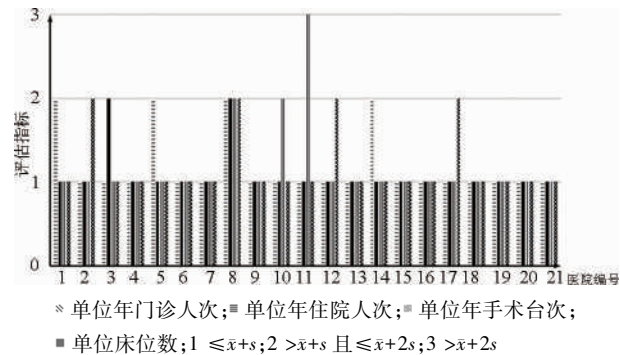


图 1 四川省 21 家三级医院 2014 年临床用血评估

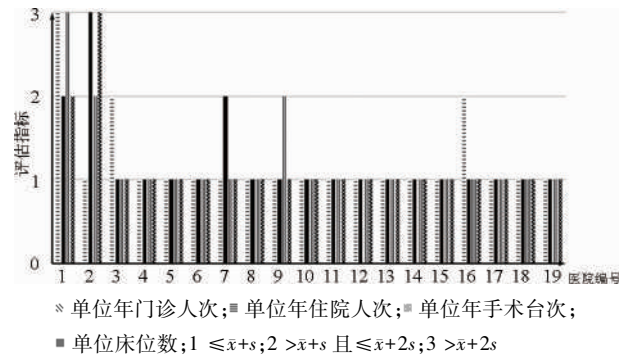


图 2 四川省 19 家二级医院 2014 年临床用血评估

3 讨论

近年来,随着我国医疗卫生事业的迅速提高和医疗保险体系的日臻完善,临床用血需求也在不断增加,然而血液供

应的增长不仅相对缓慢,而且在一些地区临床血液供不应求的现象甚至已呈常态化^[8],与此同时医疗机构的不合理用血情况也未得到根本改变^[6];故加强医疗机构临床合理用血的管理以及准确评价临床合理用血成为输血医学重点关注的问题。针对临床合理用血的评价,国内已有多家机构致力于评价考核客观指标的研究^[9-10],但几乎没有针对同级医疗机构之间临床用血量的对比分析评估,我们通过对四川省 40 家综合医院的临床用血调研,统计分析同级医院之间的临床用血水平,旨在探索一种新的临床用血评估模式。

本组主要用血科室为内科、外科、妇产科、儿科、ICU、急诊科、肿瘤科和耳鼻喉科,其中为主要的内科和外科用血最多,耳鼻喉科用血最少。以血液成分为指标分析,三级医院 71.97%、二级医院 67.21% 的红细胞用于内科和外科;血浆在内科、外科和 ICU 之间的用量都较大;三级医院和二级医院分别有 71.15% 和 51.04% 的血小板用于内科;三级医院 70.38% 的冷沉淀用于内科和 ICU,二级医院的冷沉淀应用则集中在外科(21.88 U)和 ICU(57.89 U)(表 1)。

本组数据的相关性分析结果显示:三级医院的红细胞和血小板用量与年门诊人次、年住院人次、年手术台次及床位数均呈现中等以上的正相关($P<0.05$),提示红细胞和血小板的临床用血管理较好;冷沉淀虽与床位数不具有相关性,但与其余 3 个指标都具有中等程度的相关性;血浆与上述 4 个客观指标均不能认为具有相关性($P>0.05$),说明三级医院需要加强对血浆的临床管理。二级医院红细胞与年住院人次、年手术台次和床位数均具有中等程度的正相关性;冷沉淀与年手术台次和床位数分别具有中等程度的正相关性;血小板与上述 4 个客观指标均不能认为具有相关性,血浆用量与年门诊人次甚至呈中等程度的负相关($r=-0.536, P<0.05$),提示二级医院血浆和血小板的管理需要加强(表 2)。总体来看,三级医院的临床用血较二级医院规范,红细胞在所有血液成分中的临床应用管理最好。

以红细胞用量为例对四川省 40 家综合医院 2014 年的临床用血水平的初步评估:当评估指标为单位年门诊人次、单位年住院人次、单位年手术台次及单位床位数红细胞用量时,三级医院单位红细胞用量 $\leq\bar{x}+s$ 的医院分别占 81.0%、90.5%、85.7% 和 81.0%;二级医院分别占 84.2%、84.2%、84.2% 和 89.4%,即 $>80\%$ 的医院人均红细胞用量都比较均衡(表 3)。三级医院中,以单位年手术台次红细胞用量为评估指标时,有 1 家医院(第 11 家)出现明显离群,用量 $>\bar{x}+2s$,但该医院其他 3 个指标均 $<\bar{x}+s$,说明对医院用血量做评估时,应依据不同的指标进行综合评估;与之相对,第 8 家医院虽然没有出现离群值,但 4 个指标的单位红细胞用量均 $>\bar{x}+s$,说明该医院的单位红细胞用量出现整体偏离,需做进一步的核查(图 1)。二级医院中,以单位年门诊人次和单位年手术台次红细胞用量为评估指标时,第 1 家医院出现离群值;以单位年住院人次和单位床位数红细胞用量为评估指标时,第 2 家医院出现离群值(图 2),提示需要对这 2 家医院做进一步的核查,寻找红细胞用量较大的原因,最后判断该医院离群数据的原因是否为临床不合理用血。同时,结合对血浆、血小板和冷沉淀做类似的用量评估,可了解每家医院的

成分血用量及其用血是否合理。

本次调研点从宏观上了解了医院的临床用血情况,并在同级医院之间做了单位人次用血量的对比评估,是 1 种动态的评估模式,通过季度或年度调查对医院临床用血提出建议并逐步优化,对临床用血起有效的管理和控制作用。然而,要对医院进行用血合理性的评价,还需要结合每个医院科室的手术级别、手术方式、病种分布、病情风险程度等因素做进一步的研究。

参 考 文 献

[1] 刘景汉,汪德清. 临床输血学.北京:人民卫生出版社,2011:1-4.

[2] WHO. Blood safety and availability [EB/OL]. 2016-07-01, [2016-09-12]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs279/en/>.

[3] Sandler SG, Yu H, Rassai N. Risks of blood transfusion and their prevention. Clin Adv Hematol Oncol, 2003, 1(5): 307-313.

[4] 张伟,段秀群,卫琴,等. 3047 例临床用血合理性调查分析. 临床血液学杂志:输血与检验, 2013(3):388-390.

[5] 杨宝成,邵超鹏. 积极推进临床合理用血工作的思考. 中国输血杂志, 2009, 22(05): 411-414.

[6] Yin YH, Li CQ, Liu Z. Blood donation in China: sustaining efforts and challenges in achieving safety and availability. Transfusion, 2015, 55(10):2523-2530.

[7] 黄建云,魏亚明,胡永红,等. 输血申请与输血病历评估体系建立及其用于临床合理用血评价探讨. 中国输血杂志, 2012, 25(10):1059-1062.

[8] 陈云,王飞,高潘东,等. 血液供需紧张的原因分析及对策探讨. 中国社区医师:医学专业, 2012, 14(29):341-342.

[9] 庄健美,黄俊,谈春荣,等. 临床用血评价考核客观指标的统计标准化及其应用. 中国输血杂志, 2014, 27(1):50-52.

[10] 安海莲,崔春兰,金玉顺. 加强临床输血质量管理体系建设对改善临床用血评价考核客观指标的分析. 中国输血杂志, 2015, 28(8):971-973.

(2016-11-26 收稿,2017-04-23 修回)

本文编辑:蔡辉

《临床单病种输血》专著出版

2016 年 7 月 25 日国家标准化管理委员会批准 GB/T 13745-2009《学科分类与代码》国家标准第 2 号修改单,自 2016 年 7 月 30 日起实施。GB/T13745-2009《学科分类与代码》国家标准第 2 号修改单:一、在“320 临床医学”下增设二级学科 32032“输血医学”。二、在 32032“输血医学”下设立三级学科“基础输血学、献血服务学、输血技术学、临床输血学、输血管理学和输血医学其他学科”。中华医学会与中国医师协会输血分会积极响应国家对输血专业的逐步重视,中华医学会临床输血学分会主任委员、中国医师协会输血科医师分会首任会长刘景汉教授牵头,组织专家筹措与撰写专著《临床单病种输血》。

《临床单病种输血》已由人民卫生出版社 2017 年 1 月出版,全书共十章,涉及内科、外科、妇产科、组织与器官移植等五十个疾病(病种)输血,以及输血疗效评价、输血不良反应诊断与治疗、自体输血与治疗性血细胞单采与置换等方面,旨在让临床医护人员更好地实施科学、安全用血,减少不必要的输血。该书理论联系实际,内容新颖,为进一步规范医疗机构临床科学、安全用血起到抛砖引玉的作用,为临床医护人员、医学院校师生及其他领域的同道提供了单病种输血相应的治疗原则与操作方案。

主 编:刘景汉 李志强 王海林

购买网址:人卫智慧服务商城 <http://suo.im/205vkd>

人民卫生出版社旗舰店 <http://dwz.cn/dbzsxt>

定 价:55 元,人民卫生出版社(ISBN 978-7-117-23893-9),2017 年 1 月

西宁市采供血发展现状分析及对策建议

李向国(青海省血液中心,青海 西宁 810000)

摘要:目的 调查分析西宁市采供血现状,揭示采供血工作存在的问题困难,为全市及全省输血事业发展从制度、政策和措施提供支持 and 参考。**方法** 对 2006-2016 年度西宁市采供血数据汇总,用整群分析、分层分析法统计分析。**结果** 2011-2016 年度献血人次负增长 4.76%,西宁市街头无偿献血人次占 82.15%,团体献血人次占 17.85%,千人口献血率 2015 年为 14.3‰;成分输血率达到 99%,临床用血 100%分别实现了白细胞过滤、血液辐照、血浆病毒灭活,2015 年血液实现 100%核酸检测,2011-2015 年度省级医院临床平均用血占总供血量 71.94%,2016 年全市总用血量占全省总用血量 81.63%。**结论** “十二五”期间西宁市无偿献血进入一个发展平台期,血液采集与供应处于一个紧平衡,供需矛盾日益突出,采供血与西宁社会经济和卫生事业发展不相协调;血液核酸检测的全覆盖使输血传播疾病残余风险控制到了极低水平,成分输血等各项技术的开展,输血引起的不良反应显著降低,极大地提高了血液安全;临床用血需进一步加强和规范,科学合理用血水平亟待提高。

关键词: 西宁市;采供血;现状分析;对策建议

中图分类号:R457.1⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0517-04

Analysis and countermeasure suggestions on the development of current blood collection and supply in Xining City

Li Xiangguo. Blood Center of Qinghai Province, Xining City 810000, China.

Abstract: Objective To investigate and analyze the situation on blood collection and supply in Xining city, to illuminate the problems existing in the work and difficulties, and to provide support and reference for policies and measures in transfusion career from the city to the whole system. **Methods** In Xining city from 2006 to 2016, blood collection and supply data were analyzed with cluster analysis, hierarchical analysis, and treated with WORD2007 charts. **Results** From 2011 to 2016, the number of blood donation visitors reduced by 4.76%. Xining city blood donors accounted for 82.15%, group donors accounted for 17.85% of blood donation. 14.3 per one thousand people donated blood in 2015. Component blood transfusion rate was 99%. Clinical use was 100%. Leukocyte filtration, blood irradiation, plasma virus inactivated, nucleic acid blood screening test achieved 100% in 2015. From 2011 to 2015, the average provincial hospital clinical blood use accounted for 71.94% of total blood supply. The total 2016 blood use in Xining city accounted for 81.63% of the province. **Conclusion** During the developmental period of “twelfth five-year” Xining city blood donation platform, maintenance of blood collection and supply became a tight balance. Blood collection and supply contradictions became increasingly prominent. Blood collection and supply are incompatible with the development of social economy and public health in Xining City. Nucleic acid blood test screening contributes to the lowest level of residual risk of transmitted diseases in blood transfusion. As component transfusion technology advances, the adverse effects associated with transfusion decrease accordingly, which has enhanced the safety of blood for clinical use. However, the level of scientific and rational use of blood remain necessary to improve urgently.

Key words: Xining city; blood collection and supply; situation analysis; countermeasures and suggestions.

本文通过对西宁市(四区三县)2006-2016 年采供血数据统计分析,总结西宁市采供血现状,针对近年来出现的新问题、新情况,为青海输血事业可持续发展提出对策建议。现对西宁市 11 年来采供血工作回顾分析总结如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 西宁市 2006-2016 年度公民无偿献血情况,西宁市 2010-2016 年度采供血及医疗机构用血形势。

1.2 数据资料 青海省统计局、西宁市统计局年度国民经济发展统计公报,青海省血液中心血液管理信息数据库。

1.3 统计学分析 用整群分析、分层分析法收集数据进行统计汇总,用 Word2007 处理图表。

2 结果(表 1-7,图 1-3)

表 1 2006-2016 年全血捐献统计

	总人次	个人				团体				总献血量 (mL)
		人次	占比	献血量 (mL)	占比	人次	占比	献血量 (mL)	占比	
2006 年	20 719	17 361	83.79	6 475 500	86.62	3 358	16.21	1 000 300	13.38	7 475 800
2007 年	23 410	18 772	80.19	7 168 650	83.50	4 638	19.81	1 416 050	16.50	8 584 700
2008 年	26 650	23 311	87.47	8 706 450	89.19	3 339	12.53	1 055 000	10.81	9 761 450
2009 年	30 701	26 723	87.04	10 144 900	89.55	3 978	12.96	1 184 100	10.45	11 329 000
2010 年	34 497	27 645	80.14	10 468 250	81.93	6 852	19.86	2 309 300	18.07	12 777 550
2011 年	33 851	29 187	86.22	11 353 190	88.52	4 664	13.78	1 473 000	11.48	12 826 190
2012 年	35 275	28 892	81.91	11 301 500	84.78	6 383	18.09	2 028 600	15.22	13 330 100
2013 年	33 514	25 754	76.85	10 271 350	80.40	7 760	23.15	2 504 250	19.60	12 775 600
2014 年	33 275	24 915	74.88	9 949 900	79.42	8 360	25.12	2 577 950	20.58	12 527 850
2015 年	30 356	25 155	82.87	9 730 610	84.28	5 201	17.13	1 814 850	15.72	11 545 460
2016 年	32 026	26 352	82.28	10 249 700	84.10	5 674	17.72	1 937 900	15.90	12 187 600
平均 (%)			82.15		84.75		17.85			15.25

表 2 2010-2016 年无偿献血者年龄分布状况

分组	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	2015 年	2016 年	合计	百分比 (%)
18-20 岁	4 370	4 172	3 656	3 651	2 974	2 493	2 916	24 232	9.84
21-25 岁	10 380	8 993	7 459	6 633	6 218	5 189	5 718	50 590	20.55
26-30 岁	4 121	4 119	4 093	3 860	3 871	3 844	4 215	28 123	11.43
31-35 岁	4 103	3 872	3 938	3 502	3 474	3 226	3 375	25 490	10.36
36-40 岁	4 986	4 942	4 707	3 933	4 240	3 875	3 987	30 670	12.46
41-45 岁	4 680	5 195	5 360	5 196	5 279	4 893	4 945	35 548	14.44
46-50 岁	3 504	4 304	4 604	4 484	5 089	4 931	5 009	31 925	12.97
51-55 岁	1 309	1 404	1 693	2 305	2 895	3 189	3 841	16 636	6.76
56-60 岁	50	42	255	421	692	748	730	2938	1.19

表 3 2011-2016 年度全血不同量和机采血小板捐献情况统计

年份	总人次	全血不同量								总人次	机采血小板			
		200 mL		300 mL		400 mL		不足量			个人		互助	
		人次	占比	人次	占比	人次	占比	人次	占比		人次	占比	人次	占比
2011 年	33 851	1 702	5.03	3 555	10.50	28 489	84.16	105	0.31	358	358	100	0	0
2012 年	35 275	2 003	5.68	3 603	10.21	29 556	83.79	113	0.32	557	557	100	0	0
2013 年	33 514	1 211	3.61	3 742	11.17	28 471	84.95	90	0.27	1 448	1 448	100	0	0
2014 年	33 275	1 566	4.71	4 370	13.13	27 148	81.59	191	0.57	1 618	1 612	99.63	16	0.37
2015 年	30 356	1 509	4.97	2 640	8.70	26 081	85.92	126	0.41	2 164	1 991	92.01	173	7.99
2016 年	32 026	1 506	4.70	2 889	9.02	27 422	85.62	209	0.65	2 639	2 427	91.97	212	8.03
平均 (%)			4.78		10.46		84.34		0.42			97.27		2.73

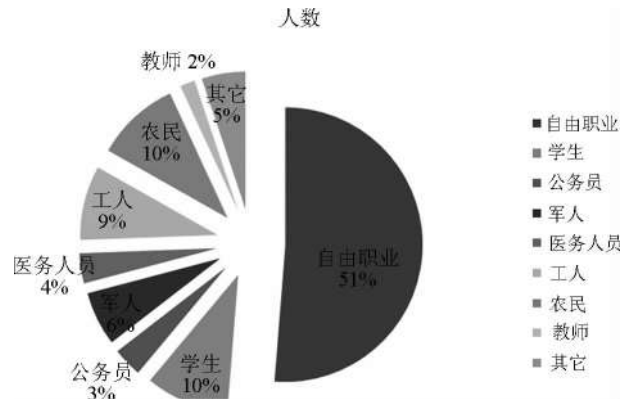
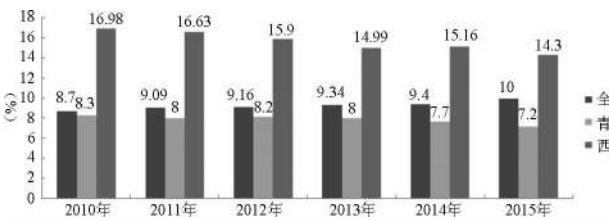


表 4 西宁市各辖区常住人口分布与献血点(屋)配置

	西宁市	西宁市区				所属三县		
		城东区	城中区	城西区	城北区	大通县	湟中县	湟源县
常住人口分布(万)	231	38.1	30.8	26.4	31.4	44.7	45.6	14
献血点配置(个)	5	—	3	—	1	1	—	—

表 5 2011-2015 年献血宣传服务费用

项目	户外广告	电视报纸	献血日	纪念品	血液返还	食品	合计
经费(万)	635.89	22.50	48.14	849.53	338.79	49.16	1 944.01
单位自筹	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
政府财政	0	0	0	0	0	0	0

表 6 2010-2016 全血和血液成分供应及技术开展 (U)

	全血	红细胞悬液	单采血小板	手工血小板	血浆(不含冷沉淀)	年总供血量
2010 年	830.5	57 238.5	5 080	5 836	50 140.5	124 086
2011 年	581.5	58 534.5	3 580	8 852	52 184.5	128 699.5
2012 年	403	59 382.5	5 570	9 698	51 906	130 643
2013 年	302.25	58 724	14 880	8 090	52 059.5	13 8160
2014 年	177.25	56 499	16 280	7 540	54 981.7	139 800.7
2015 年	107	53 030.5	21 640	8 100	55 464.5	143 053.5
2016 年	141.5	57 116.5	26 390	5 220	57 824.2	152 602.2
滤白开展率	100%	100%				—
血液辐照开展率	100%	100%	100%	100%		—
血浆病毒灭活开展率					100%	—

注:2015.4-2017.3 血液筛查核酸检测血液标本共计 60 233 份,其中酶免检测阴性而核酸检测阳性的 HBV 50 例,HCV 3 例, HIV 3 例

表 7 “十二五”期间西宁市各级医院用血情况 U(%)

	省级医院		市级医院		县级医院		民营医院		部队医院	
	用血量	占比	用血量	占比	用血量	占比	用血量	占比	用血量	占比
2011 年	91 071	70.76	9 561.5	7.43	6 446.5	5.01	5 602.5	4.35	6 353.5	4.94
2012 年	97 478.5	74.61	13 452.5	10.30	5 101	3.90	5 308.5	4.06	5 816.5	4.45
2013 年	95 431	69.07	16 262.5	11.77	2 652.5	1.92	5 897	4.27	7 638.5	5.53
2014 年	101 023.7	72.26	14 655.4	10.48	2 190.5	1.53	4 972	3.56	5 744.5	4.11
2015 年	104 075	72.98	13 109.8	9.19	1 912.5	1.34	5 222.8	3.66	5 652.2	3.96
平均(%)		71.94		9.83		2.74		3.99		4.6

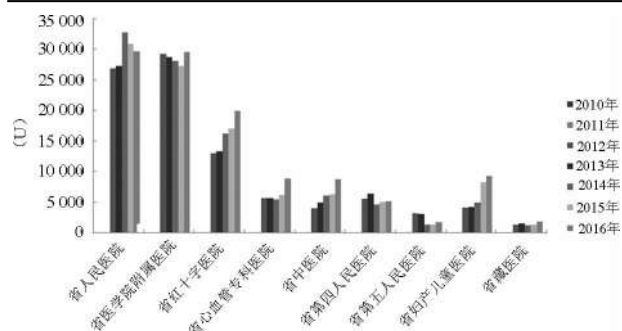


图 3 2010-2016 年度西宁市省级医院临床用血情况

3 讨论

据青海省统计局统计,无偿献血人数在西宁市人口 231 万(全省 588 万)中,占全省人口的 39.29%,其中少数民族占 25.9%,采供血工作有其特殊性。表 1 显示,“十二五”期间全市总献血人次、总献血量,比“十一五”分别增幅 22.28%、9.76%。2010 年前 6 年年均献血人次以 13.18% 速度上升,但“十二五”期间整体采供血人次在持续下降,2011 年至 2016 年献血总人次负增长 4.76%。11 年间全市无偿献血人次以街头献血为主,团体无偿献血持续发展困难,仅占 17.85%,与 2016 年全国团体献血 22.6% 尚有较大差距,西宁市无偿献血进入了发展的平台期^[1],与全国情况一致采供血与社会经济发展不相适应^[1]。表 2 显示,2010 年以来献血人群各年龄段增幅不平稳,18-40 年龄段整体持续逐年下降,其中 18-25 年龄段 2010-2016 年平均降幅-12.17%,41-45 年龄段献血基本平稳,近年来 46-60 年龄段持续增长。18-30 岁的年龄段占 41.82%,为主要献血人群,21-25 岁年轻人

是献血主力^[2]。献血总人数和青年献血主力人数逐年减少,分析原因一是因信息化程度的提高使负面信息的传播速度和影响范围迅速扩大,阻止了那些想要参与却仍有顾虑的国民参与献血的脚步,二是社会信任度的降低也是献血者的保留困难重重^[1],三是网络购物改变居民的消费偏好和日常生活出行方式,对减少个人出行带来重大影响^[3]。表 3 显示,靠提升捐血量增加血液采集量已无空间,机采血小板捐献 6 年平均同比增长 56.60%,促使互助捐献血小板增幅显著,占比较大,因此只有不断壮大献血人数和固定无偿献血志愿队伍才是采集和保证充足血液供给的正确方向和选择。图 2 显示,2014-2016 年献血人群中自由职业占 51%,自由职业、学生、农民、工人四者共占 80%,公务员、教师、军人、医务人员共占 15%,结构构成不合理,不均衡^[4]。在综合影响采血量的 7 项因素中即职工总数、纪念品经费、固定献血者、献血设施数量、区域人口、财政拨款、宣传经费,除“固定献血者”可通过采供血机构努力得到提升外,其余必须依靠政府的政策支持和财政投入才能有效提高^[5],而全市献血屋(点)配置滞后,与“十二五”期间城市扩容扩容和常住人口、流动人口增加及人口居住流向变动不匹配、不平衡,献血宣传服务经费未有政府财政拨款,政府公共宣传资源得不到分享,血站公益属性难以体现,全社会未能形成良好的无偿献血宣传氛围。

血液供给和血液安全。一是血液供给能力不足,提升困难,世界卫生组织指出地区千人口献血率 10‰,才能基本满足该地区医疗临床用血。2010-2015 年青海全省献血率 7.9‰,显然不能满足临床用血需要,西宁市献血率 15.66‰,虽高于全国平均水平 9.28‰^[1],但全市血液供给的现实状

