

中国输血杂志

ZHONGGUO SHUXUE ZAZHI

月刊 1988 年 3 月创刊 第 30 卷 第 1 期 2017 年 1 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

15.00 元/期 全年180.00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

临床用血全面质量管理体系与智能信息化专题(上)

临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径构建 刘威 曹磊 乐爱平等(1)

临床输血评估评价全程闭环智能路径构建及其应用 胡飘萍 刘威 乐爱平等(5)

血液标本全程闭环智能路径质量和安全实时控制 黄雯 刘威 乐爱平等(9)

基础医学与实验研究

透明质酸水凝胶三维培养促进人胚胎干细胞向红系细胞诱导分化 曾宪波 毛斌 马峰等(12)

KIRs 在 HLA 全相合造血干细胞移植供患者 NK 细胞上的分布 王东梅 王中梅 单晓燕等(17)

江苏地区汉族人群血小板 CD36 抗原表达差异的研究 庄云龙 段志敏 陈青等(19)

维生素 C 和氯-乙酰半胱氨酸抑制悬浮红细胞氧化应激损伤量效关系的初步比较 杨琨 王红 刘嘉馨等(22)

混合浓缩血小板保存期质量变化研究 王世春 易中梅 赵树铭等(27)

载血小板复合生长因子明胶缓释微球制备及其体外缓释作用研究 王玲 单桂秋 张卫等(30)

ABO 血型抗原检测胶体金试剂条的研制及应用 胡晶高 (34)

临床研究

手术患者红细胞输注计划与实施符合性评价研究与应用 孙福廷 冀宝军 王立萍 (38)

恶性血液病患者化疗后出血与血小板计数和白细胞计数的关系 徐金格 陈令松 张秋荣等(40)

临床用血电子评估监控系统对临床用血的影响 蒋璐茜 张伟慧 陈秉宇等(43)

自身免疫性溶血性贫血患者输血治疗的回顾性分析 王立新 陈春霞 秦莉等(45)

膝关节手术患者临床用血分析 罗圆圆 陈麟凤 汪德清等(48)

调查研究

广西造血干细胞骨髓库 HLA-A、B、DRB1 高分辨等位基因多态性研究 黄惠妮 裴永峰 李恒聪等(51)

北京地区 RhD 阴性献血人群 Rh 血型研究 闫芳 张磊 张烨等(56)

重庆地区健康献血人群弓形虫抗体检测结果分析 徐敏 毛伟 何苗等(58)

广州地区 2010-2015 年无偿献血来源及合格率分析 杜荣松 王淏 郑优荣等(60)

宁夏血液中心 2011-2015 年临床供血调查及分析 柳芳梅 梁社玲 段彩红等(63)

在校本科生再次献血行为及影响因素分析

..... 王艳梅 窦东梅 李博 (65)

2005-2014年江门市无偿献血者血液检测淘汰

情况 廖惠容 翁远桥 古锦萍等(67)

Lewis 血型系统抗体在备血患者中检出情况分析

..... 吴思梦 王秋实 何燕京等(70)

输血科拒收不合格标本原因分析与持续改进

..... 徐荣华 秦雯 熊春花等(72)

经验与方法

对多次单采血小板献血者外周血象部分参数

变化的观察 叶盛 郑珊峡 傅强 (75)

血液筛查核酸检测结果无效原因分析

..... 陈少彬 何子毅 陈庆恺等(77)

机采血小板互助献血者血液安全风险分析

..... 陈乐丹 陈李 郑盈盈等(80)

个例报告

新等位基因 HLA-B^{*} 15:179:02 的确认和基因序列

分析 吕蓉 邢昕 於娟等(82)

输血管理

乌鲁木齐市无偿献血宣传及团队无偿献血的实践

和思考 万建华 张洪斌 赵炜等(84)

输血信息化

血站血液信息管理系统容灾措施浅析

..... 李鹏 李秦 (87)

综述

储存红细胞输注导致机体损伤及机制研究进展

..... 樊凤艳 汪德清 (90)

术中回收式自体输血在产科患者中的应用

..... 容晓莹 郭向阳 曾鸿等(94)

新鲜冰冻血浆的应用进展 王亚杰 杜春红 (99)

血液质量管理

英国和美国 AABB 红细胞输注指南推荐意见的

比较 郭永建 (104)

《中国输血杂志》稿约 (107)

信息窗

2017 年本刊专题报道(8) 《中国输血杂志》编辑部邮售书

(刊)目(33) 中国输血协会第七届理(监)事会成员名单

(42) 本刊编委评选的 2016 年“中国输血 10 大热点”、“国

际输血 10 大潮流(趋势)”(50) 严正声明(69) 《《中国输

血杂志》创刊 25 周年纪念专辑》出版(74) 《临床单病种输

血》专著出版(86)

彩页索引

CompoFlow 自动易折键(费森尤斯卡比)

(封二)

(目次)

斯达必集血型仪(澳斯邦生物)

(首页)

(对文)

ORTHO 血型检测工作站(奥森多医疗)

(目次前)

(对文)

采供血设备(威高集团)