况是趋稳提缓,增幅困难,血液告急现象常态化,季节性、区域性血液告急时常发生,血液库存长期处于警戒线上下徘徊,除急救用血外,择期手术等用血时常受到限供和延迟,这和全市 GDP(6 年平均增长 14.45%) 快速增长的背景下,与日益发展的卫生事业对血液的需求不相协调。二是省府西宁与全省各区域间无偿献血发展、血液供应及需求不平衡,安全血液的公平性、可及性差异较大。三是血液质量安全。成分输血是反映一个地区输血水平高低的重要标志,全市临床用血成分输血率达到 99%。自 2005 年起省血液中心发放血液 100% 分别实现了白细胞过滤、血液辐照、血浆病毒灭活,极大地降低了输血引起的不良反应,提高了血液输注的安全性,且 2015 年起血站血液核酸检测项目的开展,进一步缩短了病毒检测窗口期,降低血液检测残余风险,有力保障了全市血液质量安全。四是医疗机构临床用血。表 6 显示,2010-2016 全市总供血量同比年均增长 3.53%,其中全血同比年均负增长 22.34%,红细胞悬液、单采血小板、手工血小板、血浆分别同比年均增长 0.37%、42.92%、9.74%、5.47%;表 7 显示,2011-2016 年省级医院临床用血持续快速上升,省市两级医院临床用血占总供血量 81.77%,其余各级医院临床用血稳中有升有降,趋于平稳,各级医院之间用血水平参差不齐,这除受各级医院规模、业务开展等重要因素影响外,也与血液供应紧张有关;图 3 显示,科学合理用血的观念虽已得到增强,但其中 8 家医院临床用血年均增幅(11%) 大于同期血液采集量年均增幅(9.76%),1 家医院年均增幅为 39.4%,省人民医院 2014 年后用血量持续下降,平均负增长 4.85%,说明科学合理用血有待加强和规范。五是供血任务日益繁重。由于省会西宁医疗优质资源集中,全省各地大量患者涌入省市等医院,造成仅占全省 1/3 人口的西宁市,承担着全省 81.63% 的临床用血(2016 年全省总用血量 176 464.6 U,全市 144 045.1 U),促使和加剧了全市采供血供需矛盾,随着“十三五”期间新建城区 2 家综合医院建成和 3 家省级医院医疗大楼扩建,血液需求必将有较大攀升。

综上所述:安全血液,健康中国,健康青海。无偿献血涉及面广,影响度大,是需社会长期共建的社会系统工程,更是实现健康目标的基础性保障性工作。作为全国唯一还未出台献血地方法规的省份,长期以来无偿献血发展困局和血液增量的焦点,亟待建立“政府主导、部门配合、综合协调、各方联动”的无偿献血工作格局和机制来破解。对策建议:1) 加快献血地方立法,为无偿献血和血液管理工作提供法律和组

织保障,建立与依法治国和青海社会经济发展相适应、相协调的各级政府无偿献血联系协调工作机制,明确各级政府部门献血工作职责,形成社会共济合力的良好局面;2) 将献血事业发展纳入经济社会发展规划并保证政府财政投入,确保人民群众用血需求和安全;3) 建立国家机关和企事业单位团体献血制度,逐步实现由流动献血向固定献血、团体无偿献血和街头流动无偿献血协调发展的多种方式,建立完善国家机关、各单位参与的无偿献血志愿者队伍和应急保障机制;4) 建立多部门广泛参与、新闻媒体大力支持的宣传格局,加强在电视、报纸等传统媒体上宣传的同时,针对当今人们获取信息和出行等社会活动行为的变化,面对人日均上网时间 2.6 h 的 289 万青海网民及占 80% 的 35 岁以下的网民群体^[6],着力和确保互联网和自媒体等网络各群体受众的宣传;5) 加大政府对农村无偿献血工作。随着城镇化建设推进,有 104 万人口的所属三县血液资源是重点开发之一;6) 建立表彰奖励机制和优惠政策。将无偿献血纳入社会主义精神文明建设总体规划,对无偿献血的先进个人和单位给予表彰奖励和优惠政策,形成长效激励机制;7) 加强临床用血管理,着眼血液“开源节流”,强化临床用血审批制度及量化考核各指标的督导检查考核,推进省、市级医院微创手术、自身输血等新技术的开展,带动引领并不断提升临床科学合理用血水平。

参 考 文 献

- [1] 朱永明.采供血机构无偿献血现状调研分析,中国输血行业发展报告(2016).北京:社会科学文献出版社.2016:43.
- [2] 叶小凡.我国无偿献血者人群构成现状.江苏卫生事业管理,2007,96(2):71-72.
- [3] 刘学,甄峰,张敏,等.网上购物对个人出行与城市零售空间影响的研究进展及启示.地理科学进展,2015,34(1):48.
- [4] 李雅杰,安万新,梁晓华,等.全国各地血液供应紧张原因分析及对策.中国输血杂志,2012,25(12):1236.
- [5] 梁晓华,安万新,范亚欣,等.采血量关键因素的筛选及关系模型的建立与分析.中国输血杂志,2016,29(9):953.
- [6] 中研产业研究院.2016-2020 年青海省网络行业发展分析与投资减值咨询报告.[2016-11-30][OL]https://wenku.baidu.com/view.

(2016-12-27 收稿,2017-03-30 修回)

本文编辑:李弘武

欢 迎 赐 稿 欢 迎 订 阅

部队团体献血 ABO 血型初筛检测错误分析

罗火桔 王凌峰 罗舒婷(中国人民解放军第一七五医院/厦门大学附属东南医院 输血科,福建 漳州 363000)

摘要:目的 分析影响部队团体献血 ABO 血型初筛检测错误的原因,提出改进措施,提高准确性。**方法** 采用回顾性调查的方法,对本血站 2006 年 1 月-2015 年 12 月部队团体献血 482 批次 68 074 人次 ABO 血型初筛错误进行统计,采用 SPSS 统计软件对相关因素进行分析。**结果** 10 年 ABO 血型初筛检测错误 272 人次(0.40%),与不同批次采血人数分级比较无差异($P>0.05$);夏季 ABO 血型初筛的错误率(0.54%)高于其它季节($P<0.05$);B 抗原漏检所致误判率(34.95%)高于其它原因。**结论** 部队团体献血人数的增加与 ABO 血型初筛错误率无关,影响因素主要为试剂效价、环境温度及人为因素。组织团体献血应合理安排工作流程,严格操作规范、加强人员责任心,最大限度的降低血型初筛错误率。

关键词: 团体献血; 无偿献血; 血型; 初筛检测; 错误率

中图分类号: R457.1[†]1 R193.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0521-02

Analysis of errors in ABO blood type screening of army blood donation groups LUO Huojie, WANG Lingfeng, LUO Shuting. Blood Transfusion Department of The 175th Hospital of PLA/ Dongnan Hospital of Xiamen University, Zhangzhou 363000, China

Abstract: Objective To analyze the reasons for false detection in the initial ABO blood type screening during the group army donation and to offer some improvement measures to lower the error rate.**Methods** A retrospective study was conducted on ABO blood type screening data from a total of 68 074 whole blood donations from 482 army blood donation groups, from January 2006 to December 2015 in Zhangzhou Blood Station of PLA. These data were analyzed by SPSS.**Results**

For ten years, the number of error in initial screening of ABO blood type was 272 (0.40%). There was no differences in the rates of error among different blood donation groups ($P>0.05$). The error rate of ABO blood type during summer (0.54%) was higher than other seasons ($P<0.05$). The error rate induced by the lack of detection of B antigen (34.95%) was higher than other reasons, resulting in the wrong judgment of the blood type.**Conclusion** The results show no association between the increasing population of the army blood donation groups and the rate of errors in ABO blood type during initial screening. The main factors are the titer of reagent, the environment temperature and anthropic factors. To minimize errors during the procedure of blood donation groups, possible improvements, including arranging the work flow reasonably, standardizing the operation process and strengthening the responsibility of the staff, should be taken into account.

Key words: blood donation group; voluntary blood donation; ABO blood type; initial screening; error rate

军队血站血液来源主要为部队官兵,无偿献血活动的主要方式是赴部队营区组织团体献血。在外采工作中,采用纸板法做 ABO 血型初筛正定型,因受场地、环境温度、试剂效价、人为因素等的影响,血型初筛结果发生错误难以避免。组织部队官兵团体献血时,由于现场献血人员数量多而集中,要求体采工作在较短的时间内完成,对 ABO 血型初筛结果的准确判读有一定影响。为此,我们对本血站 10 年来组织部队团体献血时的 ABO 血型初筛检测错误进行回顾性分析,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象 2006-2015 年,组织部队 482 批次团体献血 68 074 人次。采集人数最小批次为 35 人,最大批次为 397 人。

1.2 试剂与仪器 单克隆抗-A、抗-B 血型定型试剂(上海血

液生物医药有限责任公司),人 ABO 血型反定型用红细胞试剂(上海血液生物医药有限责任公司)。QWALYS II 全自动血型仪(法国 DIAGAST 公司),TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机(湖南湘仪)。

1.3 检测方法

1.3.1 ABO 血型初筛 ABO 血型初筛采用纸板法,使用单克隆抗-A、抗-B 血型试剂,取手指末梢血做 ABO 血型正定型,严格按照《全国临床检验操作规程》及试剂说明书要求操作和判读结果^[1]。

1.3.2 ABO 血型复检 ABO 血型正反定型复检采用免疫磁珠法,使用 QWALYS II 全自动血型仪,条码识别样本管,96 孔 U 型板自动加样,经磁化、震荡后自动判读结果。ABO 血型复检结果与初筛不符时,进行回溯调查,并取相应血袋上的辫子血确认。疑难血型由血型参比实验室复查确认。

1.4 统计学分析 所有统计描述和分析在 SPSS18.0 统计软件中实现,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同采血人数分级 ABO 血型初筛错误的比较 见表 1。

表 1 不同采血人数分级 ABO 血型初筛错误率的比较

	采血批次 (批次)	采血人数 (人次)	错误人数 (n)	错误率 (%)
1-50 人	75	2 655	14	0.53
51-100 人	122	8 958	37	0.41
101-150 人	93	11 617	47	0.40
151-200 人	75	13 047	44	0.34
201-250 人	54	12 297	45	0.37
251-300 人	31	8 565	37	0.43
301-350 人	21	6 758	32	0.47
351-400 人	11	4 177	16	0.38
合计	482	68 074	272	0.40

注: $\chi^2 = 3.943, P > 0.05$

2.2 不同季节 ABO 血型初筛错误率比较 见表 2。

表 2 不同季节 ABO 血型初筛错误率比较

	采血人数(人次)	错误人数(n)	错误率(%)
春季(3-5月)	15 982	65	0.41
夏季(6-8月)	16 765	90	0.54
秋季(9-11月)	17 606	56	0.32
冬季(12-2月)	17 721	61	0.34
合计	68 074	272	0.40

注: $\chi^2 = 12.260, P < 0.05$

2.3 血型初筛错误原因分析 272 例 ABO 血型初筛错误中,因疑难血型造成初筛错误 3 例(1.10%),由误判造成的错误 269 例(98.90%)。其中 269 例 ABO 血型初筛误判原因分析见表 3。

表 3 269 例 ABO 血型初筛误判分析

	误判血型	正确血型	例数(n)	比率(%)
A 抗原漏检	B	AB	13	4.83
	O	A	29	10.78
B 抗原漏检	A	AB	45	16.73
	O	B	49	18.22
A、B 抗原漏检	O	AB	2	0.74
A 抗原污染	A	O	18	6.69
	AB	B	24	8.92
B 抗原污染	B	O	19	7.06
	AB	A	26	9.67
A、B 抗原污染	AB	O	4	1.49
试剂加反或其它	A	B	19	7.06
	B	A	21	7.81
合计			269	100

3 讨论

军队血站的血液来源具有特殊性,主要为有计划地组织部队官兵团体献血,献血环境因部队驻地不同而异。血型初筛检测环境不及血站内采血环境,易受多种因素的影响。尤其是组织部队官兵献血时,献血人数多而集中,体采工作需在较短的时间内完成,血站工作人员十分忙碌,难免发生 ABO 血型初筛的误判及其它失误。据数据分析,本血站部队

团体献血时的 ABO 血型初筛检测错误率为 0.40%,高于文献报道的街头及团体采血总体初筛血型错误率 0.10% - 0.30%^[2-5],与地方团体采血初筛血型错误率为 0.18% - 0.77% 基本相符^[2,5]。本血站不同采血人数分级 ABO 血型初筛错误率比较无差异($P > 0.05$),与文献报道^[5]错误率随团体献血人数增加而升高不一致。主要原因可能为地方血站以街头献血为主,组织团体献血时,由于体采科工作人员不足需从其他岗位抽调^[5],因业务不够熟练所致。而军队血站工作人员长期身兼多职,以团体献血业务为主,献血流程安排合理,且血型初筛检测技术人员相对固定,业务熟练。同时由于部队献血人员纪律性强,现场组织较好,是血型初筛错误率未随采血人数的增加而升高的原因之一。

不同季节 ABO 血型初筛错误率比较显示,夏季发生初筛血型错误率(0.54%)高于其它季节($P < 0.05$),与文献报道夏季错误率高相一致^[3],与冬季错误率高不一致^[5]。可能是闽南地区冬季平均气温较高,与春、秋季温差不大,而夏季高温,有些部队营区室内无降温设备,献血环境不理想,多数选择在室外献血,故试剂效价易受环境温度影响。同时说明环境温度对 ABO 血型初筛检测有影响,应注意避免。

误判是发生 ABO 血型初筛错误的主要原因(98.90%)。269 例误判血型中,抗原漏检造成的误判达 51.30%,其中由 B 抗原漏检达 34.95%,可能是抗-B 效价低于抗-A,纸板法反应时间过短即判读结果所致。由抗原污染造成的误判达 33.83%,可能是在滴加试剂或红细胞时,碰溅交叉污染或混匀时纸板碎屑颗粒污染造成假凝集所致。值得注意的是因试剂反加造成的误判达 14.87%,主要是工作人员的责任心不够强所致。

ABO 血型初筛检测错误不仅带来额外的后续工作,如回溯调查、更改资料、更换献血证等,更重要的是增加供血的安全隐患。因此在组织部队团体献血工作中,工作人员要强化责任意识,严格执行血型初筛检验操作规程,认真核查检测结果,最大限度的降低血型初筛错误率,以保证临床输血安全。

参 考 文 献

- [1] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程.4 版.北京:人民卫生出版社,2015:118-126.
- [2] 冯娟.无偿献血者 ABO 血型初筛鉴定影响因素研究.临床输血与检验,2006,18(3):233-235.
- [3] 水波,李霜云.无偿献血中 ABO 血型初筛不符的原因分析及预防.临床血液学杂志,2015,28(2):149-150.
- [4] 刘丽.血型初筛错误原因分析及预防措施.临床医学工程,2012,19(5):748-749.
- [5] 郭东辉,刘衍春,王静,等.2005-2014 年献血者 ABO 血型初筛检测错误的调查与分析.中国输血杂志,2015,28(10):1275-1277.

(2016-10-25 收稿,2017-03-20 修回)

本文编辑:闻欣

合肥市无偿献血人群 HIV 筛查和确证结果及人口特征分析*

高德玉^{1,2} 周学勇² 程卫芳² 张云² 蒋菲菲² 李玲³ 管世鹤^{1Δ}

(1.安徽医科大学第二附属医院 检验科,安徽 合肥 230601;2.安徽省血液中心;3.中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所)

摘要:目的 了解合肥市无偿献血者中人类免疫缺陷病毒(HIV)流行情况和 HIV 感染者的人口特征,指导招募低危献血者,进而指导制定合适的血液筛查策略,降低经血传播 HIV 的风险。**方法** 安徽省血液中心检验科采用 1 种国产三代酶联免疫试验(ELISA)试剂和 1 种进口四代 ELISA 试剂,以及核酸检测(NAT)试剂进行 HIV 筛查,筛查反应性标本送确证实验室进行确证。统计安徽省血液中心 2014 年 1 月-2015 年 12 月 HIV 筛查呈反应性的献血者确证结果进行回顾性分析。**结果** 2 年时间内 ELISA 试剂筛查了 215 015 份标本,筛查呈反应性并送确证实验室标本 554 份,经确证阳性 41 份(均为 ELISA 双试剂反应性),确证阳性率为 7.4%;其中男性 38 例,女性 3 例;小于 30 岁的有 24 例,占 58.5%;首次献血有 32 位,占 78%。2 年时间内,NAT 筛查了 203 999 例标本,ELISA-/NAT+ 9 例,经鉴定均为阴性。**结论** 近年来合肥市无偿献血者中 HIV 感染者较高,主要集中在 30 岁以下的首次男性献血者,应做好这部分献血者的咨询工作,降低输血传播 HIV 的风险。

关键词:合肥市;献血者;HIV 抗体;确证**中图分类号:**R457.1 R446 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0523-03

Analysis on the results of screening and confirmation for anti-HIV-1/2 or HIV nucleic acid test and population characteristics in Hefei GAO Deyu^{1,2}, ZHOU Xueyong², CHENG Weifang², ZHANG Yun², JIANG Feifei², LI Ling³, GUAN Shihe¹. 1. Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China; 2. Anhui Blood Center; 3. Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College. Corresponding author; GUAN Shihe

Abstract: Objective To study epidemiological characteristics of human immunodeficiency virus (HIV) in donors and demographic characteristics of anti-HIV-1/2 reactive individuals, in order to recruit low risk blood donors, to establish a suitable blood screening strategy, and to reduce the risk of transmission of HIV through blood. **Methods** In Anhui blood center, all samples were tested by the third generation ELISA reagent and the fourth generation ELISA reagent between January 2014 and December 2015. If two ELISA test were both non-reactive, the samples were tested by NAT. The samples of one ELISA test was reactive or both ELISA reactive, the samples were tested afterward by WB. **Results** There were 215 015 samples tested by ELISA, and 554 samples were ELISA reactive. Of these, 554 donors could be classified successfully by WB: 41 true positives, 493 false positives and 20 indeterminate. Confirmation positive rate was 7.4%. Of these 41 positive donors, 38 donors were males, 3 were females; 24 donors were younger than 30 years old (58.5); 32 donors were first time donors (78%). During two years, 203 999 samples were tested by NAT, 9 samples were NAT reactive, these samples were identified negative. **Conclusion** According to the experimental results, the HIV positive rate of donors was higher. They were younger than 30 years old and first time male donors. To reduce the risk of HIV transmission through blood transfusion, consulting to this specific demographic is very important.

Key words:Hefei; donors; HIV antibody; confirmation

自 1981 年第 1 例艾滋病例报道以来,人类免疫缺陷病毒(HIV)感染已经成为严重危害人类健康的全球性威胁。由联合国艾滋病规划署的数据统计得知,截至 2015 年全球存活的艾滋病人有 3 670 万,仅 2015 年新增的艾滋感染病例就有 210 万^[1]。血液传播是 HIV 主要传播途径之一,近年来,我国 HIV 感染人群正从高危人群向一般人群扩散,这对

血液安全造成严重威胁。《血站技术操作规程》(2015 版)规定,对于 HIV 病毒感染标志物应采用核酸和血清学检测 2 种方法各进行检测,以降低输血传播 HIV 的风险^[2]。为了解合肥市无偿献血者 HIV 流行情况及献血者中 HIV 感染者的人口特征,我们对该血液中心 2014 年 1 月-2015 年 12 月筛查反应性标本确证结果人口特征进行分析,为指导招募低危献血者,进而指导制定合适的血液筛查策略提供数据支持,现报告如下。

1 材料与方

1.1 标本收集 收集 2014-2015 年安徽省血液中心所有无

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.025

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171662);Δ通信作者:管世鹤(1972.10-),男,主任技师,博士,博士生导师,主要从事临床分子生物学检验方向研究;电话:0551-63869425, Email: shiheguan@126.com

偿献血者标本,总计 215 015 份。

1.2 仪器与试剂 Hamilton Microlab Star 全自动加样仪(瑞士 Hamilton 公司), Hamilton Microlab FAME(瑞士 Hamilton 公司), Procleix TIGRIS 全自动核酸检测系统(美国诺华公司), ChiTAS BASS1200 达速自动化磁珠操作平台(上海浩源公司), ABI7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。ELISA 试剂:国产三代 ELISA 试剂(厦门新创,批号 2013076613、2013086615 等;北京万泰,批号 I20140101、I20140305 等),进口四代 ELISA 试剂(法国伯乐,批号 3F0259、3H0265 等;英国索灵,批号 D268210、D278610 等);NAT 检测试剂:美国诺华公司,批号 624775、631036 等;PCR-荧光法,上海浩源公司,批号 MF20140103、MF20140205 等)。

1.3 方法 每份献血者标本分别进行 2 遍 ELISA 检测,如果 2 遍 ELISA 结果均为非反应性,进一步做核酸检测(NAT);如果 2 遍 ELISA 均为反应性或者任意 1 遍为反应性,则不做核酸。ELISA 反应性和 NAT 反应性标本进一步做确证实验(蛋白免疫印迹, WB)。对于 ELISA 试剂,2014 年主要是新创和伯乐联合使用,2015 年主要是万泰和索灵联合使用。核酸试剂是 2 种试剂轮流使用,每周轮换 1 次。所有确证阳性的献血者进行人口特征分析。本研究的标本检测方案见图 1。

1.4 结果判定 新创三代 ELISA 试剂 S/CO ≥ 0.5 判为反应性,万泰三代 ELISA 试剂 S/CO ≥ 0.5 判为反应性,伯乐四代 ELISA 试剂 S/CO ≥ 0.8 判为反应性,索灵四代 ELISA 试剂 S/CO ≥ 0.85 判为反应性;浩源 PCR-荧光法核酸检测试剂 CT ≤ 45 判为反应性,诺华 TMA-化学发光法核酸检测试剂 S/CO ≥ 1 判为反应性。图 1 中所有报告反应性结果的血液检测结果判为不合格,血液报废,献血者屏蔽。其中,诺华 TMA-化学发光法核酸检测联检反应性就判定血液检测结果不合格,而不考虑鉴别实验的最终结果。

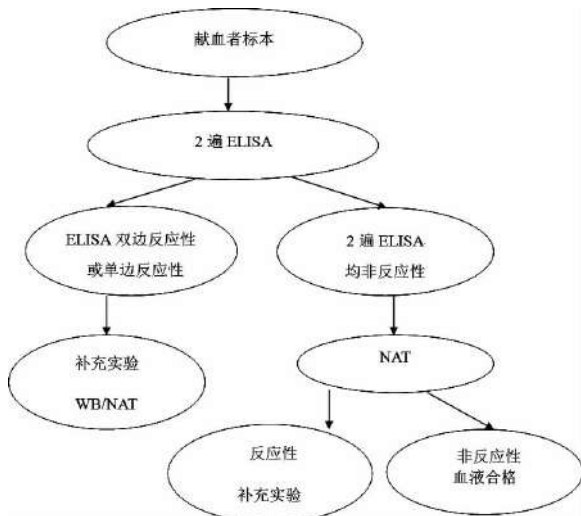


图 1 献血者标本筛查和确证检测方案

2 结果

2.1 无偿献血者 HIV 筛查结果 在 2014-2015 年,共收集有 215 015 份献血者标本,全部做 ELISA 检测,其中有 203 999 份标本做了核酸检测。具体结果见表 1。

表 1 2014-2015 年无偿献血者 HIV 筛查结果

	检测量		ELISA 双 反应性	ELISA 单边 反应性	ELISA-/ NAT+
	ELISA	NAT			
2014 年	98 721	94 076	17	176	5
2015 年	116 294	109 923	32	329	4
总计	215 015	203 999	49	505	9

注:本中心的检测策略是先做 ELISA 和 ALT,如果 HBV、HCV、HIV、梅毒或 ALT 中任何 1 项为反应性,则不再做核酸检测。本文中只介绍了 HIV ELISA 反应性的结果,所以总的 ELISA 检测数量大于核酸检测数量加上 ELISA 检测 HIV 反应性的数量