(目次前)

(对文)

采供血设备(爱康生物)

(目次)

(对文)

采供血设备(美国血液技术)

(目次)

(封三)

血红蛋白分析仪、HTLV 检测试剂盒(艾康生物)

(目次)

(封底)

中国科技核心期刊收录证书

(目次)

中国输血杂志简介

(目次)

一体化采血系统(达科为医疗)

(对文)

酶标仪、洗板机(赛默飞世尔)

(对文)

采供血设备(上海输血技术)

(对文)

采供血设备(上海若骊生物)

(对文)

采供血设备(美国血液技术)

(封三)

恭贺新年(贝索企业)

(封底)

| | | | | | | | | |
|-----------------------|-----|---------|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| 本期责任编辑(以姓名汉语拼音为序):安万新 | 蔡旭兵 | 陈利民 | 陈 强 | 陈勤奋 | 单桂秋 | 傅雪梅 | 甘茂周 | 葛红卫 |
| 桂 嵘 | 韩 颖 | 何 苗 | 纪宏文 | 江咏梅 | 李碧娟 | 李长清 | 李金明 | 李聚林 |
| 李 平 | 李志强 | 李忠俊 | 梁晓华 | 刘凤华 | 刘 忠 | 陆志刚 | 吕 蓉 | 栾建凤 |
| 骆 群 | 马曙轩 | 孟庆宝 | 聂咏梅 | 欧阳锡林 | 钱开诚 | 秦 莉 | 邱 艳 | 任芙蓉 |
| 戎 霞 | 邵超鹏 | 沈行峰 | 宋 宁 | 苏 毅 | 王全立 | 魏 晴 | 魏亚明 | 文 军 |
| 杨宝成 | 杨江存 | 尹 文 | 于 洋 | 曾劲峰 | 詹林盛 | 张 兰 | 张 曦 | 张循善 |
| 张 燕 | 张印则 | 赵国庆 | 赵树铭 | 郑优荣 | 周华友 | 周 俊 | 周小玉 | 朱发明 |
| 朱永宝 | 朱自严 | 庄云龙(特邀) | | | | | | |

本期责任编辑:蔡辉

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 1

Jan 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

- Construction of the whole closed loop intelligent path for clinical blood use management and evaluation of information system**
..... LIU Wei, CAO Lei, LE Aiping, et al(1)
- Construction and application of the whole closed-loop intelligent path on assessing and evaluating clinical transfusion**
..... HU Piaoping, LIU Wei, LE Aiping, et al(5)
- Quality and safety real time control of closed loop intelligent path of whole blood samples process**
..... HUANG Wen, LIU Wei, LE Aiping, et al(9)
- Three dimensional culture in hyaluronic acid based hydrogel promotes proliferation of erythroid cells derived from hESCs**
..... ZENG Xianbo, MAO Bin, MA Feng, et al(12)
- The prevalence of NK cell KIRs of donor/recipient pairs in HLA-matched unrelated allo-HSCT**
..... WANG Dongmei, WANG Zhongmei, SHAN Xiaoyan, et al(17)
- Study on diverse expression of platelets CD36 antigen in Han population in Jiangsu, China**
..... ZHUANG Yunlong, DUAN Zhimin, CHEN Qing, et al(19)
- The primary contrast of VC and NAC dose-effects on oxidative stress damage of stored RBC**
..... YANG Kun, WANG Hong, LIU Jiaxin, et al(22)
- Study on the quantity of pooled platelet concentrates during storage period**
..... WANG Shichun, YI Zhongmei, ZHAO Shuming, et al(27)
- Study on preparing gelatin microspheres which carry and release platelet compound growth factors and examining their releasing effect in vitro**
..... WANG Ling, SHAN Guiqiu, ZHANG Wei, et al(30)
- Preparation and application of colloidal gold immunochromatographic test strip for ABO blood group antigen detection**
..... HU Jinggao(34)
- Research and application of conformity assessment on red blood cell transfusion in surgical patients in planning and implementation**
..... SUN Futing, JI Baojun, WANG Liping(38)
- White blood cell and platelet count of post-chemotherapy hemorrhage in patients with hematologic malignancies**
..... XU Jing, CHEN Lingsong, ZHANG Qiurong, et al(40)
- Effects of electronic assessment monitoring system on blood transfusion**
..... JIANG Luxi, ZHANG Weihui, CHEN Binyu, et al(43)

| | |
|--|---|
| Retrospective analysis on transfusion efficiency in patients with autoimmune hemolytic anemia | WANG Lixin, CHEN Chunxia, QIN Li, et al(45) |
| Investigation and analysis of blood transfusion for clinical patients with knee surgery | LUO Yuanyuan, CHEN Linfeng, WANG Deqing, et al(48) |
| Polymorphism analysis of HLA-A, -B, -DRB1 alleles and haplotypes at high-resolution level in donors from marrow donor program registry of Guangxi | HUANG Huini, PEI Yongfeng, LI Hengcong, et al(51) |
| Investigation of Rh phenotypes in Rh-negative individuals in Beijing | YAN Fang, ZHANG Lei, ZHANG Ye, et al(56) |
| Investigation and research on Toxoplasma gondii infection of volunteer blood donors in Chongqing, China | XU Min, MAO Wei, HE Miao, et al(58) |
| Trend analysis of non-remunerated blood sources and quality of donated blood in Guangzhou, 2010–2015 | DU Rongsong, WANG Hao, ZHENG Yourong, et al(60) |
| Investigation and analysis of blood supply for clinic from Ningxia Blood Center from 2011 to 2015 | LIU Fangmei, LIANG Sheling, DUAN Caihong, et al(63) |
| Behavior of repeated non-remunerated blood donation and its influencing factors among university students | WANG Yanmei, YAN Donghai, LI Bo(65) |
| Statistical analysis on the situation of disqualifying unpaid blood donors in Jiangmen in 2005–2014 | LIAO Huirong, WENG Yangqiao, GU Jingping, et al(67) |
| Analysis on detection of Lewis blood group system antibodies in patients with blood preparation | WU Simeng, WANG Qiushi, HE Yanjing, et al(70) |
| Cause analysis and continuous improvement of unqualified samples in blood transfusion department | XU Ronghua, QIN Wen, XIONG Chunhua, et al(72) |
| Observation of the changes of peripheral blood parameters in frequent platelet apheresis donors | YE Sheng, ZHENG Shanxia, FU Qiang, (75) |
| Analysis of the result invalidation in nucleic acid amplification technology for blood screening | CHEN Shaobin, HE Ziyi, CHEN Qingkai, et al(77) |
| Blood safety risk analysis on aphaeresis platelet donation from mutual assistance blood donors in Wenzhou City | CHEN Ledan, CHEN Le, ZHENG Yingying, et al(80) |
| Practice and reflection on the promotion of voluntary blood donation and group blood donation in Urumqi | WAN Jianhua, ZHANG Hongwu, ZHAO Wei, et al(84) |
| An analysis for disaster tolerant measures of blood information management system in a blood station | LI Peng, LI Qin(87) |
| Research progress on injures and related mechanisms caused by transfusion of preserved erythrocytes | FAN Fengyan, WANG Deqing(90) |
| Application of intraoperative cell salvage in obstetric patients | RONG Xiaoying, GE Xiangyang, ZENG Hong, et al(94) |
| Progress of fresh frozen plasma application | WANG Yajie, DU Chunhong(99) |
| Comparison between the recommendations in the British and AABB guidelines on red blood cell transfusion | GUO Yongjian(104) |

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 |
| 杨成民 YANG Chengmin | 田兆嵩 TIAN ZhaoSong | 吴国光 WU Guoguang | 江朝富 JIANG Chaofu |
| 兰炯采 LAN Jiongcai | 林武存 LIN Wucun | 单藕琦 SHAN Ouqi | 孙绍忠 SUN Shaozhong |

李芳 LI Fang
刘文芳 LIU Wenfang

名誉主编 Honor Editor-in-Chief

郑忠伟 ZHENG Zhongwei 王惺惺 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 |
| 郭永建 GUO Yongjian | 何涛 HE Tao | 胡伟 HU Wei | 李剑平 LI Jianping |
| 刘景汉 LIU Jinghan | 马峰 MA Feng | 逄淑涛 PANG Shutao | 裴雪涛 PEI Xuetao |
| 宋秀宇 SONG Xiuyu | 孙常翔 SUN Changxiang | 孙俊 SUN Jun | 汪德清 WANG Deqing |
| 王兆福 WANG Zhaofu | 王震 WANG Zhen | 许建荣 XU Jianrong | 杨文玲 YANG Wenling |
| 赵国庆 ZHAO Guoqing | 周俊 ZHOU Jun | 朱永明 ZHU Yongming | |