2.2 HIV 初筛反应性标本的补充实验结果 如果 2 遍 ELISA 结果均为非反应性,进一步做核酸检测(NAT),有 9 份标本检测结果是 ELISA 非反应性,NAT 反应性。对于这 9 份标本做进一步分析,其中有 4 份标本为混检 HBV DNA 反应性,拆分为 HIV RNA 反应性,经重复检测,均为 HIV RNA 非反应性,这 4 份标本考虑为核酸假反应性(这 4 份标本均用浩源试剂检测);有 2 份混检为 HIV RNA 反应性的标本,再用原标本和辩条标本重复核酸检测,结果均为非反应性,进一步追踪标本做核酸检测,结果均为非反应性,考虑这 2 份标本的最终结果为核酸非反应性,即最初的核酸结果为假反应性(这 2 份标本均用浩源试剂检测);另外 3 份标本初检是诺华试剂,结果为反应性,后用浩源试剂复检,均为非反应性,由于这 3 份标本均为诺华试剂刚升级之后所检测,怀疑是灵敏度提高造成的假反应性,因此最终考虑这 3 份标本的核酸结果为非反应性。49 份 2 遍 ELISA 均为反应性标本和 505 份 ELISA 单边反应性标本进一步做确证实验(蛋白免疫印迹, WB),确证阳性 41 例,确证阳性率为 7.4%(表 2)。

表 2 ELISA 反应性标本的确证结果

WB 结果		ELISA 双反应性	ELISA 单边反应性
		阳性	41
阴性		4	489
不确定		4	16
合计		49	505

1.3 HIV 确证阳性献血者的人口特征分析 对 41 位确证抗-HIV 阳性的献血者的资料进行分析,包括性别、年龄和献血次数等(表 3,4)。

表 3 2014-2015 年 HIV 确证阳性的无偿献血者情况

	性别		年龄(岁)				献血次数	
	男	女	≤30	31-40	41-50	≥51	首次献血	重复献血
2014 年	13	0	6	4	2	1	11	2
2015 年	25	3	18	5	5	0	21	7
合计	38	3	24	9	7	1	32	9

表 4 确证 HIV 感染者的人口学特征 (n,%)

	HIV 阳性
性别	男 38(92.7) 女 3(7.3)
常住地	本地 9(21.96) 外地 32(78.04)
献血次数	首次 9(21.96) 重复 32(78.04)
职业	学生 8(19.5) 职员 9(21.95) 农民 2(4.9) 其他 22(53.65)
学历	研究生 1(2.44) 大学 17(41.46) 中学 22(53.65) 其他 1(2.44)

3 讨论

近年来,为了提高血液安全,国家相关部门采取了多种措施,包括更新《血站技术操作规程》(2015 版)、增加核酸检测等^[2-3],目的是尽可能的降低输血传播病原体的风险。但是由于检测试剂的灵敏度有限、存在着检测的“窗口期”以及以检测为目的而献血(HIV-*seek*)人群的增加等因素,使得献血人群中 HIV 感染人数仍然居高不下。为了减少因“窗口期”感染或者 HIV-*seek* 传播 HIV 的发生,有必要对高危献血者进行宣传教育,告知其献血风险,进而招募低危献血者献血。

我们通过对 2014-2015 年合肥市无偿献血者的感染情况分析,发现筛查反应性的标本中,确证阳性率是 7.4%,高于郑州市和贵港市报道的筛查反应性标本的确证阳性率(4.5%-5.6%)^[4-5],显示合肥地区无偿献血者人群中感染 HIV 的风险很高,这给本地区的血液安全工作带来极大的挑战。

经对 HIV 确证阳性的献血者资料分析显示,41 位阳性献血者中,男性有 38 位,女性 3 位,男性显著多于女性;从年龄分布来看,小于 30 岁的有 24 位,占 58.5%;从献血次数来看,首次献血有 32 位,占 78%,显著高于重复献血者。本文分析结果显示,年龄在 30 岁以下的首次男性献血者,属于高危人群,在做献血者咨询时,针对这类人群应该更多的给与

关注,加强对献血前的健康征询的管理,最大限度的排除高危献血者。同时,血站在进行招募宣传时,应注重“窗口期”风险的宣传,告知献血者以检测的为目的的献血可能会带来的种种危害,并告知献血正确的检测途径,以期降低输血传播 HIV 的风险,提高血液安全。

参考文献

- [1] UNAIDS. The Global HIV/AIDS Epidemic. [2016.8.5] 2016. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-update-2016_en.pdf
- [2] 国家卫生和计划生育委员会.血站技术操作规程,卫医政发[2015].2015.
- [3] 国家卫生和计划生育委员会.国家卫生和计划生育委员会关于印发全面推进血站核酸检测工作实施方案(2013—2015 年)的通知.2013.
- [4] 李伟华,王莉,刘玉振.2002-2007 年郑州市无偿献血人群 HIV 初筛与确认结果分析.解放军预防医学杂志,2010,2(28): 116-117.
- [5] 黄新宝,杨坤,李聚林.贵港市 2005-2010 年无偿献血者抗-HIV 检测结果分析.中国输血杂志,2012,25(1):53-54.

(2016-10-05 收稿,2017-03-11 修回)

本文编辑:闻欣

· 论著 ·

核酸检测 HBV DNA 阳性献血者的追踪检测结果分析

来祝標 韩惠云 张国平(焦作市中心血站,河南焦作 454000)

摘要:目的 调查 ELISA 检测合格献血者的核酸检测结果,并对 NAT 阳性献血者追踪检测,为保证临床输血安全提供依据。**方法** 经 2 种 ELISA 试剂检测合格的献血者血液标本,采用上海浩源核酸检测系统进行 8 人份混样检测,混检反应性的标本进行拆分,以拆分结果为最终报告结果,并对 NAT 阳性献血者追踪检测。**结果** 1)采集的 40 496 份献血者标本中,ELISA 检测合格标本 40 189 份,不合格标本 307 份。2)ELISA 检测合格的 40 189 份标本中共检出 HBV DNA 阳性 22 例,未检出 HCV RNA、HIV-1 RNA 阳性标本。3)已完成 17 例 HBV DNA 阳性献血者的追踪检测,其中 14 例为隐匿性 HBV 感染,未发现“窗口期”感染的献血者。**结论** 1)2 遍 ELISA 检测后仍存在输血感染风险,增加 NAT 检测可进一步提高临床输血安全水平。2)追踪调查显示,HBV DNA 阳性献血者中以 OBI 为主,为输血残余风险的主要原因。

关键词: 核酸检测;献血者;追踪;隐匿性感染;HBV

中图分类号: R446.11+2 R373.2+1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0525-04

Analysis of the results on tracking assay of the blood donors with positive HBV DNA in nucleic acid test LAI Zubing, HAN Huiyun, ZHANG Guoping. Jiaozuo Blood Center, Jiaozuo 454000, China

Abstract: Objective To provide a basis for the safety of clinical blood transfusion through termly tracking assay of the blood donors whose nucleic acid test (NAT) are positive, but negative in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Methods** After the collections of blood donors' specimen, they were assayed using two kinds of ELISA reagent. The eligible ones were assayed by 8 specimens in one group using Shanghai Grandsoo's nucleic acid test system. The reactive ones in the mixed test would be divided to be further tested, and the divided result would be the final report result, then termly tracking assay would be prepared for those blood donors whose NAT were positive. **Results** Among the 40 496 specimens from the blood donors, 40 189 were eligible in ELISA, and 307 were ineligible. From the 40 189 specimens eligible in ELISA, 22

were found to be HBV DNA positive. There was no specimen that

were HCV RNA and HIV-1 RNA positive. Tracking jobs were accomplished for 17 blood donors whose HBV DNA were positive, among which 14 were occult hepatitis B virus infections. There was no “window period” infection from blood donors.

Conclusion There is still risk of blood transfusion after double ELISA. The safety level of clinical blood transfusion can be raised through NAT implementation. The tracking survey shows that OBI is predominant in HBV DNA positive blood donors. This is the main cause for the residual risk found in blood transfusion.

Key words: nucleic acid test; blood donors; tracking; occult infection; HBV

核酸扩增检测技术(NAT)具有高度的敏感性和特异性,可检测出标本中极微量的病毒核酸,显著缩短病毒的“窗口期”^[1],发现血清学检测无法检出的潜在感染,从而减少输血风险,提高血液安全水平。按照国家卫计委、财政部联合发布《关于做好血站核酸检测工作的通知》(国卫办医发[2015]11号)，“全面推进血站核酸检测工作,确保2015年血站核酸检测覆盖全国”的文件精神。2015年6月1日,焦作市中心血站实现了对献血者血液标本核酸检测的全覆盖,在原有两种不同的ELISA试剂对献血者血液标本进行两次检测的基础上,对所有ELISA法无反应性献血者血液标本进行HBV DNA、HCV RNA、HIV-1RNA联合检测,并对NAT阳性献血者进行追踪检测,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2015年6月1日-2016年5月31日采集的无偿献血者血液标本,每位献血者留取3管标本:带分离胶EDTA-K₂抗凝真空采血管(1支5mL)用于核酸检测,EDTA-K₂和肝素钠抗凝真空采血管(各1支,每管5mL)用于ELISA、ALT和血型检测。所有标本均严格按照《血站技术操作规程(2015版)》采集、保存。

1.2 试剂与仪器 HBsAg ELISA检测试剂(法国Bio-Rad公司和北京万泰),抗-HCV ELISA检测试剂(珠海丽珠和北京万泰),抗-HIV ELISA检测试剂(珠海丽珠和法国Bio-Rad公司)、抗-TP检测试剂(珠海丽珠和北京万泰);HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc ELISA检测试剂盒(珠海丽珠);HBV DNA、HCV RNA、HIV-1RNA核酸检测试剂盒(PCR荧光法)(上海浩源生物科技有限公司)。酶免试剂均经中国药品生物制品检定所批检合格,核酸试剂有上海浩源生物科技有限公司提供的出厂质量检验报告合格证明,均在有效期内使用。Uranus AE 200全自动酶免分析仪(深圳爱康公司),ChiTas BSS1200全自动核酸纯化仪(上海浩源生物科技有限公司),ABI 7500实时荧光定量PCR系统(美国ABI公司),TDL5B台式大容量低温离心机(长沙英泰公司)。

1.3 ELISA检测 由不同的检验人员采用2种试剂使用不同的设备进行2遍ELISA项目(HBsAg、抗-HCV、抗-HIV1/2、抗-TP)平行检测,并完成ALT和血型检测,均按试剂说明书进行操作,4项检测s/co值≤0.7为无反应性;s/co值0.7-1.0为灰区,判为弱反应性;s/co值≥1.0为有反应性。双试剂有反应性的标本总结论为不合格。单试剂有反应性及单、双试剂弱反应性标本均采用原试剂对原标本管和对应辩管标本进行双孔复试。复试孔均无反应性判为合格,任1孔弱反应性或有反应性均判为不合格。

1.4 NAT检测 采用上海浩源核酸检测系统对2遍ELISA

检测均合格的献血者核酸标本进行8人份混样检测,每批检测均设置阴、阳性对照及室内质控各1个pool,混检结果无反应性的pool判为NAT阴性,有反应性的pool进行拆分,拆分无反应性的判为NAT阴性,拆分有反应性的判为NAT阳性。

1.5 NAT阳性献血者的追踪 目前只发现HBV DNA阳性结果,追踪周期自献血者献血之日起,每间隔1个月对HBV DNA阳性献血者追踪检测1次,共3次。嘱献血者到就近采血点留取标本,每次采集1支酶免、2支核酸标本,乙肝5项与核酸检测同时进行。

1.6 追踪检测结果的判定 3次追踪检测期间血清学乙肝5项与核酸检测均阴性则认为追踪阴性;HBsAg阴性转阳性和/或任一次HBV DNA阳性即可认为追踪阳性;单纯抗-HBc阳性或抗-HBc伴抗-HBs阳性即血清学阳性OBI^[2],也判为追踪阳性。

2 结果

2.1 ELISA检测结果 2015年6月1日-2016年5月31日共采集献血者标本40496份,其中合格标本40189份,不合格标本307份。

2.2 NAT检测结果 2遍ELISA检测均合格的40189份献血者标本经核酸检测,拆分出HBV DNA阳性22例,阳性反应率0.055%,未发现HCV RNA、HIV-1 RNA阳性标本。

2.3 HBV DNA阳性献血者的追踪 对22例HBV DNA阳性献血者反馈告知并进行追踪检测,已完成追踪17例,乙肝5项和核酸HBV DNA检测结果见表1-3,追踪检测结论见表4。

表1 17例HBV DNA阳性献血者的第1次追踪检测结果

	HBV DNA		乙肝5项				
	结果	Ct值	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
第1例	-		-	-	-	-	-
第2例	-		-	-	-	-	-
第3例	-		-	-	-	-	-
第4例	-		-	-	-	-	+
第5例	-		-	-	-	-	+
第6例	-		-	+	-	-	-
第7例	+	37.2	-	±	-	-	-
第8例	-		-	-	-	-	-
第9例	+	36.3	-	-	-	-	-
第10例	+	36.53	-	-	-	-	-
第11例	+	40.7	-	-	-	-	+
第12例	-		-	-	-	-	+
第13例	+	38.7	-	+	-	+	+
第14例	+	39.2	-	-	-	-	+
第15例	+	35.7	-	-	-	-	+
第16例	+	37.8	-	-	-	-	+
第17例	-		-	-	-	-	+

表 2 17 例 HBV DNA 阳性献血者的第 2 次追踪检测结果

	HBV DNA		乙肝 5 项				
	结果	Ct 值	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
第 1 例	-		-	-	-	-	-
第 2 例	-		-	-	-	-	-
第 3 例	-		-	-	-	-	-
第 4 例	-		-	-	-	-	+
第 5 例	-		-	-	-	-	+
第 6 例	+	39.5	-	+	-	-	-
第 7 例	+	36.2	-	-	-	-	-
第 8 例	+	38.5	-	-	-	-	-
第 9 例	+	38.2	-	-	-	-	-
第 10 例	+	35.7	-	-	-	-	-
第 11 例	+	37	-	±	-	-	+
第 12 例	-		-	-	-	-	+
第 13 例	+	38.1	-	+	-	+	+
第 14 例	+	36.66	-	-	-	-	+
第 15 例	+	34.1	-	-	-	-	+
第 16 例	+	36.2	-	-	-	-	+
第 17 例	-		-	-	-	-	+

表 3 17 例 HBV DNA 阳性献血者的第 3 次追踪检测结果

	HBV DNA		乙肝 5 项				
	结果	Ct 值	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
第 1 例	-		-	-	-	-	-
第 2 例	-		-	-	-	-	-
第 3 例	-		-	-	-	-	-
第 4 例	-		-	-	-	-	+
第 5 例	-		-	-	-	-	+
第 6 例	-		-	+	-	-	-
第 7 例	+	36.04	-	±	-	-	-
第 8 例	+	38.9	-	-	-	-	-
第 9 例	+	38.2	-	-	-	-	-
第 10 例	+	34.1	-	-	-	-	-
第 11 例	+	35.0	-	±	-	-	+
第 12 例	+	38.2	-	-	-	-	+
第 13 例	+	38.0	-	+	-	+	+
第 14 例	+	36.19	-	-	-	-	+
第 15 例	+	35.4	-	-	-	-	+
第 16 例	+	37.7	-	-	-	-	+
第 17 例	+	39.6	-	-	-	-	+

表 4 17 例 HBV DNA 阳性献血者的追踪检测结论

	HBV DNA	乙肝 5 项				
		HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
第 1 例	-	-	-	-	-	-
第 2 例	-	-	-	-	-	-
第 3 例	-	-	-	-	-	-
第 4 例	-	-	-	-	-	+
第 5 例	-	-	-	-	-	+
第 6 例	+	-	+	-	-	-
第 7 例	+	-	±/-	-	-	-
第 8 例	+	-	-	-	-	-
第 9 例	+	-	-	-	-	-
第 10 例	+	-	-	-	-	-
第 11 例	+	-	-/±	-	-	+
第 12 例	+	-	-	-	-	+
第 13 例	+	-	+	-	+	+
第 14 例	+	-	-	-	-	+
第 15 例	+	-	-	-	-	+
第 16 例	+	-	-	-	-	+
第 17 例	+	-	-	-	-	+

3 讨论

采用核酸扩增检测技术对 40 189 例 2 遍 ELISA 检测均合格的献血者核酸标本进行 HBV DNA、HCV RNA、HIV-1 RNA3 项联检,结果发现 22 例 HBV DNA 阳性,阳性反应率为 0.055%,符合我国乙肝病毒感染为主的现状,但远低于东莞和常州报道的 0.09%、0.1%^[3-4],也低于济南报道的 0.067%^[5]。可能的原因为:1)我国乙肝病毒感染存在地区差异;2)不合格标本的判定标准不同,如“灰区”的设置不同,导致进入核酸检测流程的标本存在差异;3)检测试剂与检测模式的不同导致的差异。未发现 HCV RNA、HIV-1 RNA 阳性标本,与大多数报道基本一致^[6]。

通过对 17 例 HBV DNA 阳性献血者的追踪检测情况来看,17 例 HBV DNA 阳性献血者中有 3 例追踪阴性和 14 例追踪阳性。3 例追踪阴性献血者经连续 3 次检测后,乙肝五项与 HBV DNA 检测均阴性,因未做进一步的鉴定,尚不能判定这 3 例属于 NAT 检测假阳性或者是追踪期间献血者体内病毒载量太低导致难以检出。14 例追踪阳性包括 2 例(第 4 例和第 5 例)单纯血清学抗-HBc 阳性和 12 例(第 6-17 例)HBV DNA 阳性。单纯血清学抗-HBc 阳性既是献血者存在既往 HBV 感染的标志,也提示隐匿性 HBV 感染(OBI)的可能^[7]。12 例 HBV DNA 阳性有 3 例(第 8、第 9、第 10 例)乙肝 5 项全阴性、2 例(第 6 例和第 7 例)单纯抗-HBs 阳性/弱阳性、7 例(第 11-17 例)抗-HBc 阳性(其中 1 例(第 13 例)伴抗-HBs、抗-HBe 阳性)。由于未做更长时间追踪,3 例乙肝 5 项检测全阴性,并不排除病毒感染后仍处于“窗口期”状态或血清学检测均阴性的隐匿性感染。单纯抗-HBs 阳性/弱阳性,有报道可有此反应模式出现,注射乙肝疫苗后仍有可能感染 HBV 或在低滴度抗-HBs 献血者中也会存在此感染模式^[8]。7 例抗-HBc 阳性伴有或不伴有抗-HBs、抗-HBe 阳性,出现的可能原因是 HBV 的 S 基因、X 基因变异导致 HBV 低水平复制或为 HBsAg 阴性的慢性无症状 HBV 携带者^[1]。

经过连续 3 次的跟踪检测,未发现 HBsAg 由阴性转为阳性的献血者。因此,我们认为在 HBsAg 阴性而 HBV DNA 阳性的献血者中,以 HBV 隐匿性感染为主,主要是由于抗病毒治疗的应用和乙肝疫苗接种的普及,病毒变异增加,导致 HBsAg 的合成降低或其结构改变,或病毒复制和表达受抑制等原因,使得我国人群中隐匿性 HBV 感染比例较高^[9],这也是经输血传播 HBV 的主要残余风险。但由于跟踪检测例数较少且时间周期较短,需进一步加大检测量、延长跟踪检测周期并完善实验室确证手段,积累数据进行更深入的研究。

《血站技术操作规程(2015 版)》明确规定,实施核酸检测批签发之后,HIV、HBV 和 HCV 感染标志物应采用核酸和血清学检测 2 种方法各进行 1 次检测^[10]。已将 NAT 检测作为血液常规筛查方法。目前,新的检测模式正处于转换之时,部分采供血机构核酸检测工作刚刚起步,如何实现检测模式的顺利转换并保证血液质量与安全,是我们下一步工作的重点。我们的调查结果表明,单纯使用 ELISA 法进行 2 遍检测,仍存在漏检的风险,特别是 HBV 的感染风险。引入 NAT 和 ELISA 法联合检测后,两种检测方法可以互补防漏,

进一步提高临床输血安全水平。

参 考 文 献

[1] 冯秋霞,许雷,杨忠思,等. 青岛地区核酸检测技术在血液筛查中的应用研究. 中国输血杂志,2013,26(7):632-634.

[2] 孔令娜,秦波. 隐匿性乙型肝炎病毒感染流行病学研究进展. 中华流行病学杂志,2013,34(8):844-848.

[3] 师玲玲,刘赴平,王德文,等. 核酸检测技术在献血者血液筛查中的初步应用. 中国输血杂志,2010,23(1):11-13.

[4] 何亚琴,张建伟,杨爱龙,等. 核酸检测技术在常州地区献血筛查中的应用. 中国输血杂志,2011,24(7):560-562.

[5] 朱永宝,张妍,李英莲,等. 2010-2012 年济南地区无偿献血者核酸检测结果分析. 中国输血杂志,2013,26(8):722-724.

[6] 嘉琳,黄志森,王德文,等. COBAS S201 核酸检测系统在献血者血液筛查中的应用. 中华实验和临床病毒学杂志,2010,24(4):311-313.

[7] 曹晓,曹庆宝,李杰,等. 核酸检测技术在唐山地区献血者血液筛查中的应用. 检验医学与临床,2014,11(5):634-635.

[8] 段勇,郭逸,叶世辉. 病毒核酸检测技术在西安地区血液筛查中的应用分析. 中国输血杂志,2014,27(8):842-844.

[9] 邓雪莲,安万新,梁晓华,等. 大连市血液中心血清学检测与核酸检测并行的效果观察. 中国输血杂志,2012,25(1):38-40.

[10] 国家卫生计生委. 血站技术操作规程,2015 版. 2015-12-17.

(2016-10-25 收稿,2017-03-29 修回)

本文编辑:李弘武

· 论 著 ·

嘉兴市梅毒反应性献血者归队的可行性研究

徐利强 李建华 王日春 孙亚云 张瑜 倪修文(嘉兴市中心血站,浙江 嘉兴 31001)

摘要:目的 探索建立嘉兴市梅毒(syphilis)反应性献血者归队检测方法,研究制定本市梅毒反应性献血者归队策略。**方法** 对梅毒反应性献血者进行跟踪随访,在检验结果反应性暂时屏蔽一定时间(≥6个月)后将他们召回,采集血液标本,进行梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)和 TP DNA 的检测,对结果进行分析,对复检结果符合现行国家标准《献血者健康检查要求》的献血者实施归队处理。**结果** TP-ELISA 检测 53 531 例献血者标本,其中 ELISA 双试剂阳性 317 例,TP-ELISA 单试剂阳性标本 217 份,经 TPPA 试验阴性或不确定 120 份,联系到 72 例,实际前来血站检测 28 例。28 例献血者半年后检测结果全部阴性,可以归队。**结论** 建立了嘉兴市梅毒反应性献血者归队检测方案,对复检结果符合现行国家标准《献血者健康检查要求》的献血者实施归队处理(可以归队献血者 28 例)。探讨制定了本市梅毒反应性献血者归队策略,对于消除永久屏蔽对假阳性献血者身心造成的压力和伤害,缓解血液供需之间的矛盾,减少长期固定献血者的流失具有重大意义。

关键词:梅毒反应性;献血者;归队;可行性

中图分类号:R193.3 R446 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0528-03

The feasibility study of reentry for blood Syphilis reaction donors in Jiaxing Xu Liqiang, Li Jianhua, Wang Lichun, Sun Yayun, Zhang Yu, Ni Xiuwen, Jiaxing Central Blood Station, Jiaxing 314001, China

Abstract: Objective To establish a method for the detection of syphilis reactive blood donors in Jiaxing, study the strategies for the reentry of syphilis reactive blood donors. **Methods** The blood donors of syphilis reaction were followed up, and recall after testing of a certain period of time (≥6 months). Blood samples were collected for ELISA, Treponema pallidum enzyme (TP-ELISA), Treponema pallidum particle agglutination test (TPPA) and TP DNA. Analyze the results and reentry blood donors whose results in line with the implementation of the current national standard "whole blood and component donor selection requirements". **Results** 53 531 samples of blood donors were detected by TP-ELISA, including 317 pairs of positive ELISA reagents, 217 single positive samples of TP-ELISA, 120 negative or 28 cases of TPPA test, 72 cases can be contacted, 28 cases came to the blood station actually whose test results were all negative and could be reentered to the team after 28 months. **Conclusion** The establishment of reentry scheme for syphilis reactive donors in Jiaxing City, which can reentry blood donors who was in line with the implementation of the current national standard "whole blood and component donor selection requirements" (28 cases reentry), and explored the reentry strategy for syphilis reactive blood donors in Jiaxing city. It is of great significance for eliminating the pressure and injury of permanent shielding caused by false positive donors, relieving the contradiction between blood supply and demand, and reducing the loss of long-term fixed blood donors.