付涌水 FU Yongshui
刘江 LIU Jiang
秦敬民 QIN Jingmin
王双林 WANG Shuanglin
叶世辉 YE Shihui

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 |
| 陈勤奋 CHEN Qinfen | 陈青 CHEN Qing | 崔徐江 CUI Xujiang | 戴宇东 DAI Yudong |
| 董伟群 DONG Weiqun | 窦桂芳 DOU Guifang | 樊晶 FAN Jing | 范道旺 FAN Daowang |
| 冯晓燕 FENG Xiaoyan | 傅强 FU Qiang | 甘茂周 GAN Maozhou | 高东英 GAO Dongying |
| 葛红卫 GE Hongwei | 宫锋 GONG Feng | 宫济武 GONG Jiwu | 谷俊侠 GU Junxia |
| 韩威 HAN Wei | 韩颖 HAN Ying | 何军 HE Jun | 侯继锋 HOU Jifeng |
| 黄成垠 HUANG Chengyin | 纪宏文 JI Hongwen | 贾永前 JIA Yongqian | 江咏梅 JIANG Yongmei |
| 蒋学兵 JIANG Xuebing | 焦淑贤 JIAO Shuxian | 靳艳华 JIN Yanhua | 孔长虹 KONG Changhong |
| 乐爱平 LE Aiping | 黎诚耀 LI Chengyao | 李碧娟 LI Bijuan | 李长清 LI Changqing |
| 李建斌 LI Jianbin | 李金明 LI Jinming | 李聚林 LI Julin | 李平 LI Ping |
| 李志强 LI Zhiqiang | 李忠俊 LI Zhongjun | 练正秋 LIAN Zhengqiu | 梁晓华 LIANG Xiaohua |
| 林东军 LIN Dongjun | 刘风华 LIU Fenghua | 刘嘉馨 LIU Jiaxin | 刘进 LIU Jin |
| 刘铁梅 LIU Tiemei | 刘衍春 LIU Yanchun | 陆志刚 LU Zhigang | 栾建凤 LUAN Jianfeng |
| 骆群 LUO Qun | 吕蓉 LV Rong | 马廉 MA Lian | 马曙轩 MA Shuxuan |
| 孟庆宝 MENG Qingbao | 孟忠华 MENG Zhonghua | 苗天红 MIAO Tianhong | 穆士杰 MU Shijie |
| 欧阳锡林 OUYANG Xilin | 彭涛 PENG Tao | 戚海 QI Hai | 钱宝华 QIAN Baohua |
| 秦莉 QIN Li | 邱艳 QIU Yan | 饶绍琴 RAO Shaoqin | 任芙蓉 REN Furong |
| 单桂秋 SHAN Guiqiu | 邵超鹏 SHAO Chaopeng | 沈行峰 SHEN Xingfeng | 宋宁 SONG Ning |
| 孙玉英 SUN Yuying | 唐长玖 TANG Changjiu | 田亚平 TIAN Yaping | 汪传喜 WANG Chuanxi |
| 王保龙 WANG Baolong | 王海平 WANG Haiping | 王洪波 WANG Hongbo | 王鸿捷 WANG Hongjie |
| 王全立 WANG Quanli | 王同显 WANG Tongxian | 王学锋 WANG Xuefeng | 王迅 WANG Xun |
| 王毅 WANG Yi | 魏晴 WEI Qing | 魏亚明 WEI Yaming | 文爱情 WEN Aiqing |
| 吴谨 WU Jin | 吴涛 WU Tao | 奚永志 XI Yongzhi | 夏荣 XIA Rong |
| 项红兵 XIANG Hongbing | 肖南 XIAO Nan | 肖小璞 XIAO Xiaopu | 谢亦武(香港) Vincent Xi-Wu XIE |
| 邢颜超 XING Yanchao | 徐华 XU Hua | 徐卫平 XU Weiping | 许金波 XU Jinbo |
| 杨宝成 YANG Baocheng | 杨江存 YANG Jiangcun | 杨仁池 YANG Renchi | 叶明亮 YE Mingliang |
| 尹建平 YIN Jianping | 尹文 YIN Wen | 于群 YU Qun | 于笑难 YU Xiaonan |
| 于洋 YU Yang | 岳文 YUE Wen | 詹林盛 ZHAN Linsheng | 张贺秋 ZHANG Heqiu |
| 张曦 ZHANG Xi | 张循善 ZHANG Xunshan | 张燕 ZHANG Yan | 张印则 ZHANG Yinze |
| 章金刚 ZHANG Jingang | 章旭 ZHANG Xu | 曾劲峰 ZENG Jinfeng | 赵树铭 ZHAO Shuming |
| 郑优荣 ZHENG Yourong | 周虹 ZHOU Hong | 周华友 ZHOU Huayou | 周吉成 ZHOU Jicheng |
| 周英 ZHOU Ying | 朱发明 ZHU Faming | 朱明 ZHU Ming | 朱培元 ZHU Peiyuan |
| 朱永宝 ZHU Yongbao | 朱自严 ZHU Ziyan | 庄辉 ZHUANG Hui | 邹汉武 ZOU Hanwu |
| 外籍(International) | | | |

陈强 CHEN Qiang
邓志辉 DENG Zhihui
冯觉平 FENG Jueping
高明 GAO Ming
桂嵘 GUI Rong
胡丽华 HU Lihua
蒋天伦 JIANG Tianlun
赖福才 LAI Fucai
李翠莹 LI Cuiying
李维 LI Wei
廖辉 LIAO Hui
刘素芳 LIU Sufang
罗广平 LUO Guangping
毛伟 MAO Wei
聂咏梅 NIE Yongmei
钱开诚 QIAN Kaicheng
戎霞 RONG Xia
苏毅 SU Yi
汪新民 WANG Xinmin
王乃红 WANG Naihong
王燕宁 WANG Yanning
文军 WEN Jun
向东 XIANG Dong
谢毓滨 XIE Yubin
阎石 YAN Shi
叶欣 YE Xin
于新发 YU Xinfai
张兰 ZHANG Lan
张哲 ZHANG Zhe
郑山根 ZHENG Shangen
周小玉 ZHOU Xiaoyu
朱易萍 ZHU Yiping
邹峥嵘 ZOU Zhengrong

本期关注

新年竟相到。当您拿到本期杂志时,无论西历、还是中历,都已步入新的一年——公元2017年、丁酉火鸡年。按中国文化传统的习惯,翻过一年,一个人的年龄便又(虚)长了一岁,本期杂志编序为第30(2017)年卷第1期,也就是说从这一期(刻)始便迈进了“而立”之年。谁都不能否认:自第1(1988)年卷第1期面世至今,本刊已从那个初生时牙牙学语、亦曾蹒跚举步的稚嫩孩童,长成(出落)为“知书达理(礼)”、“言行恰当”(“三十而立”的标识)的成熟知性女生!