Key words: Syphilis reactivity; Blood donors; Reentry;

feasibility

目前国内采供血机构对献血者血液筛查经血传播感染的检测项目和模式的模式,主要以选择 2 个不同生产厂家的 ELISA 试剂检测为主。由于灵敏度越来越高的 ELISA 检测试剂应用于低危健康人群检测,血液的质量和安全性得到了很好的保障,但假阳性结果在不断增加。对于那些因试剂等原因产生的结果假阳性而被永久屏蔽的献血者来说,在心理上和生理上势必是一种沉重的打击^[1]。同时也造成了一部分长期固定献血者的流失,对无偿献血工作产生了一定的负面影响。我们对梅毒反应性献血者进行跟踪随访和复检,集中进行 ELISA、TPPA 和 TP DNA 的检测,对结果进行分析,对复检结果符合现行国家标准《献血者健康检查要求》的献血者实施归队处理,制定全市梅毒反应性献血者归队策略,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2013-2014 年嘉兴市献血者(包括市本部和海盐采供血点)共 53 531 人。

1.2 试剂和仪器 真空采血管(5 mL,用于酶免检测);真空采血管(8 mL 含 EDTA-K2 抗凝剂且带分离胶,用于核酸检测);TP-ELISA 试剂盒(北京万泰生物药业公司、英科新创科技有限公司);TPPA 试剂盒(日本富士瑞必欧株式会社);TP 核酸测定试剂盒(批号:P20150701,荧光 PCR 法,上海之江生物科技股份有限公司);Xantus 全自动加样器(瑞士 Sias 公司);FAMI 全自动酶免分析仪(瑞士哈美顿公司);荧光定量 PCR 仪(美国 ABI7500)。

1.3 献血者告知

1.3.1 告知内容 检测反应性结果、检测反应性原因、不同检测反应性归队的原则、流程、归队处理后可能的结论(永久屏蔽、待复查等)、是否愿意献血者归队及确认方式、归队过程要求等。

1.3.2 告知方式 对暂时屏蔽的部分献血者进行电话联系,在征得献血者同意后,对来站符合暂时屏蔽间隔时间的献血者进行健康征询和采集血液样本,进行 2 种 ELISA 试剂和 TPPA 的检测,检测结果均阴性的献血者再作 TP DNA 检测,对符合献血者归队的对象,再以电话的形式,告知献血者。

1.4 献血者归队确认

1.4.1 献血者归队条件 根据检测方案设计,初次筛查中 2 种 ELISA 试剂检测 1 侧阳性且经 TPPA 确认结果阴性或不确定的献血者屏蔽 6 个月后,符合献血者召回复检条件;复检中同时用 2 个厂家 ELISA 试剂和 TPPA 试剂检测结果全部阴性且经 TP DNA 检测结果阴性的献血者,符合献血者归队条件。

1.4.2 献血者归队检测申请 符合献血者召回复检条件的献血者填写《献血者归队健康征询表》和《献血者知情同意书》,进行相应的健康征询,并告知原检测情况、归队的体检征询、血液标本采集、检测的流程、检测时间、告知方式和归队检测后可能会出现预期结果等。抽取 2 管血标本,连同《献血者归队健康征询表》和《献血者知情同意书》一起由检

测实验室暂存。

1.5 检测方案设计 见图 1。

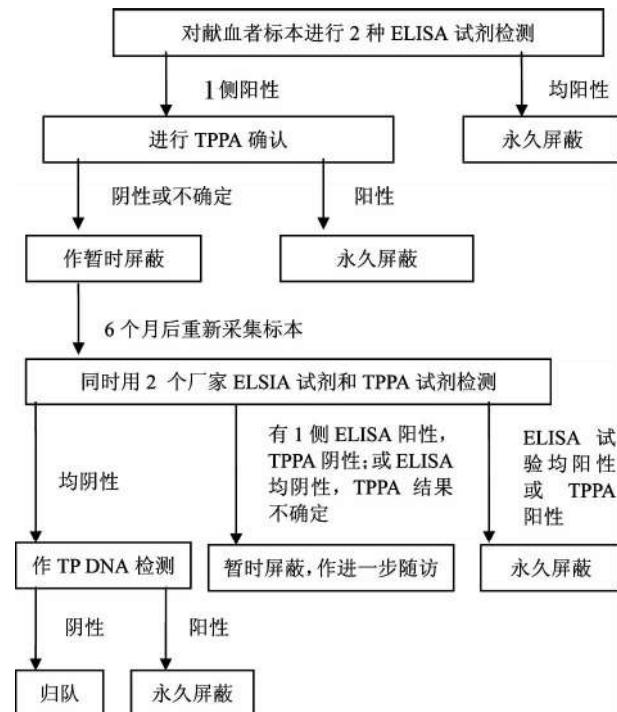


图 1 检测方案设计流程图

2 结果

TP-ELISA 检测 53 531 例献血者标本,其中双阳性 317 例,单阳性标本 217 例经 TPPA 试验 97 例阳性,TPPA 试验阴性或不确定暂时屏蔽的献血者共 120 例,半年后(自 2015 年 7 月份开始)联系到部分献血者共 72 例,实际来站献血者 28 例,经检测结果全部阴性,可以归队。经统计,归队献血者例数(28 例)占梅毒反应性献血者例数(317 例+217 例)比例为 5.24%。

3 讨论

梅毒是由苍白螺旋体(*Treponema pallidum*, TP)感染引起的慢性传染性疾病,其主要传播途径有性传播、血液传播和母婴传播 3 种^[2]。因此,梅毒检测的准确性在血液质量和安全起着重要的作用。近年来我国梅毒的发病率呈逐年上升趋势^[3],这就给血液检测工作造成了很大压力。采供血机构不仅要降低梅毒经输血传播的风险^[4],还要对献血者检测结果进行科学合理的解释,使阳性献血者早发现、早治疗。

献血者归队是证明已被屏蔽的献血者符合献血者健康检查要求,准许其再次献血的程序,该程序适用于检测结果为假阳性、尤其是需要经过一段时间后做其他血清学试验和 NAT 试验以检出血清阳转的献血者^[5]。众所周知,国际上很多国家已经开展献血者归队相关工作,除了对血液筛查不合格结果进行确证外,还对假阳性献血者实行归队政策,即对部分血液筛查不合格的献血者经过一定屏蔽期后召回再次筛查,并允许合格的献血者再次参加献血^[6,7]。当然,由于任何 1 种试验或试剂均存在灵敏度和特异性问题,不能单纯确

定其中任何 1 种试验阴性来决定献血者的归队和永久淘汰问题,应综合考虑献血者实际情况,基本原则是只要能确定献血者无 TP 感染或非携带者,即可归队。但在我国现行法规中只要求血站实验室对献血者血液检测单试剂有反应判定为不合格,对应的血液及由其制备的所有成分应隔离并报废,将血液标本转送相关实验室做进一步确证或补充试验,且未明确规定如何进一步确证或补充试验,确证时间间隔、方法和流程以及确证合格后是否可以继续献血^[8]。2013 年 9 月中国输血协会血液质量管理委员会发布了《反应性献血者屏蔽与归队指南》和《血液安全预警指南》,为基层血站解决献血者归队标准化和规范化提供了参考指导。

目前梅毒最常用的检测方法仍是血清学检测,多为特异性抗体与非特异抗体联合检测。选择检测方法需要考虑所处的梅毒病程阶段和样本类型, I、II 期梅毒可选择的检测方法较多,血液标本可进行血清学方法的检测,《反应性献血者屏蔽与归队指南》建议采用 ELISA 方法作为梅毒抗体筛查试验,采用 TPPA 或 TPHA 作为确证试验。但由于梅毒血清固定,血清学检测结果价值存在一定限制;伴发艾滋病的梅毒、神经梅毒等血清学方法检测也受到限制,使用核酸检测技术可能得到更可靠的结果^[9],所以在检测方案的设计中,本站在血清学方法(TP-ELISA、TPPA)检测后,又对阴性结果采用了分子生物学方法(荧光 PCR 法)检测核酸,从检测结果看,TPPA 法与荧光 PCR 法检测结果均为一致,说明采用 TPPA 作为确证试验检测结果可靠,没有必要再增加 1 遍核酸检测。

本课题目的就是通过对梅毒反应性献血者的跟踪随访和复检,对那些检验结果符合献血者健康检查要求的让其归队,重新参加献血。这样在不影响血液质量和安全的前提下,既可以消除永久屏蔽对献血者身心造成的压力和伤害,又可以在一定程度上缓解血液供需之间的矛盾。本站在进

行献血者再次召回筛查、归队、再屏蔽等环节时探索建立了科学的程序,献血者归队告知的检测结果真实有效,确保血液检测安全和献血者自身权益得到保障,负责告知的血站工作人员均为经过培训,并取得授权的相关医务人员。告知方式明确,告知的全过程都进行了记录、保存、可追溯。同时,对永久屏蔽的对象,做好献血者的解释和咨询工作,并指导献血者进一步检查或治疗。

参 考 文 献

- [1] 杨桂芳,范恩勇,孙海英.单侧 ELISA 法试剂阳性献血者归队可行性研究.实用临床医药杂志,2013,17(24):174-175.
- [2] 毛远丽,陈霖.梅毒检测方法的现状.中华检验医学杂志,2013,36(10):883-886.
- [3] Tucker JD, Chen XS, Peeling RW. Syphilis and social upheaval in China. N Engl J Med, 2010, 362(18): 1658-1661.
- [4] 赵艳梅,周子,曹红荣,等.徐州市无偿献血者梅毒 ELISA 和 TPPA 检测结果分析.临床输血与检验,2012,14(3):255-257.
- [5] 郭永建,姚凤兰,林授,等. HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血者屏蔽与归队指引(上).中国输血杂志,2011,24(1):79-84.
- [6] Zou S, Mussvi F, Notari EP, et al. Do not defer and resulting donor loss at the American Red Cross Blood Services, 2001 through 2006. Transfusion, 2008, 48(12): 2531-2539.
- [7] 刘宇宁,蔡菊英,刘晓音.血液筛查 HBsAg、抗-HCV 假阳性献血者归队的调查分析.中国输血杂志,2012,25(3):260-262.
- [8] 庞栋,张翔,申卫东,等.南宁市无偿献血者归队策略及影响因素.中国输血杂志 2015,28(5):571-573.
- [9] 文海燕,张华荣,陈证明,等.梅毒检测方法的研究进展.中国皮肤性病学杂志 2012,26(4):354-356.

(2015-09-20 收稿,2017-05-20 修回)

本文编辑:李宜蔓

血型基因检测开放平台

本中心致力于非传染性输血安全和中国人群血型分子遗传背景研究,建立了血型血清学和分子遗传学血型基因检测平台。可接受疑难血型标本鉴定、RhD(-)供者库中的 D 变异体排查以及稀有血型的确认。欢迎送检标本或科研合作等方式与本中心联系!

联系电话:028-61648522

联系人:田力 宋宁

中国医学科学院 输血研究所 临床输血研究中心 血型研究室

深圳市宝安区适龄人群无偿献血认知情况及影响因素调查分析*

张健 郑欣[△] 刘晋洪 罗配芳 何作萍 张静航 罗晓婷(深圳市宝安区中心血站,广东深圳 518000)

摘要:目的 了解本地区适龄人群对无偿献血相关问题知晓情况及参与献血的意向,为开展无偿献血宣传招募新模式,制定新策略提供科学依据。**方法** 2015 年 10 月-2016 年 8 月自行设计调查问卷,采用随机、自愿、匿名方式对 360 名本区居民进行问卷调查,调查内容包括献血知识、获取路径、献血态度与行为等,利用 epidata 3.1 进行数据录入,SPSS 20.0 进行数据分析。**结果** 本调查共发出问卷 360 份,回收有效问卷 234 份,回收率 65%,其中有献血经历者 102 份,无献血经历者 132 份。现场问卷调查显示有献血经历人群的大部分献血知识知晓率显著高于无献血经历群体($P < 0.05$),特别在无偿献血优惠政策方面,2 组人群的正答率差距更大(80.40% vs. 50.0%)。在献血知识获得途径方面,居民更愿意学习更多知识的途径是电视和手机微信(均占 20.55%),效果最差的末 2 项是报刊杂志及场地广告(2.47%、2.74%);而无献血经历人群最希望了解的献血知识则为血液生理知识(占 25.55%)。在献血态度方面,有献血经历者的献血目的主要为奉献爱心帮助他人(占 32.56%)、献血有益身体健康(占 18.99%);而无献血经历不愿意参加献血主要原因为工作忙(16.75%)、献血地点不便利(9.57%)、献血会传染疾病(9.57%),而因媒体负面报道这一拒绝献血因素比例则最低(2.39%)。**结论** 本血站在献血知识、政策宣传途径方面需要改进,加大血液生理知识内容宣传;调整血站采血地点及采血时间的设置,建立稳定有效献血宣传招募机制。

关键词:无偿献血;问卷调查;认知度;影响因素;干预措施**中图分类号:**R457.1 R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0531-04

Investigation and analysis of influencing factors on cognition of blood donation in right-age population in Baoan District, Shenzhen.ZHANG Jian, ZHENG Xin, LIU Jinhong, et al. Shenzhen Baoan Blood Center Station, Shenzhen 518000, China. Corresponding author: ZHENG Xin.

Abstract: Objective To investigate the knowledge of blood donation in population of the right-age in Baoan District and whether they were willing to donate or not. We try to strengthen conduct propaganda of blood donations and figure out a new way of recruit blood donors, and provide scientific basis for new blood donation strategies. **Methods** We used self-designed questionnaires to investigate 360 voluntary local residents randomly, which including blood donation knowledge, donation attitude and satisfaction degree of donation. Data was logged in epidata 3.1 and analyzed by SPSS 20.0. **Results** A total of 360 questionnaires were sent out and 234 of them were recovered with a recovery rate of 65%. 102 of them made blood donations and they had a significant higher knowledge rate ($P < 0.05$) of blood donation than those hadn't made a donation, especially on preferential policies of blood donation (80.40% vs 50.0%). Most donors got blood donation knowledge from television or WeChat (20.55%), only few people got it from magazines and exhibition site advertising; non-blood donors were eager to know blood physiological knowledge (25.55%). 32.56% and 18.99% of blood donors made blood donation to help others or for their own healthy, respectively; Whereas influence factors for people will not make donations were busy work (16.75%), inconvenienced donation site (9.57%), worry about infected disease (9.57%) and negative press of blood donation (2.39%). **Conclusion** We should strengthen propaganda of blood knowledge and policies, adjust region and time for blood donation and establish a new efficient blood donation recruitment mechanism.

Key words: blood donation; questionnaire survey; cognition degree; influencing-factors; intervention measures

深圳市宝安区中心血站成立于 1996 年 10 月,无偿献血采集量从 1996 年的 1.5 吨到 2016 年的 13 吨,血液采集量平均每年以 5% 左右的速度增长。但是,随着宝安区的临床医疗水平提高、新建医院的增加、医院等级的提升及扩张,临床床位数急剧增加,临床用血量快速增长^[1];同时,本血站无偿献血招募策略与方式以街头献血、随机献血、流动献血为主,

血液采集增长不稳定,故当前本血站面临着血液供需平衡的较大压力与困难。在这大背景下,本血站开展无偿献血招募新模式的实践,为了解本区献血者及适龄群众的无偿献血知识、态度、行为等方面信息,掌握群众献血意向,以便采取针对性措施,实现有效的献血招募,本课题小组开展宝安区无偿献血问卷调查,为制定适合本地区无偿献血宣传招募新措施、新策略提供科学的实践参考数据。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.028

* 基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20150402142435083);[△]通信作者:郑欣(1982.09-),男,硕士研究生,主要从事血液安全研究,电话:0755-27781064,Email:zhengxin8282@163.com**1 资料与方法****1.1 调查问卷设计** 根据深圳市宝安区无偿献血宣传工作

实际情况自行设计《宝安区无偿献血情况调查表》，内容包括：统计调查对象的人口特征信息资料；无偿献血政策法规、血液生理知识、献血相关知识、献血动机与拒绝献血原因等。

1.2 调查对象 2015 年 10 月-2016 年 8 月开展无偿献血问卷调查工作，调查采用随意抽样法，在献血车周围对初次和重复献血者进行调查，在血站参观活动中对学生家长现场调查以及对企事业单位员工进行调查。共发出问卷 360 份，回收有效问卷 234 份，回收率 65%，其中无偿献血者 102 份，无献血经历者 132 份。

1.3 统计学处理 应用 Epidata 3.1 进行数据录入，SPSS 20.0 进行数据分析。采用频数及频率对计数资料进行统计描述，分类变量资料采用 χ^2 检验，统计检验采用双侧检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 质量控制 3 名调查员经过有关无偿献血法规政策、献血招募策略、献血基础科学知识以及问卷调查技巧等专项培训。问卷调查采取匿名、自愿形式，由调查员与受调查人员一对一指导答卷，当场收回。问卷调查质量主要注意如下方面：1) 调查问卷内容经南方医科大学公共卫生管理专家指导修正；2) 现场受调查者的资格审核；3) 回收调查问卷的有效性审查。

2 结果

2.1 调查对象基本构成特征 本问卷共发放 360 份，回收有效问卷有 234 份，回收率 65%。其中男女比为 130:104，献血组有 104 名，非献血组有 132 名(表 1)。

表 1 调查对象基本信息特征

		n	构成比 (%)
性别	男	130	55.56
	女	104	44.44
年龄(岁)	18-30	98	41.88
	31-45	94	40.17
	46-60	42	17.95
学历	中专及以下	128	54.70
	大专	64	27.35
	本科以上	42	17.95
献血次数	无	132	56.41
	初次	26	11.11
	多次	76	32.48

注：中专学历包括高中、技校、职高等学历

2.2 无偿献血知识的认知情况 表 2 显示有献血经历人群的大部分献血知识题目正答率均高于无献血者经历人群($P < 0.05$)，而题目 1、2、6 在 2 组人群中的正答率没有统计学差异($P > 0.05$)。

表 2 献血者与未献血者的献血知识认知比较

题目	总体情况		有献血经历		无献血经历		χ^2	P
	正答频数	正答率 (%)	正答频数	正答率 (%)	正答频数	正答率 (%)		
1 无偿献血是公民自愿无偿的公益行为	213	91.03	94	92.16	119	90.15	0.28	>0.05
2 世界献血者日	64	27.35	33	32.40%	31	23.50	2.27	>0.05
3 无偿献血者本人及直系亲属用血免费或减免政策	148	63.25	82	80.40	66	50.00	22.86	<0.05
4 深圳献全血每次不超 400 mL，献血间隔不少 3 个月	148	63.25	81	79.41	67	50.76	20.32	<0.05
5 无偿献血安全，不会传染疾病	162	69.23	82	80.40	80	60.60	10.57	<0.05
6 定期适量献血无损健康	204	87.18	93	91.20	111	84.10	2.58	>0.05
7 献血分献成分血和献全血 2 种方式	98	41.88	57	55.80	41	31.10	14.56	<0.05
8 献血后不需要大吃大补营养品	153	65.38	82	80.40	71	53.80	17.99	<0.05
9 献血后血液要经分离检验等处理过程才能用于临床	157	67.09	76	74.51	81	61.83	4.50	<0.05

2.3 献血知识获得途径的效果评价 本课题对有或无献血经历所有人群进行献血知识或信息获取途径调查统计，发现电视、手机微信的方式为最常用的献血知识获取渠道，各占 20.55%，而广播电台、场外广告、报刊杂志为群众获得献血知识效果最差的 3 种途径，分别占 6.03%、2.74%、2.47%(图 1)。

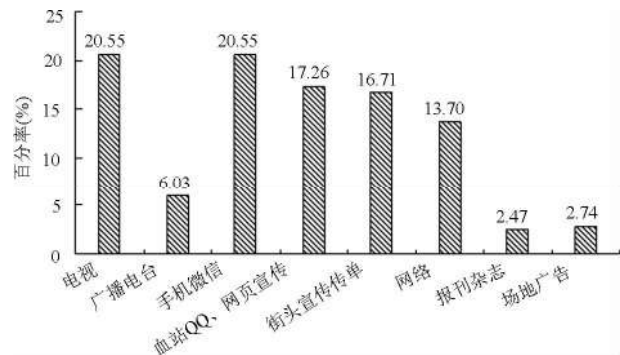


图 1 献血知识获得途径效果评价

2.4 无献血经历人群对献血知识的兴趣调查 132 份无献血经历问卷调查统计显示，血液生理知识方面内容是无献血经历的人群最希望了解献血知识比例最高 1 项，占 25.55%，而献血是否会感染疾病 1 项，该类人群感兴趣程度最低(图 2)。

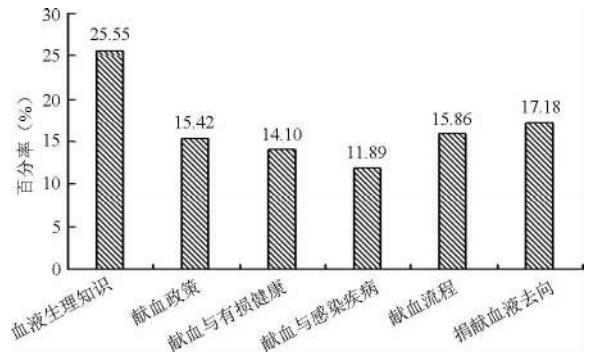


图 2 无献血经历人群希望了解哪些献血知识

2.5 献血动机和未献血的原因分析 调查 102 名无偿献血者的献血献爱心的原因,占有比例最高的献血动机为帮助他人,为 32.56% (图 3),其次献血动机比例较高的为献血有益身体健康,占 18.99%。而以身体健康体检作为献血原因的比例在本次调查中一般为 6.98% (图 3)。未参与献血的原因调查发现,以客观的因素占最大比例,因工作太忙未能抽出时间献血、献血地点距离远不方便这一原因,分别占 16.75%、9.57%;而因个人主观因素未参与献血主要为献血影响身体健康、献血会感染传染病、不了解献血知识等,各种原因所占比大致相当,差异不大 (图 4)。

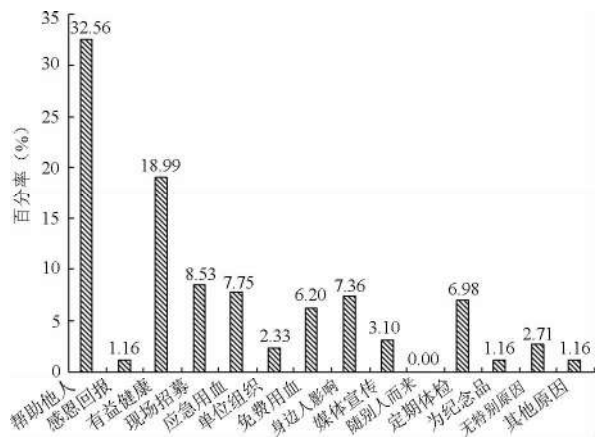


图 1 参与献血的心态调查

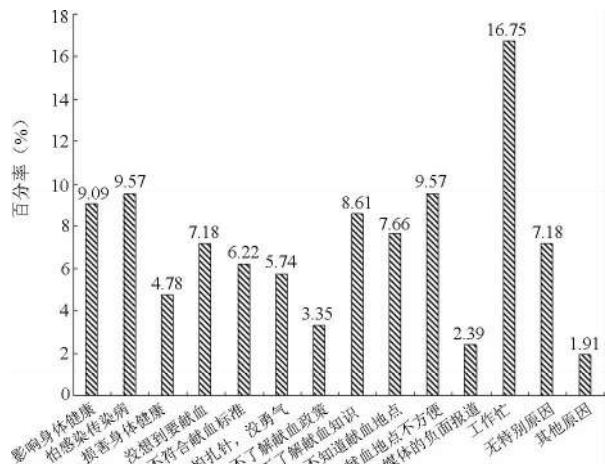


图 4 未参与献血的原因分析

3 讨论

宝安区占整个深圳市人口 1/3,文化背景及学历结构偏低 (表 1),高校职校极少,以手工业为主^[2],献血人群主要为外来务工者,给无偿献血宣传招募带来极大外部制约因素。当前宝安区中心血站献血招募方式主要仍以街头献血、随机献血为主,不利于扩增献血人群范围。针对上述本区经济文化特殊“区情”这一大环境,开展无偿献血问卷调查,获取本区居民群体的无偿献血“知信行”意向^[3],摸索出适合本地区的无偿献血招募新模式。