成熟,可从本刊具有的眼光和站立的基点反映出来。由本刊编委票选出的年度中外输血“双10大”至今年已是相伴春风第五度。尽管投票者依然有限、海选也分散了票源,个别“热点”“潮流”可能与其他行家里手印象中的常见“仁”“智”不符,但每个投票者及其所投的每张选票仍足以代表本刊“胸怀祖国,放眼世界”的视野和高度——这恰是编者笃信办好本刊、学界和行业及其众多读者与作者器重本刊的缘由。知性,则体现自本刊恰当的定位及对输血医学发展实践中真问题的敏感和悟性。由编辑部提议征集、编委选题组稿的“专题”,自2008年第1期(本刊从此扩版为月刊)开始,到今天整整9年几乎期期奉献给读者,它们无不是输血科研人员所专注,或临床输血工作者所热衷,或血液质量管理者所寻思的课题,更是本刊得以聚焦行业眼球、成为期刊核心的原因。

输血医学学术与技术的发展,临床用血的供需矛盾,都对“以患者为中心,关注患者的临床转归”,确保输血科学安全有效以及质量持续改进提出了更高要求。全面质量管理引入临床用血管理实践,从“法”(国家、行业的相关法规、技术规范有明确要求)“理”(先进的管理理念、体系化的管理模式)上满足了这一更高要求;然而该体系(理念)虽然在医疗机构的管理中提出有年,不少医院及输血科也采用了多种质量管理体系(从输血技术规范到冠以“ISO”的质量体系认证),惜乎重管理形式、轻管理过程,管理机制多为事后评价的现象仍普遍存在,使得全面质量管理应有的系统性、科学性、全面性优势难见。究其根本原因,不能不说这是管理体系缺乏明确的承载体与清晰的基本面所致;大数据时代的来临和“精准输血”的实施,临床用血全程信息系统的建立,足可保障临床输血全面质量管理目标的实现和质量的不断提升——这便是“临床用血全面质量管理体系与智能信息化专题”的中心要义。本期《临床用血管理与评价体系系统全程闭环智能路径构建》一文,总括性地介绍了集成临床用血

全面质量管理体系构建,涵盖临床输血全程并全程在闭环智能路径上运行的临床用血管理与评价信息系统的开发与应用,凭藉此不但可持续提升临床用血质量管理和科学、安全、有效输血的水平,进而可为单病种、个体化精准输血和依赖大数据的循证输血提供坚实基础。在此“总论”下的各篇专论,“集成”全程闭环智能路径中的“临床用血评估评价”、“临床用血全面质量管理体系的构建”、“临床用血的实时质控”、“血液标本质控”、“血液制剂质控”、“输血不良事件控制与输血安全预警”,全景式地展示了临床用血全面质量管理依傍大数据时代的智能信息化系统所达到的高度,即便它还远未“完备”,但却已开拓出“持续改进”的更大空间!

本刊各“研究”栏目中的文章理应是本刊的“海拔”,虽然可能业有专攻的学者、趣味迥然的读者会自持个人的评判标尺,但作为编者,我们视其为本刊水平的“绝对高度”。如本期的“封面论文”《透明质酸水凝胶三维培养促进人胚胎干细胞向红系细胞的诱导分化》作者,在前期建立的hESCs向红系细胞诱导体系的基础上,探索生物材料对红细胞分化成熟的促进效果,选择3种生物材料对诱导后期获得的红系细胞做三维培养,筛选出最适体系并最终确定透明质酸水凝胶三维培养有利于红系细胞成熟度提高;该文的水平和新颖处不但在于作者得出的结果,而且还可被当作研究设计、实验操作、结果记录、意义阐释的模本或范式。再如《江苏地区汉族人群血小板CD36抗原表达差异的研究》,其结果说明CD36抗原这种与免疫性血小板减少症相关、会导致血小板输注无效的膜蛋白,即便在“小样本量”的随机人群中表达也是多样的,由此导致的多种疾病,当然也会影响献血者的献血行为和后果。当然,高度还需要广度的背衬,更开放、宽阔的视野才能显出高度的厚重来,此为本刊设置多种栏目以及它们反映出的“多样性”意义所在。

本期“血液质量管理”专栏文章《英国和美国AABB红细胞输注指南推荐意见的比较》,以近期英美两国发布的《NICE输血指南》和《AABB临床实践指南》为文本,比较评介了二者在红细胞输注阈值、目标及输注量,输注红细胞保存时间,指南实施的助推等方面的不同。特别要指出的是,该文对输血策略术语“正解”(翻译)做了辨析和厘清,本刊对此首肯,因为本刊与生俱来的还有1项使命——使中文输血医学学术用语规范化、标准化——这同样可见证本刊的成熟、高度和视野!