本课题调查居民献血知识了解程度,发现有献血经历人群在大部分献血相关知识的知晓率显著高于无献血经历者 ($P < 0.05$,表 1),特别在无偿献血基本或优惠政策方面,2 组人群的正答率差距最大 (80.40% vs. 50.00%, $P <$

0.0001);在一些基本的献血知识,如献血自愿行为、世界献血日及献血与健康等问题上的认知度并没有统计意义。无献血经历群体,最希望了解献血知识为血液生理知识,其次为捐献血液去向、献血流程与政策 (图 2)。通过有或无献血群体的认知数据比较可发现,献血知识的认知程度与个人献血意向具有明显相关性,血站在献血宣传过程中,可加大此方面内容普及,有利于消除普通群众对无偿献血的误解。在献血知识获得渠道的比例调查中发现,占据前 4 项的分别是电视、手机微信、血站网页/QQ、街头宣传单 (图 1),而获得途径比例最低的 3 项则是电台广播、场地广告、报刊杂志,报刊杂志作为血站最常用的宣传招募手段^[4],在本次问卷调查被评为效果最差献血知识获得渠道,这与云南、四川成都地区该方面调查结果一致^[5,6]。本血站可据此结果,增加电视、手机微信及血站网页途径献血知识的宣传力度。

本课题组对 102 例无偿献血者,其中有 74.51% (76/102)为多次献血者 (表 1),进行献血动机方面调查发现,帮助他人和献血有益健康这 2 项献血原因构成比例最高 (图 3),与云南保山市、北京、石家庄地区的献血动机调查比例排位一致^[5,7,8]。众多研究结果表明人们献血的动机是多元化的,不管是国内还是国外,利他主义的献血动机是最为主导和肯定的动机^[9]。因媒体宣传的作用前来献血的动机构成比却较低,仅为 3.10% (图 3),同时图 1 显示报刊杂志、广播电台这 2 项媒体宣传手段为献血知识获得效果最差的途径,可见,当前媒体的介入宣传方式效果并不理想,而媒体宣传仍为全国血站惯用的招募路径^[5],这应引起血站的反思。若媒体播报是地区的主要宣传手段,可适当增加献血知识的普及,有利于媒体宣传在群众中发挥献血招募的作用效果。对 132 人的未参与献血原因调查发现,占据前 2 位构成比的是工作忙、献血地点不方便 (图 4),这 2 项属于客观因素原因;而未参与献血的原因构成比末 2 位分别是献血损害身体、不了解献血政策、媒体负面报道,这两项属于个人主观因素原因,可见,为群众提供便利的献血地点与时间,能增加社会人员参与献血热度。

本问卷调查为深圳市宝安区首次无偿献血知识、信念、行为态度的调查,发现本血站在宝安区献血招募及宣传中存在方向性偏差,同时获得了具有本区域居民的献血意向与需求,据本调查结果,本血站需作出相应措施改进:1)改进献血宣传渠道,如电视、手机微信等,加强血液生理科学知识宣传,特别是针对无献血经历人群;2)按照本区人口、经济结构特征,改进方便居民、务工者、事业单位等人群的献血地点及时间,能有效提高献血人数及热度。本调查存在不足之处,调查对象人数相对不大、未包括中小學生群体,调查内容未涉及献血者满意度,这将在后续的大规模献血问卷调查增加此项目,并另文发表。

参考文献

[1] 陈敏,刘晋洪,张健,等.深圳市大宝安地区 2008 年-2014 年无偿献血人群特征分析.中国现代医学杂志,25(34):82-85.
 [2] 陈锦华.宝安区常住人口年龄构成与“人口红利”分析.经营管理者,2012,65(6):1-2.

悬浮红细胞在 22-25℃ 的活性变化*

陈会欣 王顺[△](武汉市第一医院 输血科,湖北 武汉 430022)

摘要:目的 探讨悬浮红细胞离开输血科冰箱,在脱离冷链的状态下(即在室温,22-25℃),放置 6 个时间点其血液质量相关参数的变化。**方法** 将待测悬浮红细胞血袋,在 22-25℃ 室温下放置 6 个时间段(0 h、0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h),检测各时间点 WBC、Hb、HCT、plt 等指标的变化。**结果** 随着脱离冷链时间的延长,悬浮红细胞的 HCT 在实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组、实验 4 组和实验 5 组(53.33±4.19,52.25±4.17,53.19±4.28,52.11±4.23,53.07±4.20)% 均明显低于对照组(53.39±4.15)%, $P<0.05$;悬浮红细胞中的 WBC 计数在各实验组(6.10±1.42,5.97±1.42,5.93±1.38,5.71±1.31,5.47±1.25) $10^9/L$ 均明显低于对照组(6.30±1.50) $10^9/L$, $P<0.05$;悬浮红细胞中的 plt 计数在实验 3 组,实验 4 组,实验 5 组(160.88±45.34,156.04±48.40,152.33±46.02) 明显低于对照组(178.3±50.41), $P<0.05$;悬浮红细胞的 Hb 在实验 3、4、5 组(172.15±13.33,171.56±13.43,171.23±13.3)g/L 均明显低于对照(172.49±13.19)g/L, $P<0.05$ 。**结论** 悬浮红细胞脱离冷链后在 22-25℃ 放置超过 0.5h,WBC、HCT、plt 均可出现明显下降,在 22-25℃ 放置超过 2h,血红蛋白含量出现明显下降。

关键词: 悬浮红细胞;脱离冷链;活性成份

中图分类号:R331.1⁺41 R457.1⁺2 **文献标识码:**B **文章编号:**1004-549X(2017)5-0534-03

The active ingredients change of the suspended red blood cells at 22-25℃ CHEN Huixin, WANG Shun. Department of Blood Transfusion, Wuhan First Hospital, Wuhan 430022, China. Corresponding author: WANG Shun.

Abstract: Objective To discuss the change in the quality of the suspended red blood cells which left the refrigerator and out of the cold chain (22-25)℃ and were observed at six points of time. **Methods** The suspended red blood cells were placed at 22 to 25 °C at room temperature, for six period of time (0 hour, 0.5 hour, 1 hours, 2 hours, 4 hours, 6 hours). At each point, the leukocyte red blood cells, hemoglobin and platelet count were measured. **Results** As the time out of the cold chain prolonged, the red blood cells deposited in each experimental group (53.39±4.15, 52.25±4.17, 53.19±4.28, 52.11±4.23, 53.07±4.20)% were significantly lower than the control group (53.39±4.15)%, $P<0.05$. The leukocyte count of suspended red blood cells in each experimental group (6.10±1.42, 5.97±1.42, 5.93±1.38, 5.71±1.31, 5.47±1.25) $10^9/L$ were significantly lower than the control group (6.30±1.50) $10^9/L$, $P<0.05$. The platelet count of suspended red blood cells in each experimental group (171.02±45.31, 167.14±46.39, 160.88±45.34, 156.04±48.40, 178.3±50.41, 152.33±46.02) were significantly lower than the control group (178.3±50.41, $P<0.05$). The hemoglobin in suspended red blood cells in experimental group 3 (172.15±13.33, 172.49±13.19) $P<0.05$, experimental group 4 (172.15±13.33, 171.56±13.43)g/L, $P<0.05$, and experimental group 5(172.15±13.33, 171.23±13.36)g/L, $P<0.05$ were significantly lower than the control group. **Conclusion** Suspended red blood cells left out of cold environment and placed at 22 to 25 degrees Celsius for more than 0.5 hours can result in a significant reduction in leukocyte and platelets count. If they are placed outside the cold chain at 22 to 25 degrees Celsius for more than 2 hours, the hemoglobin will appear significantly decreased.

Key words: suspended red blood cells; out of the cold chain; active ingredient

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.029

* 基金项目:武汉市卫生计生委医疗卫生科研资助项目(WX15B16) 湖北省卫生计生科研基金资助项目(WJ2015CB006);△通信作者:王顺(1973.11-),男,副主任技师,主要从事临床输血治疗研究,电话:027-85332627,Email:wang_shun6688@sina.com

[3] 王振兴,王雅文,何子毅,等. 东莞市医务人员无偿献血“知信行”现状及对策. 中国输血杂志, 2017, 29(17):1266-1269.

[4] 李美霖,李天君,麻静敏,等.六类人群无偿献血认知情况调查研究. 中国输血杂志, 2016, 29(11):1260-1263.

[5] 沈建忠,陈兆庆,陶刚,等. 保山市无偿献血相关知信行调查. 中国输血杂志, 2015, 28(8):897-899.

[6] 文勇,冯谨,赵燕,等.成都市新都区乡镇居民对无偿献血认知情况调查.中国输血杂志,2014, 27(7):762-764.

[7] 李美霖,段锦,麻静敏,等.北京市外来务工人员无偿献血知信行调查分析. 中国输血杂志, 2015, 28(1):50-52.

[8] 宋任浩,何二龙,张丽娟,等.石家庄市居民献血知识与行为调查.医学与社会, 2012, 25(11):11-13.

[9] 李雅杰,安万新,梁晓华,等. 全国各地血液供应紧张原因分析及对策. 中国输血杂志, 2012, 25(12):1236-1238.

(2017-04-07 收稿,06-15 修回)

本文编辑:夏玲

通常情况下红细胞的保存条件为 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, 输血技术规范中要求血液离开贮存冰箱后 30 min 内输注。由于国内尚未能对血液发往临床过程中温度进行有效控制——即冷链箱尚未在医院全面应用, 特别是二甲医院等基层医院。故观察血液脱离冷链后血液质量随时间变化尤为重要。有报道多袋输血最短开始输注时间达 190 min, 最长开始输注时间达 330 min, 并且不能举证所取的血液是否按规定存放在适合的环境中^[1]。那么超过输血时限的血液质量如何? 超过输血时限的血液是否应该申请血液临床报废? 目前权威输血指南及输血技术规范中均未作出明确规定。本研究拟在探讨脱离冷链控制在 $22\sim 25^{\circ}\text{C}$ 的室温下放置 0 h、0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h 后悬浮红细胞的相关质量参数的变化, 为临床输血安全提供实验室依据。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 随机选取 50 份由中国解放军武汉总医院输血科 2016 年 7 月 20 日采集的某部队男性无偿献血者的 CPDA-1 抗凝全血, 献血者年龄在 18~22 岁(中位数年龄为 19.5 岁), 经低温离心($5\ 000\times g$ 离心, 7 min)分离血浆, 加入红细胞添加液, 虹吸法制备成悬浮红细胞, 每份留取 30 mL, 做好标记, 置于 4°C 保存待测。标本状态正常, 无溶血、无脂血等情况。

1.2 仪器和试剂 一次性使用塑料血袋(输血用 1 号抗凝液, 上海输血技术有限公司, 批号: 国药准字 H20045024); 三联塑料采血袋(红细胞保存液, 上海输血技术有限公司, 批号: 国药准字 H20053717); 低温离心机(白洋, B320A); 37°C

恒温水浴箱(GSY-II, 北京市医疗设备厂); 海尔低温储血冷库; 生物安全柜(HFsafe, 上海力申科学仪器有限公司); 全自动血细胞仪(BECKMAN, LH750)。

1.3 实验分组 将待测的 50 份悬浮红细胞血袋, 严格按无菌操作技术, 于检测前每袋标本迅速分装为 6 小份, 在 $22\sim 25^{\circ}\text{C}$ 室温下分别放置 6 个时间段(0 h、0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h) 分别标记为对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组、实验 4 组和实验 5 组。因不同人血液成分基础值有较大波动, 故以同一血标本在 $22\sim 25^{\circ}\text{C}$ 室温下放置 0 h 为对照组, 排除个体差异的干扰^[2]。所有标本的检测均在采集后 d4 进行。

1.4 试验方法 采用全自动血细胞仪检测悬浮红细胞中 WBC、RBC、Hb、HCT、Plt 在各组的变化。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。计量资料数据, 以均数 \pm 标准差表示, 对照组和各实验组间采用组间两两配对 t 检验, $P<0.05$ 记为有统计学差异。

2 结果

5 个实验组中的 WBC、HCT、Plt 与对照组的 WBC、HCT、Plt 比较均明显下降。实验 3 组、实验 4 组和实验 5 组中 Hb 分别与对照组的 Hb 相比均明显下降($P<0.05$)。但实验 1 组、实验 2 组的 Hb 与对照组的 Hb 比较均无统计学差异($P>0.05$), 见表 1 和图 2。随着在室温下($22\sim 25^{\circ}\text{C}$) 放置时间的延长(0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h) 悬浮红细胞中 WBC、HCT 和 Plt 与对照组相比各时间点指标均明显下降($P<0.05$) (图 1, 3)。但悬浮红细胞中 RBC 对照组与各实验组比较, 结果均未见统计学差异($P>0.05$) (表 1)。

表 1 对照组 WBC 与各实验组 WBC、RBC、HCT、Hb、Plt 的比较

质量参数	对照组	实验 1 组	实验 2 组	实验 3 组	实验 4 组	实验 5 组
WBC($\times 10^9/\text{L}$)	6.30 \pm 1.50	6.10 \pm 1.42	5.97 \pm 1.42	5.93 \pm 1.38	5.71 \pm 1.31	5.47 \pm 1.25
t 值	/	4.12	5.30	5.39	9.11	11.37
P 值	/	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
RBC($\times 10^{12}/\text{L}$)	5.90 \pm 0.45	5.88 \pm 0.49	5.87 \pm 0.48	5.87 \pm 0.49	5.85 \pm 0.48	5.85 \pm 0.48
t 值	/	2.21	1.95	1.85	1.48	1.40
P 值	/	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
HCT(%)	53.39 \pm 4.15	53.33 \pm 4.19	52.25 \pm 4.17	53.19 \pm 4.28	52.11 \pm 4.23	53.07 \pm 4.20
t 值	/	5.41	6.74	2.65	8.79	4.01
P 值	/	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Hb(g/L)	172.49 \pm 13.19	172.47 \pm 13.35	172.17 \pm 13.30	172.15 \pm 13.33	171.56 \pm 13.43	171.23 \pm 13.36
t 值	/	1.96	1.29	2.03	3.00	2.49
P 值	/	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Plt($\times 10^{12}/\text{L}$)	178.3 \pm 50.41	171.02 \pm 45.31	167.14 \pm 46.39	160.88 \pm 45.34	156.04 \pm 48.40	152.33 \pm 46.02
t 值	/	2.39	3.28	4.91	3.10	6.63
P 值	/	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

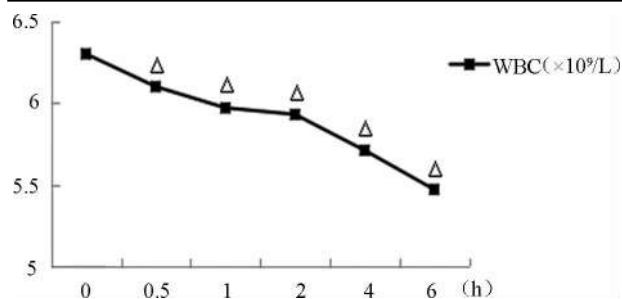


图 1 WBC 随时间变化曲线

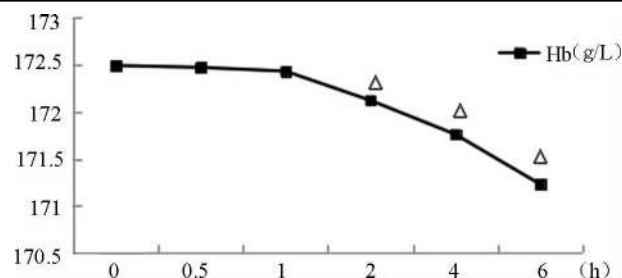
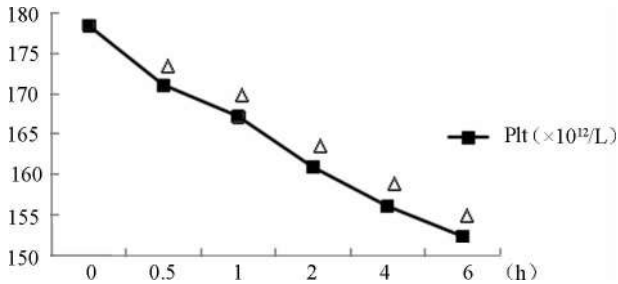


图 2 Hb 随时间变化曲线



注:图中 t 值、 P 值均为对照组与各实验组间的比较;对照组、实验1组、实验2组、实验3组、实验4组、实验5组分别与0 h、0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h各时间点依次对应;△表示与0 h(对照组)比较有统计学差异($P < 0.05$)

图3 活性成份随时间变化曲线

3 讨论

《临床输血技术规范》中明确规定:血液离开贮血冰箱后应在30min内输注,且应2h内输注完毕^[3]。在不正确的温度下储存超过30 min后血液发生细菌污染和(或)细胞功能丧失的风险增加^[4]。一袋150 mL的悬浮红细胞按5 mL/min的速度可以保证在30 min内输注,多袋输注的血液第2袋输注的时间就会超过30 min。故观察红细胞脱离冷链后随时间变化各质量参数的变化意义重大。

本实验结果显示在22-25℃室温下放置各时间点(0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h)悬浮红细胞中白细胞、血小板的计数及HCT值均基本和全血中白细胞、血小板计数及HCT数值范围相当。分析可能原因如下,本实验中的悬浮红细胞为采集后d4检测,标本来源为某部队自采全血,虹吸法制备而成,那么全血中富含白细胞和血小板的白膜层大部分被残留于主袋的悬浮红细胞内。这也符合国家质量标准的要求(血浆中白细胞计数 $< 0.1 \times 10^9/L$)。而且检测的白细胞中可能包含少量变形的红细胞,血小板中可能部分为非细胞微粒成分。相关数据有待进一步检测。国内相关研究认为^[5]血液贮存过程中有形成分损失最大、其中最快的是血小板,其次是白细胞。库存血中的白细胞保存期为5-7 d,特别是粒细胞7 d时已全消失。血小板保存72 h后形态虽属正常,但已失去正常功能,保存7 d仍可检测到plt,因为血球计数仪记数的是plt的直径大小,不能分辨是否是真正活的plt,或非细胞微粒。

本实验结果显示各组悬浮红细胞的HCT均符合国家标准的要求(HCT:0.5-0.65)。悬浮红细胞在脱离冷链2h的

各实验组均明显下降,但脱离冷链2 h以内的实验组Hb未见明显变化(图2)。国内的相关研究报道^[6]非4℃条件下(26.2℃-34.7℃)红细胞可保存4d,且温度越高细胞的代谢越快^[7]。血液常温储存24 h有效期无明显变化,储存48 h以上则有效期明显缩短,温度越高剩余有效期越短。但目前未见对随脱离冷链时间血液质量连续性变化的报道。

本实验结果显示悬浮红细胞中WBC、HCT和plt随在室温下随放置时间的延长(0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h)均呈下降趋势。但RBC在脱离冷链6h内各实验组均无明显变化。

世界卫生组织提倡的“30 min原则”规定:血液解除冷藏超过30 min未被使用应弃用。研究发现^[8],红细胞在25℃时细胞的活性的丧失是4℃时的10倍。在室温下贮存1d的红细胞的体内回收率与在4℃储存10d的红细胞体内回收率相当。本实验发现在悬浮红细胞室温下(22-25℃)时间超过0.5h即可出现WBC和Plt的破坏显著增加,崩解破坏后的白细胞及血小板可能会产生更多的细胞因子等,可能增加输血不良反应的发生。22-25℃室温下放置>2 h即可出现悬浮红细胞中Hb显著下降,降低红细胞输注的疗效。故冷链管理是临床输血管理的重要环节,临床输血时脱离冷链时间最好控制在<0.5 h以内,>2 h后将显著影响悬浮红细胞各成分的质量,将增加输血不良反应的风险,影响临床输血疗效。

参考文献

- [1] 陈天鹏,和丽华,郭艳.200例发血至开始输血时间的统计分析.临床输血与检验,2010,12(4):359-360.
- [2] 韩玮,刘景汉,王铁军,等.体外测定非4℃条件下CPDA、ACD全血的保存有效期.中国实验血液学杂志,2004(1):95-97.
- [3] 临床输血技术规范.医卫发[2000]184号.
- [4] 王明才,方玉慧,杨春晴,等.输血医学应用数据.济南:山东出版社,2010:266-267.
- [5] 李永安.临床输血.长春:吉林科学技术出版社,1990:337-339.
- [6] 刘景汉,欧阳锡林,王嵘,等.变化温度保存血液再置于4℃保存的初步研究.临床输血与检验,2008,10(3):196-198.
- [7] 刘景汉,韩玮,潘纪春,等.非4℃条件储运后CPDA血液保存期的变化.中国医师杂志,2004;6(11).
- [8] 王从容.贮存血液的成分变化//魏亚娟,吕毅主编.基础输血学,北京:人民卫生出版社,2011:38-39.

(2016-11-07收稿,2017-04-13修回)

本文编辑:李弘武

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www.cjbt.cn

bloo.cbpt.cnki.net

组合应用输血相容性检测技术的研究*

张坤莲 黄旭颖 周助人 李丽春 李剑平[△](辽宁省血液中心,辽宁 沈阳 110044)

摘要:目的 分析不同交叉配血试验技术在保障安全输血中的重要作用,探索疑难交叉配血检测策略。**方法** 同步应用盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法及试管抗球蛋白法交叉配血试验技术进行了 2 199 例 ABO 与 RhD 同型血液相容性检测,并对检测结果进行统计分析。**结果** 盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法及试管抗球蛋白法交叉配血阳性试验结果分别为 98、944、1 304 及 1 252 例。98 例盐水介质交叉配血阳性中而聚凝胺法、柱凝集法及试管抗球蛋白法交叉配血阳性检出率分别为 76.53%、88.78% 及 73.47%。柱凝集法与试管抗人球法交叉配血结果无统计学差异($P > 0.05$)。**结论** 盐水介质交叉配血技术在血液相容性检测中必不可少。应用多种交叉配血技术综合分析疑难交叉配血结果,能够进一步保证临床输血安全。

关键词:交叉配血试验的局限性;临床输血;交叉配血试验;安全输血

中图分类号:R446.11 R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0537-03

Study on the combination of compatibility testing method ZHANG Kunlian, HUANG Xuying, ZHOU Zhuren, LI Lichun. Liaoning Blood Center, Shenyang 110044, China. Corresponding author: LI Jianping.

Abstract: Objective To analyze the important function of different crossmatching technologies on the safety of blood transfusion, and to study the test strategy to approach difficult clinical blood matching. **Methods** 2 199 tests were performed by the crossmatch methods of Immediate-spin (IS), polybrene, column agglutination technology (CAT) and indirect anti-globulin test (IAT) at the same time. Afterwards, the tests were analyzed. **Results** The positive cases of IS, polybrene, CAT and IAT were 98, 944, 1 304 and 1 252. In the 98 positive cases of IS, while the positive rates of polybrene, CAT and IAT were 76.53%, 88.78% and 73.47%. There were no significant differences in CAT and IAT ($P > 0.05$). **Conclusion** Immediate-spin technology is necessary in blood compatibility tests. Application of different crossmatching technologies can help analyze the complicated samples from difficult crossmatching and further ensure the safety of clinical blood transfusion.