· 论著 · · 临床用血全面质量管理体系与智能信息化专题(上) ·

临床用血管管理与评价信息系统全程闭环智能路径构建 *

刘威¹ 曹磊¹ 李建林¹ 龚剑国¹ 李劲波² 向军² 熊伟² 范时海² 乐爱平^{1△}

(1.南昌大学第一附属医院,江西南昌 330006;2.江西先锋信息产业有限公司)

摘要:目的 通过对临床用血管管理与评价信息系统的全程闭环智能路径构建,以建立科学化、标准化、全程闭环路径智能化的临床用血全面质量管理体系。**方法** 依据我国现行输血相关法规和技术规范的管理要素和技术要素,按照以患者为中心,关注患者临床转归,全程质量和安全实时控制,做我所写、写我所做、质量持续改进的临床用血全面质量管理总体要求,采用.NET 框架的B/S/S 和C/S/S 相结合的模式,应用 Oracle 数据库技术和 SOA 服务技术对临床用血的设备、人员、材料、环境、法则等要素进行全程闭环智能路径构建。**结果** 1)成功构建了全程闭环智能路径信息化的临床用血全面质量管理体系;2)全程闭环智能路径涵盖了临床用血全过程,包括了临床输血评估评价、异体输血、自体输血与用血数据库,血液标本,血液制剂,质量分析与持续改进等,实现了路径间无缝对接,信息智能共享,全程实时控制及质量分析与持续改进;3)该路径具备了路径轨迹闭环化、过程溯源循证化、功能智能集成化、质量和安全实时控制化及质量持续改进的功能特点。**结论** 临床用血全程闭环智能路径能有效实现医疗机构临床用血全面质量管理,提升科学安全有效用血水平,为医疗机构和行政部门输血管理决策提供循证依据,同时亦为探索单病种个体化精准输血治疗和大数据临床输血循证研究提供了坚实基础。

关键词: 全程闭环;智能路径;临床用血;信息系统;全面质量管理;质量持续改进**中图分类号:**R457.1 TP311.52 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0001-04

Construction of the whole closed loop intelligent path for clinical blood use management and evaluation of information system LIU Wei¹, CAO Lei¹, LI Jianlin¹, GONG Jianguo¹, LI Jingbo², XIANG Jun², XIONG Wei², FAN Shihai², LE Aiping¹. 1. The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi Ahead Information Technology Industry Co. Ltd. Corresponding author: LE Aiping.

Abstract: Objectives To establish a scientific, standardized and whole closed-loop intelligent path in total quality management system for clinical blood use through the construction of whole closed loop intelligent path for clinical blood use management and the evaluation of information system. **Methods** Patient centered transfusion was emphasized based on managerial and technical elements found in China's current transfusion related laws and regulations and technical specification and according to the general requirements of total quality management for clinical blood use with a strong focus on clinical outcomes. Real-time control and continuous improvement of the whole quality and safety were actualized by .Net framework B/S/s and C/S/s, Oracle database technology and SOA service technology, in combination with equipment, personnel, materials, environment and regulatory policies, in order to construct the whole closed loop intelligent path for clinical blood use management and evaluation. **Results** 1). The whole closed loop intelligent path in total quality management system was successfully established for clinical blood use. 2). The whole closed loop intelligent path covered the entire process of clinical blood use, including assessment and evaluation of clinical blood transfusion and allogenic and autologous transfusion, blood database, blood samples, blood products, and quality analysis and continuous improvement. A seamless information sharing of the path, real-time control and quality analysis and continuous improvement of the whole clinical blood use were achieved. 3). The path demonstrated the following functional characteristics, such as closed loop, traceability in an evidence-based process, integration of intelligent function, real time control of quality and safety, and continuous quality improvement. **Conclusion** The whole closed loop intelligent path can effectively actualize the total quality management for clinical blood use in medical institutions, and improve the level of scientific and safety and effective use of blood, and provide evidence on blood transfusion management and decision making for medical institutions and health administrative department and a solid foundation to explore accurate individual blood transfusion treatment for single disease and large data evidence-based transfusion research.

Key words: whole closed loop; intelligent path; clinical blood use; information system; total quality management; continuous quality improvement

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.001

* 基金项目:江西省科技重大项目(20144BBG70001);△通信作者:乐爱平(1971.11-),男,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