Key words: crossmatch limitation; clinical transfusion; crossmatching test; safety of blood transfusion

交叉配血试验又称血液相容性试验,是确保患者安全输血必不可少的试验。目前国内外常用的交叉配血试验技术有盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法及抗球蛋白交叉配血试验^[1]。每种方法各自有其优势及不足,医疗机构输血科常用聚凝胺法或柱凝集法交叉配血技术。医疗机构疑难配血(供血者与受血者 ABO 及 RhD 血型相同却出现配血不合,为疑难配血)患者标本通常送到当地的血液中心或血站进行血液相容性检测。随着血液相容性检测新技术的不断应用,各地区医疗机构输血科采用的交叉配血方法也不同,作为血液中心或血站所应用的交叉配血方法若与送检医院的不一致,那么在评估配血结果时可能存在一定的风险。本中心接受临床送检疑难配血检测标本后,常规应用盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法及试管抗球蛋白交叉配血试验技术进行疑难配血,综合分析检测结果后,决定血液可否发放临床输血给患者。为明确安全输血相容性检测策略,我们对同步应用盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法及抗球蛋白交叉配血试验技术检测的 2 199 例疑难交叉配血检测结果进行了统计分析,探索血

液相容性检测技术在安全输血中的作用。

1 材料与方法

1.1 标本来源 受血者标本来自于 2015 年 1 月-2016 年 1 月沈阳地区有输血资质的医院,供血者标本来自于同一时期的沈阳地区无偿献血者。所有研究标本均遵循患者及献血者知情同意原则。

1.2 试剂和仪器 交叉配血试验,严格按照文献[1]进行操作。所需主要试剂包括氯化钠注射液(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司);聚凝胺介质试剂(珠海贝索生物技术有限公司);LISS/Coombs 低离子/抗人球蛋白卡(BIO-RAD);抗-IgG,C3d(上海市血液生物医药有限责任公司),各试剂均批批检合格。免疫血液学用离心机(kubota KA-2200);电热恒温水箱(DK-600S);显微镜(OLYMPUS);离心机(ID-Centrifuge);孵育器(ID-Incubator)。

1.3 统计学分析 依据文献[2]对 4 种配血方法的阳性检出率进行 χ^2 , $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果(表 1,2)

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.030

* 基金项目:沈阳市科技计划项目(F10-149-9-35;F10-206-1-00);辽宁省重点支持计划项目;[△] 通信作者:李剑平(1963.01-),男,主任医师,主要从事血液安全研究,电话:024-88334530, Email:ljp_63@163.com

表 1 4 种配血方法检测结果两两比较统计表

对比组	阳性	阴性	χ^2	P 值
盐水法	98	2 101	900.03	<0.05
聚凝胺法	944	1 255		
盐水法	98	2 101	1 522.86	<0.05
柱凝集法	1 304	895		
盐水法	98	2 101	1 423.37	<0.05
试管抗人球法	1 252	947		
聚凝胺法	944	1 255	117.93	<0.05
柱凝集法	1 304	895		
聚凝胺法	944	1 255	86.28	<0.05
试管抗人球法	1 252	947		
柱凝集法	1 304	895	2.53	>0.05
试管抗人球法	1 252	947		

表 2 98 例盐水介质交叉配血试验阳性中其它方法阳性检出率结果表

	其他 3 种方法均阳性	其他 3 种方法均阴性	聚凝胺法阳性	柱凝集法阳性	试管抗人球法阳性
例数	55	4	75	87	72
(%)	56.12	4.08	76.53	88.78	73.47

3 讨论

输血是临床救治急重症患者的重要治疗措施之一,输血后能迅速补充人体血容量,使人体内环境与物质代谢处于平衡状态,维持人体生理机能的正常与稳定。但是输血是一把双刃剑,既有利又有弊。利在于其可以治病救人,弊在于其可以引起输血不良反应^[3],为预防免疫性输血不良反应,输血前必须进行输血相容性检测,输血前血液相容性检测包括 ABO 及 RhD 血型鉴定、红细胞血型抗体筛查或鉴定以及血液相容性试验(交叉配血试验)。交叉配血试验主要是检查受血者与供血者血液之间有没有相应的抗原-抗体反应。为预防 IgM 和/或 IgG 性质的抗体所引起的免疫性输血不良反应,临床选择性应用盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法及抗球蛋白交叉配血试验技术进行交叉配血。

每种交叉配血技术各有其优缺点。盐水介质交叉配血试验通常称为“立即离心”(immediate spin IS)配血试验,用来检测供者红细胞与受者血清之间的 ABO 相容性^[1]。但 IS 方法在检测 ABO 相容性时有其局限性,Berry-Dortch S 等报道应用 IS 法对 531 例 A₂B 供者红细胞与 B 型受者血清进行交叉配血试验,其中 204 例呈现阴性反应^[4]。本文 2 101 例盐水介质交叉配血试验阴性中其它方法交叉配血结果同步为阴性的只占 24.94%,可见盐水介质交叉配血检出同种抗体的局限性。然而盐水介质配血也有其优越性,即可简便快捷的发现 IgM 性质抗体所致的配血不合。本文 98 例盐水介质交叉配血试验阳性中其它方法交叉配血结果同步为阳性的占 56.12%,而另外 43.88%标本如果不应用盐水介质方法进行交叉配血试验,将为输血安全带来潜在的风险。我们认为盐水介质交叉配血技术在血液相容性检测中必不可少。目前临床常用配血方法为聚凝胺法或柱凝集法,我们建议应用这两种方法进行交叉配血的医疗机构,应首先观察盐水介质配血结果后,再进行聚凝胺法或柱凝集法交叉配血试验。

间接抗人球蛋白试验(indirect antiglobulin test, IAT)是一种检测血清中不完全抗体或补体的方法。试管法抗人球蛋

白介质交叉配血是一种安全可靠的交叉配血方法。但试管法抗人球蛋白交叉配血操作复杂、时间长,很难应用于紧急配血试验^[1]。国内血液中心(中心血站)在为医疗机构进行疑难交叉配血检测时常常应用 IAT 法,由于医疗机构通常应用聚凝胺法或柱凝集法进行交叉配血,血液中心(中心血站)在为医疗机构进行疑难配血时,如果不兼顾聚凝胺法或柱凝集法配血结果也会为安全输血带来风险。本文中有 13 例 IAT 法阴性而其他 3 种方法均阳性,可见 IAT 法也有其漏检抗原抗体反应的局限性。

聚凝胺试验(polybrene)由于其具有敏感性高、操作简便及快速等优点,已应用于血型检查、抗体筛选和鉴定、交叉配血试验^[1]。其缺点是检测 Kell 血型系统不理想,且易受肝素的影响。文献报道^[5]中国人绝大多数是 kk 型,尚未发现 Kell 血型系统的抗体,临床上通常将聚凝胺试验对 Kell 血型系统的影响忽略,故医疗机构通常情况下只应用聚凝胺试验配血方法。但 S 抗原和 Kell、Duff 系统的主要抗原虽然在国内人群中显示出均质性,其抗体在我国人群中较为罕见,但随着国际化和涉外婚姻的增多,这些抗体的重要性可能也会增加^[6]。本研究中有 11 例聚凝胺法配血阴性而其他 3 种方法确为阳性,可见对于疑难配血标本用经典血清学方法(试管盐水法和试管抗人球法)确认的重要性。

柱凝集法能对微弱的抗原或抗体进行反应,大大提高了试验的敏感度,便于自动化、标准化,重复性好,结果稳定,结果观察直观。但孵育、离心时间较长,不适于特别紧急的配血。文献报道与传统试管法交叉配血比柱凝集法交叉配血有较高的灵敏度,特别是次侧阳性的情况会干扰输血工作者^[7]。本研究中柱凝集法交叉配血结果阳性而其他 3 种交叉配血方法均为阴性的有 204 例,提示我们柱凝集法敏感性高,能够检测出弱的抗原抗体反应^[1]。

意外抗体的存在是导致临床疑难配血的主要原因^[8],在选择输血相容性检测技术时,要综合其优势及不足,避免弱抗体漏检。Jeong Hwan Shin 等^[9]研究表明组合应用低离子凝胶卡与盐水/酶凝胺卡法不规则抗体阳性检出率是仅用低离子凝胶卡法的 3 倍。Finck R 等^[10]报道柱凝集法与试管抗人球法检测 Rh 和 Kell 血型系统同种抗体的检出率相当,与我们得出的应用柱凝集法与试管抗人球法配血检测结果比较无统计学意义的结论相似。组合应用柱凝集法与试管抗人球法可提高药源性抗体的阳性检出率^[11]。本文 4 种配血方法检测结果两两比较,除柱凝集法与试管抗人球法检测结果比较无统计学意义外,其他比较组交叉配血检测结果均有统计学意义,所以,我们认为对于疑难配血标本应同步采用盐水介质、聚凝胺法、柱凝集法或试管抗球蛋白法 3 种组合方法进行检测,综合分析每种方法的检测结果后决定可以发放到临床输注的献血者血液制品,确保临床安全有效输血。

参 考 文 献

[1] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程,4 版.北京:人民出版社,2014:127-139.
 [2] 孙振球.医学统计学.北京:人民卫生出版社,2002:103-113.
 [3] 陈小武,于新发,田兆嵩.输血治疗学.北京:科学出版社,2012:1-4.

ABO 正反定型不合发现 IgM+IgG 抗-E 所致 HDN 产前漏诊 1 例

周雪莹 曹昕瑞 徐敏 于笑难(沈阳军区总医院 输血科, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 对 1 例 ABO 正反定型不合发现 IgM+IgG 抗-E 所致新生儿溶血病(HDN)产前漏诊的病例分析。**方法** 分别用盐水法、LISS-IAT 等方法检测母亲血浆、患儿血浆、患儿红细胞放散液中同种抗体特异性并测其效价。**结果** 患儿血浆、患儿红细胞放散液中均检出 IgG 抗-E、母亲血浆中检出 IgM+IgG 抗-E, 孕妇于 38+5 周行剖宫术, 产后因患儿黄疸出现较早且胆红素值升高速度较快遂给予丙球输注及蓝光照射治疗。**结论** 围产期应做好 HDN 产前预测, 对于不规则抗体阳性的母亲应密切监测血清抗体水平变化及抗体分型鉴定对于高危患者及时采取有效措施干预, 减少患儿受累。

关键词: 新生儿溶血病(HDN); IgM+IgG 抗-E; 血清学方法; 产前诊断; 初次免疫

中图分类号: R457.1⁺1 R722.18 **文献标识码:** B **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0539-03

Hemolytic disease of the newborn due to IgG/IgM anti-E: A case Report by the Discrepancies of Forward and Reverse ABO Typing ZHOU Xueying, CAO Xinrui, XU Min, YU Xiaonan. Department of Transfusion, Shenyang Military Hospital, Shenyang 110016, China. Corresponding author: ZHOU Xueying

Abstract: Objective To report a case of IgM/IgG anti-E induced hemolytic disease of the newborn screened by the discrepancies of forward and reverse ABO typing in prenatal diagnosis. **Methods** The specificities and titers of irregular antibodies in the serum of mother and infant, and the elution liquid of infant RBC, were detected by serological method. **Results** The irregular antibody, anti-E, was detected in both baby and mother. IgG anti-E existed in both the serum and RBC elution liquid of infant, while IgM/IgG anti-E was only detected in the serum of mother. Caesarean section was operated when the mother was at 38+5 weeks of pregnancy. IVIG and blue light phototherapy were used for the infant because of the appearance of jaundice and the elevated bilirubin. **Conclusion** The levels and titers of serum irregular antibody should be monitored in pregnant women with positive irregular antibody. It is important to take effective measures timely in the high risk individuals to prevent the occurrence of severe disease.

Key words: Hemolytic disease of the newborn; IgM/IgG anti-E; serological method; prenatal diagnosis; primary immunization

母胎 Rh 血型不合所致胎儿溶血是由于 Rh 阴性母体产生了针对 Rh 阳性胎儿血型抗原的特异性抗体, 通过胎盘进入胎儿循环, 引起胎儿红细胞破坏, 发生进行性溶血, 可引起胎儿贫血、心力衰竭、水肿, 甚至死胎或新生儿死亡等严重后果^[1]。Rh 血型主要抗原共有 5 种, 其中 D 抗原抗原性最强, 易引起新生儿溶血病(HDN), 对于 RhD 阴性孕妇可通过给

予抗-D 免疫球蛋白注射, 以预防孕妇发生同种免疫^[2], 尽量避免再次妊娠所致的 HDN。而 Rh 系统其他抗原也同样会引起严重的 HDN, 因此妊娠期间常规进行围产期 HDN 筛查, 有助于 Non-ABO-HDN 的产前预测, 从而对新生儿预防和及时治疗核黄疸等严重并发症具有重要意义。本院于 2016 年 6 月发现 1 例血型鉴定时 ABO 正、反定型不合孕妇标本, 后证实其为初次免疫产生抗-E 抗体并使胎儿致敏, 现报道如下。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.031

- [4] Berry-Dortch S, Woodside CH, Boral LI. Limitations of the immediate spin crossmatch when used for detecting ABO incompatibility. *Transfusion*. 1985, 25(2):176-178.
- [5] 余晋林, 伍伟健, 马春会. 聚凝胺微板法自动化配血系统在交叉配血中的应用. *中国输血杂志*, 2011, 24(10):886-887.
- [6] 田兆嵩. 临床输血进展. 成都: 四川科学技术出版社, 2010:308-312.
- [7] 赵国华, 赵维齐, 柴庆波. 柱凝集技术在交叉配血中的应用. *中国输血杂志*, 2010, 23(12):1057-1058.
- [8] 侯玉涛, 于晶晶, 刘素芳, 等. 1035 例疑难交叉配血原因分析. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(19):2702-2704.
- [9] Jeong HS, Lee JY, Kim JH, et al. Screening and Identification of

Unexpected Red Cell Antibodies by Simultaneous LISS/Coombs and NaCl/Enzyme Gel Methods. *J Korean Med Sci*. 2009, 24(4):632-635.

- [10] Finck R, Lui-Deguzman C, Teng SM, et al. Comparison of a gel microcolumn assay with the conventional tube test for red blood cell alloantibody titration. *Transfusion*, 2013, 53(4):811-815.
- [11] Novaretti MC, Sopeleti CR, Dorlhiac-Llacer PE, et al. Use of gel microcolumn assay for the detection of drug-induced positive direct antiglobulin tests. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2005, 19(5):219-227.

(2016-10-17 收稿, 2017-03-23 修回)

本文编辑:李弘武

1 资料和方法

1.1 患者资料 孕妇, 25 岁, 汉族, 既往无输血史、妊娠史, 孕 38+3 周时常规送检标本进行血型鉴定时发现 ABO 正、反定型不一致, 进一步检测证实其产生抗-E, 抗体性质为 IgM+IgG, IgG 效价为 32, IgM 效价为 2。因担心伴随妊娠周数越多 IgG 抗体效价上升越快, 会导致胎儿出生后发生 HDN 的可能性越大, 且怀疑肠管扩张症, 遂于 38+5 周剖宫产出 1 男婴。新生儿溶血病检测 3 项试验(直接抗球蛋白试验, 游离抗体测定, 放散试验)均为阳性, 血红蛋白值为 156g/L, 出生后检测胆红素水平正常, 但 24h 之内上升速度较快已达治疗标准临界值, 遂经人丙种球蛋白注射及蓝光照射治疗, 4 d 后出院。

1.2 试剂与仪器 ABO-CDE 血型检测卡(Diagnostic Grifols, S. A. 批号: 15016. 02)、筛选细胞(长春博德生物技术有限责任公司 批号: 20160513)、谱细胞(Diagnostic Grifols, S. A. 批号: 16005. 01)、单克隆抗-C、抗-c、抗-E、抗-e 血清(上海血液生物医药有限责任公司 批号: 20143005、20143102、20143204、20143303)、ABO 试剂红细胞本实验室自制、样本释放剂(上海血液生物医药有限责任公司 批号: 20157702)、抗人球蛋白检测卡 Diagnostic Grifols, S. A. 批号: 15096. 01)、低离子(Diagnostic Grifols, S. A. 批号: 15013)、凝聚胺试剂(中山生科 批号: 20160321)、Baso 离心机、GRIFOLS 离心机、Diana 孵育器。

1.3 方法

1.3.1 血型鉴定 采用微柱凝胶法分别检测母亲、父亲、患

儿以及患儿外祖母 ABO、RhD 血型; 采用试管法检测其 4 人 RhC、c、E、e 血型。

1.3.2 抗体筛选及鉴定 因母亲 ABO 血型正反定型不一致怀疑有不规则抗体干扰遂采用盐水、凝聚胺法完成母亲抗体筛选; 采用盐水及 Liss-IAT 法完成 2-Me 处理前后母亲血浆的抗体鉴定。

1.3.3 新生儿溶血 3 项试验 采用抗人球蛋白微柱凝胶法完成患儿红细胞直接抗球蛋白检测、血浆游离抗体检测及抗体放散试验。

1.3.4 效价测定 完成患儿血浆 IgG 抗-E 效价、2-Me 破坏前母亲血浆 IgM 抗-E 效价及 2-Me 破坏后 IgG 抗-E 效价检测。

1.3.5 产前备血 采用 Liss-IAT 法完成母亲、献血者间交叉配血试验。上述操作方法见试剂操作说明书。

2 结果

2.1 血型鉴定结果 患儿: B RhDCcEe, 母亲: B RhDC-ccc, 父亲: O RhDccEe, 外祖母: A RhDCcee。

2.2 母亲血浆抗体筛选 分别采用盐水试管法立即离心、凝聚胺及 LISS-IAT 方法血浆与 2、3 号抗筛细胞反应阳性, 为确定其特异性进一步进行抗体鉴定。

2.3 母亲血浆 2-Me 处理后及患儿放散液抗体鉴定 根据抗体鉴定结果的概率计算^[3], 被检抗体为 IgM+IgG 抗-E; $P=2! \times 9! \times 2! \times 9! / 11! \times 2! \times 0! \times 0! \times 9! = 1/55 < 1/20$ 母亲血浆跟 9 号细胞在抗人球蛋白介质中有弱凝集反应, 疑似为 IgG 抗-Bga, 因实验条件限制未能证实(表 1)。

表 1 患儿放散液及母亲血浆 2-Me 处理前后抗体鉴定结果

	Rh-hr			Kell				Duffy		Kidd		Lewis		P			MNS			Luth	Xg	母亲血浆		患儿放散液					
	D	C	E	c	e	C ^w	K	k	Kp ^a	Kp ^a	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s		Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a	2-ME 处理前/后 NS	2-ME 处理后 IAT
1	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0/0	0	0
2	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0/0	0	0
3	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0/0	0	0
4	0	0	+	+	+	0	0	0	+	+	nt	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	1+ / 0	3+	4+
5	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	1+ / 0	3+ ^s	4+
6	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0/0	0	0
7	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0/0	0	0
8	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0/0	0	0
9	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0/0	±	0	0
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0/0	0	0
11	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0/0	0	0

注: 9 号细胞 Bga(+)

2.4 新生儿溶血病 3 项试验结果 直抗为 4+、放散及游离试验均阳性, 检出抗体为 IgG 抗-E。

2.5 抗体效价 患儿血浆中 IgG 抗-E 效价为 2, 母亲血浆中 IgG 抗-E 效价为 32, 母亲血浆中 IgM 抗-E 效价为 2。

2.6 交叉配血 母亲与 2 例 CCDee 献血者交叉配血结果为阴性, 将其作为剖宫产手术术前备红细胞悬液共计 400mL (术中及术后均未使用)。

3 讨论

该病例中母亲在妊娠期间并未进行抗体筛选试验, 只是

因为 38+3 周来院进行血型鉴定中意外发现定型结果 ABO 正、反定型不合进一步分析才发现血浆中有高效价的抗-E 抗体。尽管超声等相关检查未发现胎儿有相关受累指标, 但为避免随孕期延长抗体效价增加给胎儿造成伤害, 输血科建议择期进行生产, 遂于 38+5 周时提前剖宫手术。患儿出生当日即送检标本进行新生儿溶血病 3 项检测, 同时严格监测其血红蛋白、胆红素等指标以及严密观察其是否出现黄疸等相关体征。该婴儿出生后血红蛋白 156 g/L, 血清总胆红素 97 μmol/L, 血清直接胆红素 13.9 μmol/L, 因考虑到新生儿溶血病 3 项试验阳性且 24 h 内总胆红素升高到 152 μmol/L, 医生

PDCA 循环在机采血小板风险管理中的应用效果评价

庄彩梅(日照市中心血站,山东 日照 276826)

摘要: 研究探讨 PDCA 循环在机采血小板风险管理中的应用效果。将 2015 年 7-12 月机采血小板献血者 484 例设为对照组,进行常规护理管理;将 2016 年 1-6 月机采血小板献血者 522 例设为观察组,实施 PDCA 循环风险管理。机采科医护人员则随分组时间段亦相应划分为对照组与观察组。比较两组医护人员风险认知能力、献血者满意率、献血者抱怨与投诉率、工作缺陷与差错率。观察组医护人员对风险因素的一般认识、风险管理的认识、对风险管理的态度、对风险管理的行为意向评分均明显高于对照组,两组比较差异有统计学意义($t=48.88, 20.53, 21.38, 24.74$, 均为 $P<0.05$)。对照组献血者满意率 94.83%,抱怨与投诉率 5.17%,工作缺陷与差错率 2.48%;观察组献血者满意率 99.23%,抱怨与投诉率 0.77%,工作缺陷与差错率 0.38%。两组献血者满意率、抱怨与投诉率比较,两组比较差异有统计学意义($\chi^2=17.36, P<0.05$);两组工作缺陷与差错率比较,有显著性差异($\chi^2=8.042, P<0.05$)。在机采血小板风险管理中应用 PDCA 循环,能够明显提高医护人员风险认知能力和献血者满意率,明显降低献血者抱怨与投诉率、医护人员工作缺陷与差错率,值得推广。

关键词: PDCA 循环;机采血小板;风险管理

中图分类号: R197.63 R331.1⁺43 **文献标识码:** C **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0541-04

Evaluation of effects of route PDCA on the risk management in apheresis platelet ZHUANG Caimei. Rizhao Central Blood Station, Rizhao 276826, China.

Abstract: To discuss the effects of route PDCA on the risk management of apheresis platelet. The control group included 484 apheresis platelet donors, who were selected from July 2015 to December 2015, and received normal nursing supervision. The observation group included 522 apheresis platelet donors, who were selected from January 2016 to June 2016, and received route PDCA risk management. According to the observation period, apheresis platelet staffs were divided into the control group and observation group. The ability of medical staff to perceive risk, their working defects and error rate, and the satisfaction rate and the complaint rate of donors were compared between two groups. The staffs of observation group have higher consciousness of risk factors and risk management, and higher ratings in their attitudes and behaviors towards risk management than those from the control group. There were statistically different between the two groups ($t=48.88, 20.53, 21.38, 24.74, P<0.05$). The control group had 94.83% satisfaction rates, 5.17% complaint rates from the apheresis platelet donors, and 2.48% working defects and error rate. Meanwhile, the observation group had 99.23% satisfaction rates, 0.77% complaint rates from the apheresis platelet donors, and 0.38% working defects and error rate. The comparison of satisfaction and complaint rate between two groups was statistically significant ($\chi^2=17.36, P<0.05$). Also, it is statistically significant to compare the working defects and error rate between

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.032

在产后次日用人丙种球蛋白封闭抗体、蓝光退黄治疗。产后 d4 其血常规、胆红素均达正常指标,予以出院,出院后回访婴儿各项情况良好。同时,并嘱咐母亲再次妊娠前后需要密切监测抗体效价变化,做好预防,争取降低二胎新生儿溶血病发生的风险。

该病例孕妇既往无妊娠史、流产史、输血史,此胎为第一次妊娠,通常情况下不应怀疑发生 Rh 系统新生儿溶血病,且能排除“外祖母学说”的干扰,故推测妊娠早期血型不合的胎母血液交换即可造成免疫,而随妊娠周数增加进入母体血液增多,导致刺激母体产生更多的 IgG 抗体并通过胎盘进入胎儿体内。此外该例中胎母 ABO 血型均为 B 型,在检测时无需排除 ABO-HDN,但同时可能也是导致进入母体的红细胞没有被破坏,而造成头胎即免疫产生抗体的原因之一,但具体机制还需进一步关注及研究。通常“经胎盘出血”在妊娠

后期易出现,可以是慢性的,也可以是突发的。在 Rh 溶血病病例中,突发性的经胎盘出血可以导致母体内的 Rh 抗体效价在一周以内升高 4-8 倍,妊娠周数越久胎儿受累风险越高,因此加强孕期抗体筛查无论是否为初次妊娠对监测 HDN 的发生及预后的干预都是必要的,对于不规则抗体阳性的母亲应及时采取有效措施干预,减少患儿受累。

参考文献

- [1] 李勇,马学严.实用血液免疫学血型理论和实验技术.北京:科学出版社,2006:410-414.
- [2] 杰夫·丹尼尔.人类血型,北京:科学出版社,2007:290-291.
- [3] 兰炯采,贡中桥,陈静娴.输血免疫血液学实验技术.北京:人民卫生出版社,2011:60.