临床输血是急危重患者救治的 1 种不可替代的治疗手段。国家先后颁布了输血相关法律、规章和技术规范^[1-7],要

求医疗机构建立涵盖临床用血全程的信息系统,在全面质量管理基础上,以患者为中心,关注患者临床转归,科学安全有效用血,质量持续改进。但医疗机构输血学科发展现状与临床用血全面质量管理要求和输血技术服务需求间仍存在着较大差距,仍面临着基础较为薄弱,管理体系缺乏系统性、规范性、科学性、全面性,管理机制多为事后被动评价,重形式轻过程,信息系统大多滞后在流程式管理,缺乏智能化控制手段等诸多问题^[8]。本研究在构建临床用血全面质量管理体系基础上,采用智能信息化实时控制手段和质量管理体系^[8],对临床用血构建全程闭环智能路径,以满足全面质量管理与质量持续改进需求,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床用血全面质量管理体系的构建 按照以患者为中心,关注患者临床转归,为患者提供最佳循证输血治疗服务,质量和安全全程实时控制,做我所写、写我所做、质量持续改进的临床用血全面质量管理总体要求,依据现行输血相关法律、规章和技术规范^[1-7],针对临床用血的设备、人员、材料、环境、法则等所有要素^[8],通过三级组织管理对三级质量结构实施三级实时控制以构建系统化、规范化、标准化、精细化的临床用血全面质量管理体系,实现临床用血全程质量和安全预防为主,事前主动评价与质量持续改进。

1.1.1 组织管理完善 多部门全员参与,由个体质量控制(临床医师)、科室质量控制(临床科室用血质量控制小组、输血科和职能部门)和院级质量控制(临床用血管理委员会)构成临床用血三级组织管理体系。

1.1.2 过程与质量全面 涵盖临床用血全程,由基础质量、环节质量和终末质量构成临床用血完整的三级质量结构体系。

1.1.3 全程实时控制与持续改进 针对临床用血全部要素按照医院临床用血管理委员会审定的临床用血管理与技术指南,通过现场控制、前馈控制和反馈控制的三级实时控制体系对质量和安全全程实时控制,依据 PDCA 原理通过质量管理体系工具对全程质量指标进行考核、分析及质量持续改进。

1.2 临床用血管理与评价信息系统的全程闭环智能路径构建 按照临床用血全面质量管理体系总体要求,采用.NET 框架的 B/S/S 和 C/S/S 相结合的模式,应用 Oracle 数据库技术和 SOA 服务技术,通过临床用血的设备、人员、材料、环境、法则等全部管理和技术要素,对质量与安全、过程与环节、组织机构与参与人员进行全程闭环智能路径化实时控制的构建,以实现临床用血全面质量管理的全程闭环智能路径信息化。其路径拓扑及与外部应用接口关系、数据层结构、组织管理架构图,见图 1-4。

1.3 临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径的运行环境 1) 服务器运行环境:Windows Server 2008 R2 Enterprise、8G 内存;2) 客户端运行环境:Windows XP 及以上、.net framework 4.0、3G 内存;3) 浏览器运行环境:Windows XP 及以上、Google Chrome 浏览器、3G 内存。