(2016-09-20 收稿,2017-03-01 修回)

本文编辑:李弘武

the two groups ($\chi^2 = 8.042, P < 0.05$). The application of route PDCA in the risk management of apheresis platelet will help apheresis platelet staffs improve their ability to perceive risk and decrease their working defects and error rate; meanwhile, it helps to increase the satisfaction rate and decrease the complaint rates of the donors. Thus, the route PDCA is worth popularizing.

Key words: PDCA route; apheresis platelet; Risk Management

随着公民维权和自我保护意识的不断提高,血站医护人员所面临的从业风险越来越大。机采血小板与采集全血相比,具有采集时间长,循环血量大,采集过程复杂,献血不良反应发生率高等特点,属高风险操作。因此,在机采血小板工作中实施行之有效的风险管理势在必行。PDCA 循环是由美国管理专家戴明于 1954 年根据信息反馈原理提出的,其特点是注重细节量化、环节监控、全程互动^[1]。PDCA 循环通过计划(P)、实施(D)、检查(C)、处理(A)4个阶段的管理,使工作质量在不断循环中得到提高^[2]。本站于 2016 年 1-6 月起运用 PDCA 循环对机采血小板全程实施风险管理,取得满意效果,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取将 2015 年 7-12 月机采血小板献血者 484 例设为对照组,进行常规护理管理。其中,男 432 例,女 52 例,年龄 21-50 岁(均值为 36.4 岁),体重 50-82 kg(均值为 68.5 kg);将 2016 年 1-6 月机采血小板献血者 522 例设为观察组,实施 PDCA 循环风险管理。其中,男 461 例,女 61 例,年龄 19-49 岁(均值为 36.3 岁),体重 50-79 kg(均值为 68.2 kg)。献血者体检全部符合卫生部颁布的《献血者健康检查要求》(GB18467-2011),均有一次以上献全血经历。两组献血者年龄、性别、体重、文化程度等一般资料比较无显著性差异($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法 对照组实施传统的常规管理。观察组在常规管理的基础上应用 PDCA 循环进行风险管理:分析机采血小板工作中存在的风险,针对风险因素制定工作计划(P 阶段),按照计划认真执行(D 阶段),定期与不定期检查相结合,确认是否达标(C 阶段),根据检查结果进行评价,针对存在问题提出新的计划并落实(A 阶段),不断循环,不断提高^[3]。

1.2.1 机采血小板工作中常见的风险因素及原因分析

1.2.1.1 常见的风险因素 献血者隐瞒既往病史;静脉穿刺失败;穿刺部位淤血、肿胀、感染;初、复检血液标本血型条形码错贴或漏贴;血液产品袋、标本血瓣热合口渗漏;血小板采集过程中机器报警提示未及时处理或处理不当;溶血或空气栓塞;血细胞分离机故障;一次性机采套材有产品缺陷未发现;发生献血不良反应抢救措施不力(急救器材或药品配备不全、医护人员急救知识及急救能力欠缺);献血者机采后意外摔伤;医护人员发生针刺伤等。

1.2.1.2 原因分析 医护人员风险意识淡薄、静脉穿刺技术不熟练、护理操作不规范、管理监督不严格、工作责任心不强、沟通能力弱、献血者不合作、仪器设备的使用维护和监控管理制度不健全、急救物品管理制度不完善、对迟缓献血不良反应认识不足、献血不良反应抢救措施培训及职业暴露防护培训不到位。

1.2.2 PDCA 循环管理对策

1.2.2.1 计划阶段(P) 针对机采血小板过程中的风险因素,拟定了如下计划:1)建立和完善风险管理机制。成立血站质量管理委员会(由分管副站长负责)、质管科、科室 CQI(持续性质量改进)小组构成血站三级风险管理系统,层层把关。科室 CQI 小组成员包括:科主任、技术骨干、质量监督员,由科主任全面负责;2)加强医护人员风险意识的培养;3)制定理论学习与技术操作培训计划;4)建立健全各项规章制度、技术操作规程;5)查找科室安全隐患及风险因素,制定科室风险控制措施。每周由科室 CQI 小组负责自查自纠,每月由质管科负责检查考核。

1.2.2.2 实施阶段(D) 1)提高医护人员风险意识,掌握风险控制方法^[4]。让全科工作人员充分认识工作中存在的各种风险,采取多种教育形式增强法制意识和工作责任心。定期邀请律师举办专题讲座,学习法律、法规知识。举办医护人员安全教育专题学习班,强化风险意识,提高规避风险的能力。收集新闻媒体、医学期刊杂志报道的机采血小板各类安全事故案例,利用晨会、例会等机会,对全科医护人员进行警示教育。科主任加强日常工作的检查督导,将安全隐患消灭于萌芽状态,规避风险。2)建立健全血站各项规章制度、操作规程、机器设备故障应急预案等。实施风险管理的核心内容就是用制度来规范、约束各项活动,以达到预防风险事件发生的目的,制度的完善和流程的合理是预防差错的关键^[5-6]。3)加强业务培训、提高专业技术水平。根据本科室特点,制定专科培训计划,强化医护人员专业技术训练,采取示教→训练→考核→评价的办法,人人达标。一旦发生工作失误,应主动向献血者道歉,请献血者谅解,以减少抱怨及投诉事件的发生。科学合理地使用人力资源,科主任排班时做到新、老护士搭配,对新入职护士起到传、帮、带及随时监督的作用。难度大、风险高的操作要求资深护士完成,以保证操作的准确性和安全性。4)加强与献血者沟通交流,建立良好的合作关系。沟通是实施护理行为的基础^[7]。机采血小板献血者来自社会各个阶层,因个人素质、文化程度不同,对献血常识及血液安全性认知度存在差异,医护人员应用通俗易懂的语言讲解捐献血小板的基本常识和采血过程中的注意事项。献血者填写《献血前健康征询表》时,医护人员应给予耐心的解释和指导,防止献血者瞒报漏报既往病史。血小板采集过程中,对献血者发现的问题或提出的疑问应高度重视,为预防不良事件发生赢得机会和时间。5)牢固树立检查核对意识,降低风险。严格的查对制度,在降低风险、保障献血者安全及血小板产品质量方面具有重要意义。查对制度的执行和落实是科主任实施质量管理的重要内容,教育和帮助医护人员养成良好的查对习惯,将查对意识渗透于护理工作的潜意识中,将查对制度落实到每一项工作环节中^[8]。

6) 完善仪器设备使用、维护和监控管理制度。加强仪器设备的使用操作培训,熟练掌握机器报警处理方法。将预防性维修和日常性维护相结合^[9],定期通知设备科联系技术人员进行检测、调试,发现问题立即纠正,保证各种仪器设备处于完好状态^[10]。血小板采集过程中加强巡视,发现异常情况及时报警信息及时处理。仪器报警装置能够及时提供血小板采集信息及机器运行情况,严格规定不得为消除噪音而故意关闭报警,构成安全隐患。有缺陷或受质疑的设备应立即停止使用,粘贴明显的【暂停使用】标示。修复的仪器设备必须经过校准、检定或检测,证明满足使用要求后,方可投入使用。建立仪器设备应急预案,配备一定量的零配件和必要的替换设备^[11-13]。7) 规范急救物品管理,提高急救能力。制定完善的急救物品管理制度,做到“四定”(定种类、定数量、定位置、定期消毒)、“三无”(无过期、无变质、无失效)、“二及时”(及时检查、及时补充)、“一专”(专人管理)。制作《献血不良反应抢救流程图》置放于工作区域适当位置,方法步骤标示清楚,操作方便,能够消除年轻医护人员经验不足、预见性差带来的风险。组织全员加强学习献血不良反应的症状体征、临床表现、预防及处理措施。参加血站急救技能比赛,提高风险预控及急救能力。演习内容包括:献血者晕厥、抽搐、溶血、空气栓塞等的处理。事实证明模拟情景训练有助于提升职业心理素质,提高应急能力和反应速度^[14]。

8) 做好献血后服务,预防意外事件发生。血小板采集完成后,常规告知献血后注意事项及穿刺点护理方法。如静脉穿刺局部出现皮下淤血、青紫、肿胀,医护人员要及时做好解释工作,让献血者了解发生的原因及转归,减轻其心理负担。为避免发生迟缓献血反应导致献血者摔伤,规定拔针后让献血者在采血椅上休息片刻再起身,由专人护送至休息区休息,30 min 后无任何异常方可离开。发生献血不良反应的献血者,规定恢复正常后再继续留站观察 30 min,直至献血者自述无任何不适,征得机采科医师许可方能离开。必要时可安排车辆送其回家,以免途中发生意外。嘱献血者离站后如有其它不适及时与工作人员联系,告知联系人、联系电话。9) 提高自我防护意识,预防与控制职业暴露发生。各项技术操作严格按照血站制定的标准操作规程进行,不得随意更改或简化。医务人员手部皮肤发生破损,在进行无菌操作时必须戴双层手套。禁止将使用后的一次性针头重新套上针头帽,使用后的锐器必须放入耐刺、防渗漏的锐器盒内。发生职业暴露事件时,不得隐瞒,严格按照血站《职业暴露处理操作规程》进行处理。

1.2.2.3 检查阶段(C) 检查工作是对计划实施情况的评定,只有持续跟踪检查督导,才能不断完善血站的风险管理工作。科主任每天在机采现场随机检查督导管理措施落实情况,发现问题及时纠正。质量监督员负责如实记录科室发生的工作缺陷与差错、献血者抱怨与投诉、献血者满意度调查情况。科室 CQI 小组每周定期对科室工作进行全面检查,查找管理漏洞,进行有针对性地控制与改进,实行自查自纠。质管科每月进行定期和不定期抽查,将检查中发现的问题及时反馈给科室。考核结果形成书面报告提交血站质量管理委员会。

1.2.2.4 处理阶段(A) 科主任每月定期组织科室 CQI 小组召开风险管理分析会,对检查考核结果进行分析、研究、总结,落实整改措施,对需要进行质量改进的相关建议、问题等反馈给个人,形成有效的反馈系统。每一个循环结束后,将成功的经验作为规范化标准进行运行。对未解决的问题或出现的新问题转入下一个 PDCA 循环去解决。周而复始,不断提高血站的风险管理水平。

1.3 观察指标

1.3.1 医护人员风险认知能力评价 实施风险管理前后分别采用自设调查问卷,对机采科医护人员进行风险认知能力调查,问卷内容主要包括对风险因素的一般认识、对风险管理的认识、对风险管理的态度和对风险管理的行为意向,每项评分总分 25 分,合计 100 分^[15]。

1.3.2 风险管理实施效果评价 比较实施风险管理前后献血者满意度、献血者抱怨与投诉率、医护人员工作缺陷与差错率。献血者满意度调查采用发放调查问卷的形式进行调查,调查表内容包括:献血环境、服务态度、专业知识、采血技术、献血后服务共五个项目。每一项满意程度分为非常满意、满意、比较满意、一般和不满意 5 个档次。由机采科工作人员在征得献血者同意后发放调查问卷进行调查,将非常满意的、满意的和比较满意的作为满意人数统计,将一般和不满意的作为不满意人数统计。满意率=所有满意人数/调查总人数×100%。献血者抱怨及投诉率=抱怨及投诉人数/调查总人数×100%。工作缺陷是指医护人员在机采血小板采集过程中发生技术、服务、管理等方面的不完善和失误。工作缺陷与差错发生率=缺陷与差错发生例数/调查总人数×100%。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组医护人员风险认知能力评价比较 观察组医护人员对风险因素的一般认识、风险管理的认识、对风险管理的态度、对风险管理的行为意向评分均明显高于对照组,两组比较具有显著性差异($t = 48.88, 20.53, 21.38, 24.74$,均为 $P < 0.05$) (表 1)。

表 1 两组医护人员风险认知评价比较 ($\bar{x} \pm s$)

	对风险因素的一般认识	对风险管理的认识	对风险管理的态度	风险管理的行为意向
对照组	15.3±2.2	16.4±5.6	18.6±3.8	13.9±5.7
观察组	24.2±3.4	23.2±4.9	24.7±5.1	22.1±4.8

2.2 两组献血者满意度、献血者抱怨与投诉率、医护人员工作缺陷与差错率比较 对照组 484 例献血者中,满意 459 例,满意率 94.83%,抱怨与投诉 25 例,抱怨与投诉率 5.17%。工作缺陷与差错 12 例,工作缺陷与差错率 2.48%;观察组 522 例献血者中,满意 518 例,满意率 99.23%,抱怨与投诉 4 例,抱怨与投诉率 0.77%。工作缺陷与差错 2 例,工作缺陷与差错率 0.38%;两组献血者满意率和抱怨与投诉率比较,均有显著性差异($\chi^2 = 17.36, P < 0.05$),两组工作缺陷与差错率比较,有显著性差异($\chi^2 = 8.042, P < 0.05$) (表 2)。

表 2 两组献血者满意度、献血者抱怨与投诉率、工作缺陷与差错发生率比较 (n, %)

	献血者 例数 n	满意率 n(%)	抱怨与 投诉率 n(%)	工作缺陷与 差错率 n(%)
对照组	484	459(94.83)	25(5.17)	12(2.48)
观察组	522	518(99.23)	4(0.77)	2(0.38)

3 讨论

风险管理是指通过识别风险、衡量风险、分析风险,从而有效控制风险,用最经济的方法来综合处理风险,以实现最佳安全生产保障的科学管理方法^[16]。实施风险管理,是保障护理安全,提高护理质量的基础和关键。没有安全,质量无从谈起。在工作实践中,我们将 PDCA 循环管理模式导入机采血小板风险管理,通过借鉴 PDCA 循环理论进行机采血小板风险管理。全面分析、识别、评估机采工作中的风险因素,及时采取切实有效的改进措施,强化措施的落实与效果评价,总结成功经验,把新出现的问题转入下一个 PDCA 循环去解决。这种螺旋式的逐步提高,可使管理工作上升到一个更高的水平。本研究结果显示,实施 PDCA 循环风险管理的观察组医护人员的风险认知能力明显提高,表现在对风险因素的一般认识、对风险管理的态度和对风险管理的行为意向 4 项评分均明显高于对照组,献血者满意率明显高于对照组,献血者抱怨与投诉率、医护人员工作缺陷与差错发生率均明显低于对照组,达到了满意的风险管理效果。证明在机采血小板风险管理中应用 PDCA 循环是一种值得推广的管理方法。

参 考 文 献

[1] 杨英华.护理管理学.北京:人民卫生出版社,1999:131-132.

[2] 潘绍山.现代护理管理.北京:科学技术文献出版社,1999:212.
 [3] 毛辰蓉.PDCA 循环在静脉化疗风险管理中的应用.护士进修杂志,2011,26(2):123-124.
 [4] 孙忠敏.风险管理及采供血运用策略.临床血液学杂志,2011,24(4):234.
 [5] 邱敏芬.产科病区护理风险因素分析及风险管理.解放军护理杂志,2006,23(9):79-80.
 [6] 左月然.对加强护理安全管理的认识和思考.中华护理杂志,2004,39(3):191-192.
 [7] 戴晓阳.护理心理学.北京:人民卫生出版社,2006:116-118.
 [8] 何婷,杨彩云,张子辉.护理风险应对策略.护理实践与研究,2010,7(22):93-95.
 [9] 何宇,郭赤,陆庆生,等.血液透析设备维护的风险因素与对策.中国医学装备,2011,8(12):67-69.
 [10] 叶严丽,陈小文,曾惠敏.重症监护室仪器设备的风险管理.全科护理,2011,9(9)2413.
 [11] 龙浩瀚.重症监护病房的护理安全管理措施.全科护理,2011,9(1A):56-57.
 [12] 李丽琼,王越秀,李彩云.外科重症监护病房仪器设备的管理.全科护理,2010,8(2A):342-343.
 [13] 曹树红.血液净化中心护理风险管理体会.全科护理,2012,10(1):241-242
 [14] 姜贺,许乐.4R 危机管理理论在护理风险管理中的应用.中国护理管理,2011,11(5):57-59.
 [15] 黄春兰.风险管理在普外科护理人员培训中的作用.中国现代医生,2011,49(20):119.
 [16] 李继平.护理管理学.北京:人民卫生出版社,2007:173.

(2016-10-11 收稿,2017-03-24 修回)

本文编辑:李弘武

严 正 声 明

近期不断地有各地编委老师,投稿作者反应,有冒《中国输血杂志》之名的“钓鱼网站”以各种方式非法收取所谓“定稿费”、“录用证明费”、“发表费”等各种名目的费用,对本刊长期以来形成的良好声誉造成了十分恶劣的影响。

在此郑重声明:本刊正式的收费项目只有审稿费(60 元/篇),版面费,杂志发行费(16 元/本)3 种。除此之外的任何费用,均与《中国输血杂志》编辑部无关!此外,本部未开通任何形式的网上支付方式,如广大同仁在投稿,发稿,购买本刊印刷品过程中,发现任何问题,请及时与本刊编辑部电话联系确认,不要轻易转账付款,以杜绝此类“钓鱼牟利”事件的发生,维护广大作者,读者权益和编辑部声誉!

特此声明,谢谢大家!

血小板保存介质的研究进展*

乔鹏鑫¹ 蓝紫涵² 陈秋凡² 张秋霞³ 马微妹² 叶楷锋² 郑志浩² 江千里^{3△}

(1. 南方医科大学第一临床医学院 2013 级医学影像专业, 广东 广州 510515; 2. 南方医科大学第一临床医学院;
3. 南方医科大学 南方医院 血液科)

摘要:血小板体外保存的质和量, 是血液服务机构对血液制品关注的重点。由于目前供应临床的主要是浓缩血小板产品, 其悬浮液采用的是血浆成分, 所以现有的血小板保存条件仍会引起输注不良反应等问题。因此如何更好地减少血小板储存损伤, 提高血小板保存的质和量, 减少输注不良反应的发生一直是实验研究的热点。我们就血小板保存介质中关于解决这些问题的相关研究进展做一综述和总结。

关键词:血小板; 保存; 血小板保存介质; 血小板添加剂

中图分类号:R331.1⁺43 R457.1⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)5-0545-03

Recent advances in platelet storage media QIAO Pengxin¹, LAN Zihan², CHEN Qiufan², ZHANG Qiuxia³, MA Weimei², YE Kaifeng², ZHENG Zhihao², JIANG Qianli³. 1. Medical Imaging Major in Class 2013, The First Clinical Medical College, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. The First Clinical Medical College, Southern Medical University; 3. Department of Hematology, Nanfang Hospital, Southern Medical University. Corresponding author: JIANG Qianli.

Abstract: Blood service always focuses on the preservation of platelets in blood products. Platelet concentrates, using plasma as the storage medium of platelets, are the main products supplied in clinical practice at present time. Some problems are contributed by the existing platelet storage methods, adverse transfusion reactions, for instance. Therefore, the hotspots in this field include the reduction of the platelet storage lesion, decrease in the occurrence of adverse transfusion reactions and improvement of platelet storage. The aim of this review is to summarize some recent researches on platelet storage media, which may solve these problems.

Key words: platelets; storage; platelet storage media; platelet additive solutions

血小板是人体中重要的止血成分, 在临床上被广泛用于防治血小板数量减少或血小板功能障碍导致的出血。目前国内公认的血小板保存方法是常温 [(22±2) °C] 连续振荡液态保存于含 ACD-A 抗凝剂的血浆中, 但其保存时间 < 5d 且较高的血浆含量与之伴随了有较高的输注不良反应发生率^[1], 而且细菌生长的风险增加。虽然冷藏或冷冻保存的血小板产品对急性出血的患者具有一定的止血效力, 但由于冷藏后的血小板可能会被加速清除, 所以它们不适用于预防性的血小板输注^[2]。

一定的浓度和良好的活性是机采血小板发挥生物学作用的前提, 但随着储存时间的推移, 由于血小板储存损伤 (platelet storage lesion) 的发生而导致质量下降。鉴于如何减少血小板储存损伤、保证血小板的质量以及减少血小板输注不良反应等问题的探讨对血小板输注具有临床意义, 本文主要就常温下血小板保存介质的最新研究进展, 主要包括血小板添加剂 (platelet additive solution, PAS) 及以减少血小板储存损伤为目的的新型添加物进行综述。

1 新一代的 PAS

PAS 是上世纪八十年代由 Holme 等^[3]提出的一种类似于实验性的解决方案, 他们第一个指出使用 PAS 可能改善血小板质量。使用 PAS 替换血浆来保存的血小板的益处主要在于^[4]: 1) 避免输注大量的血浆, 以减少输注不良反应和循环超负荷; 2) 改善血小板储存条件, 减轻储存损伤; 3) 使病原体减少技术的应用成为可能; 4) 降低血小板中的血浆含量, 使其用于其它的临床应用。目前的 PAS 使剩余血浆含量多可降至 20%–40%, 但仅能减少部分输注后不良反应。近年来, 通过改进 PAS 的组成成分, 进一步降低剩余血浆浓度至 10% 以下等手段已发展了多代的 PAS, 试图使血小板的储存损伤最小化, 更好地维持体外血小板的质量, 降低输注不良反应。

新一代 PAS 添加的成分主要包括: 葡萄糖、Ca²⁺、碳酸氢盐等。Gulliksson 等^[4]指出, 葡萄糖对血小板新陈代谢的影响尤为突出: 葡萄糖浓度的下降或者缺失, 会引起新陈代谢的速率加快, ATP 水平的下降, 乳酸的产生以及 pH 值的下降, 最终导致血小板的破坏。然而, Sandgren 等^[5]的研究却表明, 在葡萄糖被耗尽后, 仍有一定水平的 ATP 存在且能持续维持几天以上。因此, PAS 中葡萄糖的添加仍存在争议。钙离子在血小板保存中的作用同样存在争议。Wagner 等^[6]发现悬浮在含有钙离子的 95% M-sol/5% 血浆组中的血小板

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.05.033

* 基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2016A030313585); △ 通信作者: 江千里 (1974.10-), 男, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事干细胞研究、造血干细胞移植以及恶性血液病诊治, Email: jianqianli@aliyun.com

与 100% 血浆组的有相近的 pH 值、形态改变度 (ESC), 以及更高的低渗性休克反应水平 (HSR)。而 Sandgren 等^[5] 对 80% PAS/20% 血浆进行研究发现在 9d 的保存时间内, 含有 Ca^{2+} 实验组与不含 Ca^{2+} 对照组中的血小板在新陈代谢和细胞特性上基本一致。碳酸氢盐在维持血浆 PH 值中扮演着重要角色。Radwanski 等人发现: 含碳酸氢盐 PAS 的 PH 值的确对血小板的 PH、碳酸氢盐水平有一定的影响, 但对血小板的功能和代谢的影响很小^[7]。另一方面, 在只含 5% 血浆前提下, Hirayama 等^[8] 将含碳酸氢盐的 M-sol 与不含碳酸氢盐的 PAS2, PAS3, Composol 等进行对比, 结果表明含碳酸氢盐的 M-sol 具有更好的血小板保存效果, 因此, 在血浆含量较低的血小板保存液中, 碳酸氢盐对于更佳的保存效果可能是存在的。目前仍需更多相关的实验研究。

1.1 BRS-A 在日本等国家已有的 PAS 如 PAS-E 等尚未被批准临床使用, 而现有的保存液由于各种缺点无法有效地保存血小板。因此, Oikawa 在 2013 年研制出的 1 种新型 PAS-BRS-A, 由临床上常用的碳酸氢盐林格氏溶液 (BRS) 和柠檬酸盐抗凝剂 (ACD-A) 混合而成^[9], 含有 CaCl_2 、 NaHCO_3 、葡萄糖和柠檬酸等成分。他们发现保存在 BRS-A 中的血小板体外性能和 100% 血浆中血小板相似, 甚至更优。所以, BRS-A 能维持血小板功能, 用它来洗涤和保存血小板是可行的。2016 年, BRS-A 的血小板保存方面的应用得到进一步拓展: 低容量血小板^[10] (volume-reduced washed platelet concentrates) 因能够有效预防循环超负荷和减少过敏反应, 在儿科和有循环超负荷风险的患者中存在临床需求, 经过 Oikawa 等人的实验证明, 用 BRS-A (血浆含量 < 5%) 洗涤后保存在 91mL BRS-A 的血小板, 能保持性能至少 2 d 以上。因此, 该研究提供了一种用 BRS-A 降低血浆含量和减小血小板输注容量的方法。

1.2 M-sol M-sol 产生的背景同 BRS-A, Hirayama 等^[11] 将临床上批准使用的几种溶液 (醋酸盐林格氏溶液、ACD-A、碳酸氢钠溶液和硫酸镁溶液) 混合, 得到一种具有高保存能力的血小板添加液—M-sol。在 14d 的储存期间内, 相比于其他 3 种保存介质 (血浆、PASIIIM、Seto-sol) 来说, 保存在 M-sol 中的血小板展示出了极好的质量和功能。有研究进一步发现: 在极低血浆浓度 (< 5%) 下, 相比于现有的 PAS 和 100% 血浆^[8], M-sol 能更好更长效地维持血小板性能, 进一步证实了 M-sol 作为一种新的 PAS, 在体外保存血小板的优越性和可行性。同时, 在减少输注后不良反应方面, M-sol 同样取得了卓越的效果。Hiroshi 等^[12] 通过对 12 位有严重输注后不良反应的患者进行临床研究发现, 输注剩余血浆低于 5% 的 M-sol 保存的血小板后, 只有 1 位患者出现轻微的过敏反应, 输注后不良反应发生率大幅度下降; 同时, 输注后预防出血的效果也令人满意。在关于儿科患者的回顾性队列研究中^[13], M-sol 保存的血小板也得到了是一致的结论。另外和 BRS-A 一样, 将 M-sol 保存的低容量血小板^[14] 用于婴儿, 循环超负荷和不能长时间输注的患者, 同时减少输注后的不良反应, 可能也是可行的。

2 新型添加物

近年来, 在血小板的保存中, 研究人员还发现了一些可

以减少血小板储存损伤、提高血小板体外储存质量的新型添加物。

2.1 高密度脂蛋白 3 (HDL3) 和载脂蛋白 A-I (apoA-I) HDL3 是人体内血浆脂蛋白中的一类, 载脂蛋白 A-I 是其主要蛋白质之一。由于在体内血小板活化过程中, HDL3 可以通过沉默效应提高血小板的稳定性。Annika 等^[15] 进行了关于 HDL3 和 apoA-I 拮抗血小板储存损伤的研究, 发现在储存过程中, 将 HDL3 或者 apoA-I 加入浓缩的血小板中, 它们能通过提高血小板脂质的稳定性, 维持血小板的功能和减少血小板胞外囊泡的释放, 从而拮抗血小板储存损伤, 提示出 HDL3 或 apo A-I 有改善血小板质量, 延长血小板贮藏的潜力。

2.2 p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase) 抑制物 p38MAPK 是丝裂原活化蛋白激酶家族中控制炎症反应最重要的成员。肿瘤坏死因子 α 转化酶, 经依赖于 p38MAPK 的通路活化, 将降低输注后血小板的复苏^[16]。因此, 将 p38MAPK 信号的抑制物加入到血小板中, 发现不仅明显提高了血小板输注后的生存率, 还显著增强了止血效力。Canault 等^[17] 进行体内研究表明, 加入 p38MAPK 的抑制物, 在提高血小板存活率的同时, 明显增强了血小板对受损血管壁的粘附, 更好地参与血栓形成, 有效缩短了出血时间。接着, Skripchenko 等^[18] 在体外实验中发现, p38MAPK 的信号与血小板储存损伤相关。在储存时, 添加 VX-702 作为 p38MAPK 的抑制物, 能更好地维持血小板结构、功能、代谢参数, 起到延缓血小板储存损伤的效果。因此, 在血小板保存中, 将 p38MAPK 的抑制物作为添加物, 不仅能提高输注的血小板功能, 还能有效减少血小板储存损伤, 改善血小板的质量, 这或许能为血小板的保存提供更好的储存条件。另外, 关于低温储存时 p38MAPK 抑制物对血小板影响的相关研究发现: 在 4℃ 的低温下, p38MAPK 抑制物并没有起到减缓血小板储存损伤的作用^[19]。相反, 在 16℃ 下, VX-702 能通过抑制 p38MAPK 的激活来防止血小板储存参数的衰减, 从而有助于血小板的体外保存^[20]。

2.3 左旋肉碱 左旋肉碱 (L-carnitine, LC), 是 1 种促进脂肪转化为能量的类氨基酸。Sweeney 等^[21] 研究发现, 在血小板浓缩液中, LC 通过促使脂肪酸氧化产生能量, 使通过糖酵解通路产生的能量减少, 从而减少乳酸盐的积累, 阻止 pH 下降。因此, LC 可以有效地改善储存中血小板的新陈代谢, 减少储存损伤^[22], 这提示它可能是一个很好的添加物。

3 结语

有效保持体外血小板的质与量是血小板保存的关键。新一代 PAS 围绕降低血浆含量、减少输注后不良反应和减少血小板储存损伤的目的展开, 研究主要探究保存血小板介质中的重要成分并探讨其相关的作用机制, 由此制备出新一代的 PAS, 再通过实验检验其效能并拓展其临床应用。而对于新型添加物如 HDL3、apoA-I、p38 MAPK 抑制物、L-carnitine 的研究, 主要是通过减少血小板储存损伤等来改善血小板的体外保存。

虽然新一代 PAS 在体外实验中有许多新的尝试, 但绝大

部分都亟待临床试验去验证其实用性;而且各种电解质、新型添加物在血小板细胞层面的作用机制,更存在不少的未知与争议,有待进一步地探究。同时冷藏或冷冻保存的血小板也是近年来的研究热点之一,它可以延长血小板的保存时间,如何解决可能与冷藏相关的输注后血小板的加速清除,将会为临床上血小板的使用提供新的方向。

参 考 文 献

- [1] 冯智慧,胡彬,刘棋. 血小板保存的研究进展. 中国输血杂志, 2009,22(10):854-856.
- [2] Capocelli KE, Dumont LJ. Novel platelet storage conditions. *Current Opinion in Hematology*, 2014,21(6):491-496.
- [3] Holme S, Heaton WA, Courtright M. Improved in vivo and in vitro viability of platelet concentrates stored for seven days in a platelet additive solution. *Br J Haematol*, 1987,66(2):233-238.
- [4] Gulliksson H. Defining the optimal storage conditions for the long-term storage of platelets. *Transfus Med Rev*, 2003,17(3):209-215.
- [5] Sandgren P, Mayaudon V, Payrat JM, et al. Storage of buffy-coat-derived platelets in additive solutions; in vitro effects on platelets stored in reformulated PAS supplied by a 20% plasma carry-over. *Vox Sanguinis*, 2010,98(3p2):415-422.
- [6] Wagner SJ, Skripchenko A, Myrup A, et al. Calcium is a key constituent for maintaining the in vitro properties of platelets suspended in the bicarbonate-containing additive solution M-sol with low plasma levels. *Transfusion*, 2010,50(5):1028-1035.
- [7] Radwanski K, Min K. The role of bicarbonate in platelet additive solution for apheresis platelet concentrates stored with low residual plasma. *Transfusion*, 2013,53(3):591-599.
- [8] Hirayama J, Azuma H, Fujihara M, et al. Comparison between in vitro qualities of platelets washed with commercially available additive solutions and those washed with M-sol. *Vox Sanguinis*, 2010,99(2):131-135.
- [9] Oikawa S, Sasaki D, Kikuchi M, et al. Comparative in vitro evaluation of apheresis platelets stored with 100% plasma versus bicarbonated Ringer's solution with less than 5% plasma. *Transfusion*, 2013,53(3):655-660.
- [10] Oikawa S, Minegishi M, Endo K, et al. In vitro analysis of volume-reduced washed platelet concentrates stored in bicarbonated Ringer's solution containing less than 5% residual plasma. *Vox Sanguinis*, 2016,111(1):16-21.
- [11] Hirayama J, Azuma H, Fujihara M, et al. Storage of platelets in a novel additive solution (M-sol), which is prepared by mixing solutions approved for clinical use that are not especially for platelet storage. *Transfusion*, 2007,47(6):960-965.
- [12] Azuma H, Hirayama J, Akino M, et al. Reduction in adverse reactions to platelets by the removal of plasma supernatant and resuspension in a new additive solution (M-sol). *Transfusion*, 2009,49(2):214-218.
- [13] Yanagisawa R, Shimodaira S, Kojima S, et al. Replaced platelet concentrates containing a new additive solution, M-sol: safety and efficacy for pediatric patients. *Transfusion*, 2013,53(9):2053-2060.
- [14] Hirayama J, Fujihara M, Akino M, et al. Storage of volume-reduced washed platelets in M-sol additive solution for 7 days. *Transfusion*, 2014,54(12):3173-3177.
- [15] Pienimaeki-Roemer A, Fischer A, Tafelmeier M, et al. High-density lipoprotein 3 and apolipoprotein A-I alleviate platelet storage lesion and release of platelet extracellular vesicles. *Transfusion*, 2014,54(9):2301-2314.
- [16] Bergmeier W, Burger PC, Piffath CL, et al. Metalloproteinase inhibitors improve the recovery and hemostatic function of in vitro-aged or -injured mouse platelets. *Blood*, 2003,102(12):4229-4235.
- [17] Canault M, Duerschmied D, Brill A, et al. p38 mitogen-activated protein kinase activation during platelet storage: consequences for platelet recovery and hemostatic function in vivo. *Blood*, 2010,115(9):1835-1842.
- [18] Skripchenko A, Awatefe H, Thompson-Montgomery D, et al. An inhibition of p38 mitogen activated protein kinase delays the platelet storage lesion. *PLoS One*, 2013,8(8):e70732.
- [19] Skripchenko A, Thompson-Montgomery D, Awatefe H, et al. Addition of sialidase or p38 MAPK inhibitors does not ameliorate decrements in platelet in vitro storage properties caused by 4 degrees C storage. *Vox Sang*, 2014,107(4):360-367.
- [20] Wagner SJ, Skripchenko A, Seetharaman S, et al. Amelioration of lesions associated with 24-hour suboptimal platelet storage at 16 degrees C by a p38MAPK inhibitor, VX-702. *Vox Sang*, 2015,108(3):226-232.
- [21] Sweeney JD, Blair AJ, Cheves TA, et al. L-carnitine decreases glycolysis in liquid-stored platelets. *Transfusion*, 2000,40(11):1313-1319.
- [22] Deyhim MR, Meshbah-Namin SA, Yari F, et al. L-carnitine effectively improves the metabolism and quality of platelet concentrates during storage. *Ann Hematol*, 2015,94(4):671-680.

(2016-10-17 收稿, 2017-03-25 修回)

本文编辑:李弘武

· 输血信息化 ·

智慧输血信息管理系统在围术期血液管理中的应用探讨

孙波¹ 葛东梅¹ 刘姝¹ 吕翠² 程聪¹

(青岛大学附属医院 1.输血科;2.心外科,山东 青岛 266003)

摘要: 本文旨在构建智慧输血信息管理系统,探讨其在减少同源异体输血;降低输血相关感染风险、减少输血并发症和避免输血管理差错等几方面来促进和保障手术患者围术期安全,提高围术期血液管理水平的作用。通过连接、整合输血信息管理系统与医院信息系统、实验室信息系统、手术和麻醉系统,实现相关信息共享;将围术期患者术前用血评估与输血预测、术中各种血液保护管理措施信息、术中取血与血液输注管理、术后用血评价与病程记录、输血不良事件报告等环节要素串联成一个环环相扣的工作流程,防止过程或要素遗漏,减少人为干预,使围术期血液管理做到智能化、数字化和规范化。选取智慧输血管理系统应用前后各 1 000 例手术病人,评价其在围术期血液管理中的作用。围术期患者同源异体血输注率明显降低,自体输血率大幅提升,不合理输血率明显降低,杜绝了输血安全事故的发生,确保手术患者用血安全。智慧输血信息管理系统的构建能有效提高手术输血管理水平,促进和保障手术患者输血安全。

关键词: 智慧;输血信息管理系统;血液管理;围术期安全

中图分类号: R457.1 R197.323.2 **文献标识码:** C **文章编号:** 1004-549X(2017)5-0548-03

Application of smart blood transfusion information system in perioperative blood management SUN Bo¹, GE Dongmei¹, LIU Jiao¹, LV Cui², CHENG Cong¹. 1. Department of Blood Transfusion, Qingdao 266003, China; 2. Department of Cardiovascular Surgery, The Affiliated Hospital of Qingdao University.

Abstract: This paper aims to explore the role of smart Blood Information System (s-BIS) in minimizing allogenic transfusion, reducing transfusion associated infection and complication, avoiding the transfusion managing error that could promote, guarantee the safety of patients and improve the blood management level during perioperative period. Blood Information System(BIS) was connected with Hospital information system (HIS), Laboratory Information System (LIS), Surgical and Anesthesia Information System to share the related information. With this s-BIS, prediction and evaluation of blood transfusion during preoperative period, information of blood conservation and blood transfusion during intraoperative period and assessment of blood transfusion and progress notes, reports of adverse transfusion reactions could be integrated into an interlocking work flow which could prevent the omission of process or elements and reduce the manual intervention. The s-BIS could actualize the intelligence, digitalization and standardization of blood management during perioperative period. 1 000 cases of surgical patients were selected to assess the role of s-BIS in perioperative blood management before and after the application of s-BIS, respectively. The incidence of allogenic blood transfusion decreased significantly and the incidence of autologous transfusion increased significantly. The unreasonable rate of transfusion also decreased significantly. The s-BIS could prevent the incidence of blood transfusion safety events and ensure safe blood transfusion in patients. The construction of s-BIS could promote the perioperative blood management and ensure the safe transfusion in patients.

Key words: smart; Blood information system; blood management; perioperative safety

输血治疗是临床上许多疾病的有效治疗措施,也是手术患者大出血时生命安全的保障,但是同源异体输血也存在很多风险,其中一些并发症甚至危及患者生命^[1]。目前我国部分医院围术期输血仍缺乏规范的管理措施,临床医师的输血仍以经验指导所占权重比较大,造成了围术期血液不合理输注率较高;对我院 2015 年下半年 300 例围术期输注异体血患者术后输血评价统计发现,将近 60%的术中输血患者术后血红蛋白水平超过 100 g/L,其中约 30%的术中输血患者术后血红蛋白水平超过 120 g/L,不仅造成了极大的血液浪费,而且伴随着输血相关风险率的提高,直接威胁到了围术

期患者的生命安全。如何科学、合理、有效地使用这一人类稀缺资源,发挥最大的治疗作用,并最大程度避免血液浪费和相关危害,已成为输血行业管理者和从业者关注的焦点。现代医学提倡手术中尽一切可能减少失血,减少手术患者围术期同源异体输血,其目的不仅仅是为了节约血液资源,更重要的是为了保障手术患者生命安全^[2]。因此构建一套智能化、数字化和规范化的围术期输血信息管理系统,将患者术前用血评估与输血预测、术中各种血液保护管理措施信息、术中取血与血液输注管理、术后用血评价与病程记录、输血不良事件报告等环节整合在一个数据库系统,打造一体化的智能分析指导平台,实现对围术期输血管理的全过程动态指导、监管与评价,将有力提高围术期输血管理水平,最大限

度减少同源异体输血,促进和保障患者围术期安全。

1 围术期血液管理

血液管理是指运用循证医学的理念,以患者为中心,科学应用安全有效的多学科技术,减少或避免输注异体血,并最终改善患者临床转归。血液管理的原则是尽量减少同源异体输血,选择适合的血液制品,在适当的时机、以适合的剂量输给适当的患者。制定和实施合理的围术期血液管理方案,可通过降低感染风险、消除输血反应、缩短住院时间、减少管理差错等几个方面促进和保障患者安全。有效的围术期血液管理还能够减少同源异体输血,最大程度节约并保护血源。围术期血液管理为尽量避免同源异体输血,应采取一系列现代血液保护干预措施,包括设备、药物及各种医疗技术的应用,限制异体血液制品的输注。其具体措施有:1) 使用增加术前血容量的药物,如促红细胞生成素,或减少术后出血的药物,如抗纤溶药;2) 在术中使用能保存节省血液的设备,如血细胞回收设备;3) 保证患者自身血液不受手术应激的影响,即在术前自体贮血和等容性血液稀释;4) 引入血栓弹力图(TEG)技术,指导围术期精准化血液输注;5) 最重要的是血液保护应采取多模式方法,即前4项措施的综合应用。

2 围术期智慧输血信息管理系统

尽管减少异体输血和血液保护已成为关注热点,但输血量仍在逐年增加。根据卫生部统计,2011年全国无偿献血人次已达1 232万,献血已达4 164吨,但仍不能满足临床用血的需要。并且血液使用过程中存在不可忽视的浪费(人情血、安慰血、无效输血等)。以我院的手术输血为例,2015年下半年,我院手术用红细胞申请量为11 952 U,实际使用量为2 374 U;申请量和实际用量相差较大会造成输血前检测的极大浪费,离用血申请规范化还有很大距离;在输血效果评价方面,将近60%的术中输血患者术后血红蛋白水平超过100 g/L,其中约30%的术中输血患者术后血红蛋白水平超过120 g/L,不仅造成了极大的血液浪费,而且伴随着输血相关风险率的提高,直接威胁到了围术期患者的生命安全;以上的统计数据在很大程度上反映了在申请血液时对适应症掌握不严和血液使用的不合理。如何使有限的血液资源发挥最大的作用,提高输血工作的安全性、有效性,减少血液浪费、降低经济损失和社会风险已成输血行业的管理者和从业者必须关注的重要问题之一。

我院从2016年起与东华软件股份公司合作,建立和应用围术期输血信息管理系统V6.4.284版本,将患者术前用血评估与输血预测、术中各种血液保护管理措施信息、术中取血与血液输注管理、术后用血评价与病程记录、输血不良事件报告等环节整合在一个数据库系统,打造一体化的智能分析指导平台,实现对围术期输血管理的全过程动态指导、监管与评价,有力地提高围术期输血管理水平,最大限度减少同源异体输血,促进和保障患者围术期安全。

2.1 设计思路 围术期输血信息管理系统V6.4.284以《国际疾病分类第十次修订本(ICD-10)临床版》的标准诊断中

的病种名称为查询统计条件,回顾性分析单病种患者输血量与输血效果的关系,预测该病种患者的最佳输血量,对临床输血进行循证指导,以供临床医生参考;通过与患者在医院HIS、LIS、手麻等系统所有输血相关信息的实时数据交互,实现了对围术期血液使用的动态监控管理;为设置评价医师临床用血过程合理性的参数标准,提高输血申请合格率,制定新的标准化输血效果评价体系,减少同源异体输血率以及促进和保障患者围术期安全奠定了基础。

2.2 围术期输血信息管理系统的构建 围术期输血信息管理系统V6.4.284整个系统由输血回顾性数据分析子模块、输血评估和输血预测子模块、输血管管子模块、输血疗效评价子模块4大部分组成,总体设计方案如下。

2.2.1 输血回顾性数据分析子模块 回顾性分析单病种患者平均手术失血量,根据输血量与输血效果的关系,统计出患者的最佳输血量,对临床输血申请进行数字化指导,包括血小板和冷沉淀等特殊血液制品的使用情况,以供主管医师参考。

2.2.2 输血评估和输血预测 输血预测模块用以预测患者需要输血时的实际输血量,防止血液的过度消耗,使血液的使用趋于合理。将临床医生给出的不规范诊断归类到《国际疾病分类第十次修订本(ICD-10)临床版》的标准诊断中,系统提供出回顾性分析该单病种患者的平均失血量和最佳输血量,以供临床医生参考。临床医生根据系统提供的数据,结合现代血液保护技术来决定对患者进行术前评估,决定是否需要准备异体血以及需要准备异体血的品种和数量等。术前充分评估,个体化治疗方案的制定是节约用血的前提;术前评估是围术期输血管理的第一步。全面的术前评估能够有效地减少围术期出血的可能性。本科室自2016年开始实施手术风险分级管理制度,根据患者的基础病情、手术级别、手术难度对每一例手术进行风险评估,分级管理。

2.2.3 输血管管子模块 围术期输血管理需要手术科室、麻醉科、手术室、输血科等多科室的共同协作。外科医师在台上实施手术时,需要麻醉医师实时监测患者的血压、心率、血氧饱和度、尿量及显性失血量,从而对总体失血量进行把控;辅以术中血气分析、活化凝血时间监测、血栓弹力图等检查和术中快速血红蛋白测定等手段,做到全面、有效地监测、评估,并有针对性地进行成分输血。本系统对以临床用血进行全过程管理,使临床医师从用血申请开始,掌握输血指征和输血适应症,精确计算实际输血量,了解血液制品的功能,正确选择血液成分,实现个体化、精细化输血。对不合理的用血进行干预,节约血液资源。输血科采取的是ABO抗原和Rh血型5种抗原相合的电子配血技术,可以有效的避免Rh系统抗体的产生,同时也减少了输血不良反应的发生,提高了手术输血的安全性。

2.2.4 输血效果评价 当患者输血并做完检查后,系统可自动抓取输血前后患者的各项检测结果,根据后台给出的公式进行计算,对输血效果做出初步评价,可准确及时地评价临床输血效果,查找输注不合理的原因,降低血液输注不合理率。

3 数据比较

选取 2015 年下半年和 2016 年上半年各 1 000 例手术备血患者为统计对象,对比围术期输血管理信息系统实施前后在手术备血使用率、红细胞输注量与计划量比率和红细胞输

注效果评价等方面进行比较,得出结果:围术期输血管理信息系统实施后手术备血异体血输血量率明显下降,输注异体血患者备血利用率明显提高,围术期患者输血不合理率显著下降(表 1)。

表 1 智慧型输血管理系统应用前后手术输血合格率比较

	输血例数/备血例数	红细胞输注量/红细胞计划量	输血合格率	输血不合格率(Hb>100)
2015 年 7-12 月	27.6%(276/1 000)	56.5%	41.7%(115/276)	58.3%(161/276)
2016 年 1-6 月	15.3%(153/1 000)	86.3%	78.6%(120/153)	21.4%(33/153)

4 结论

总之,围术期输血信息管理系统的实施,实现了对围术期患者临床用血的全过程动态管理。围术期患者同源异体血输注率明显降低,自体输血量率大幅提升,不合理输血量率明显降低,杜绝了输血安全事故的发生,确保手术患者用血安全,促进并保障手术患者围术期安全。这将有力提升围术期血液管理水平,并将产生较大的社会效益与经济效益。

参 考 文 献

- [1] Murphy MF, Waters JH, Wood EM, et al. Transfusing blood safely and appropriately. BMJ, 2013, 347: f4303.
- [2] 张卫. 输血与围术期血液管理. 实用医院临床杂志, 2014, 11(2): 6-8.

(2016-09-10 收稿, 2017-03-25 修回)

本文编辑:李弘武

第一届两江输血医学论坛暨渝台输血医学学术交流会在重庆召开

本刊讯 2017 年 5 月 4-7 日,由重庆市医学会、重庆市输血协会、重庆市医师协会、台湾输血学会联合主办,第三军医大学新桥医院承办的中国重庆第一届两江输血医学论坛暨渝台输血医学学术交流会在重庆君豪大饭店成功举行,来自全国各地的医疗机构、采供血机构的输血医学专业技术人员、管理人员等共 500 余人参加了会议。

两位会议执行主席,重庆市输血协会理事长何涛、重庆市医师协会输血科医师分会会长李忠俊共同主持了开幕式。中国输血协会理事长朱永明、台湾输血学会理事长朱芳业分别发表了贺辞,重庆市医师协会会长赵兴吉与大会名誉主席、重庆市医学会输血学专委会主任委员赵树铭分别致欢迎辞。

大会报告环节,朱永明、刘嘉馨、Khalid Mehmood Zia(巴基斯坦)、赵树铭、钱宝华、李忠俊、朱芳业、宫济武、詹林盛、刘忠和兰炯采等教授各自作了等作了精彩的演讲。大会开设了临床输血论坛、采供血论坛两个分会场,15 位专家学者应邀作了专题报告。经过大会学术委员会专家的评审,从所有大会投稿论文中,选出了 11 篇优秀论文做大会交流并向《中国输血杂志》和《重庆医学》推荐发表。

参会代表普遍表示,此次大会日程安排合理,报告内容丰富新颖,具有极高的理论前瞻性,同时也切合临床工作实际,对各医疗机构临床安全输血工作具有重要的指导作用。

(俞学舒 供稿)