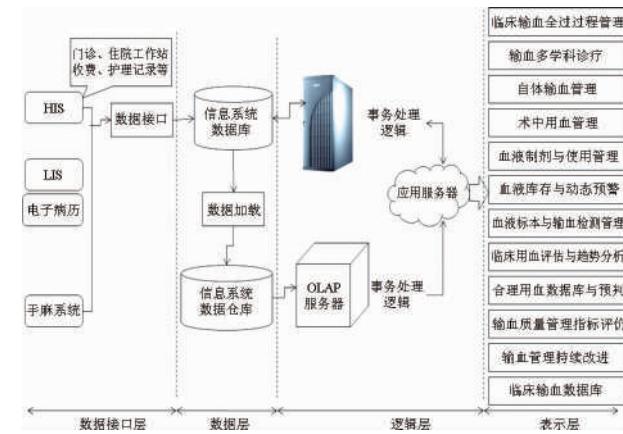


图 1 信息系统全程闭环智能路径拓扑图

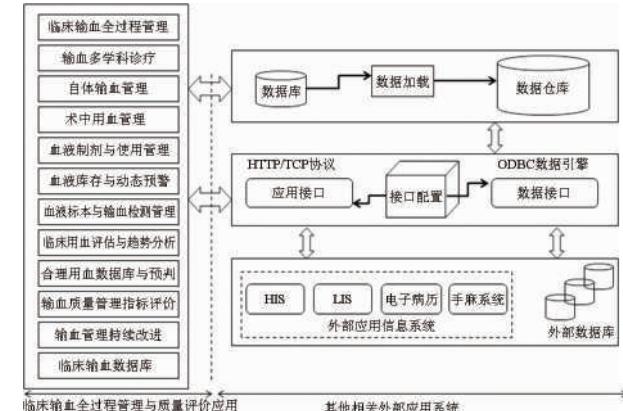


图 2 信息系统与外部应用接口关系

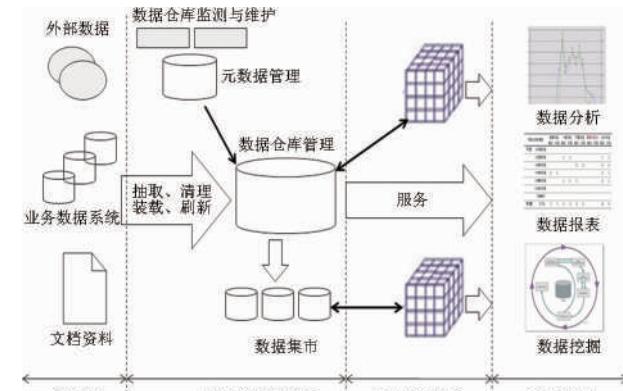


图 3 信息系统数据层结构图

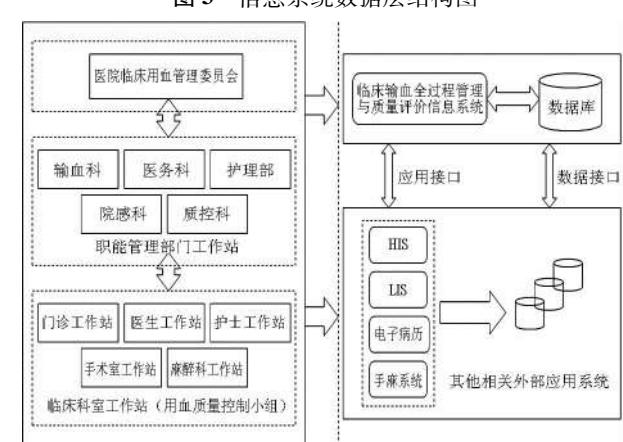


图 4 信息系统三级组织管理架构图

2 结果

2.1 临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径

临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径涵盖了临床用血全过程,由临床输血评估评价、异体输血、自体输血与用

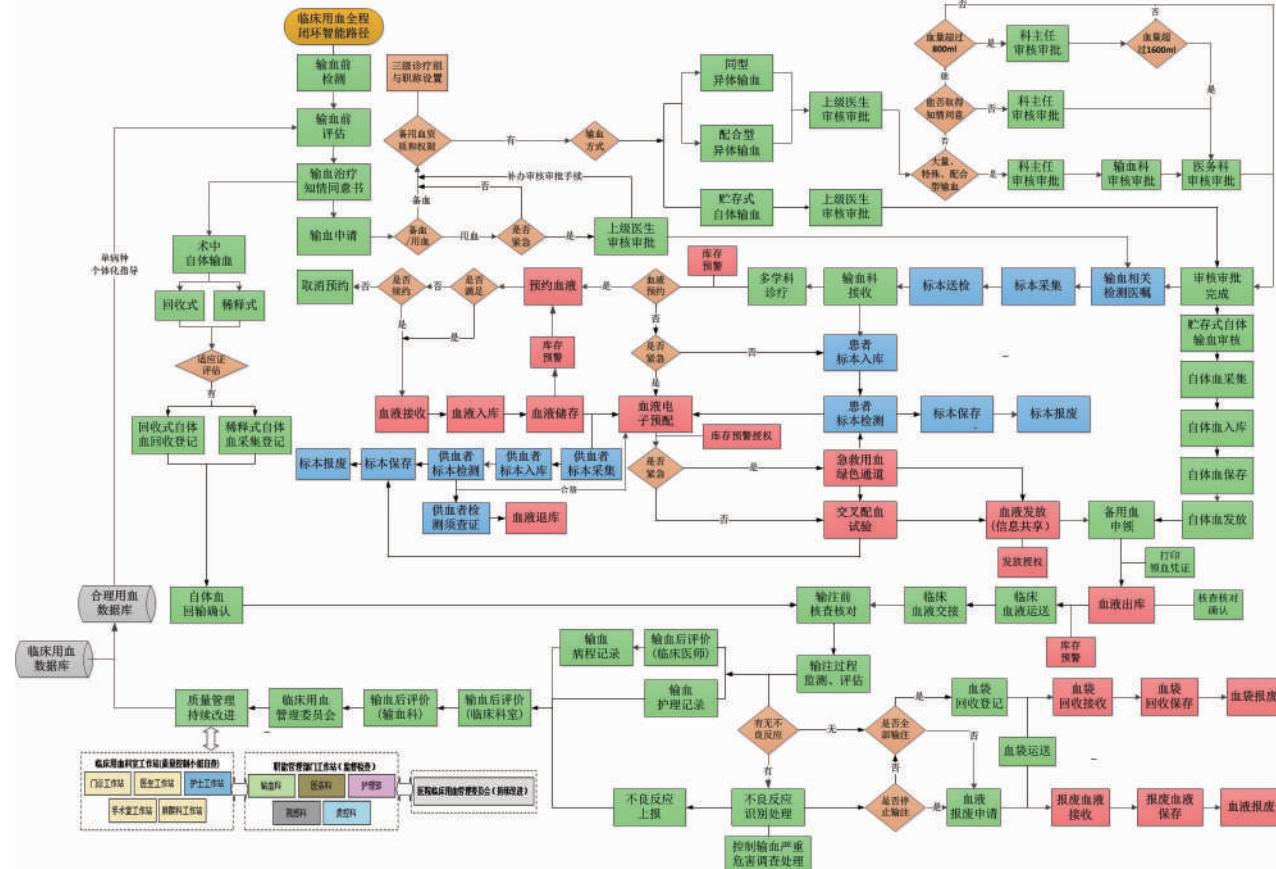


图 5 临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径图

2.1.1 临床输血全程闭环智能路径 临床输血全程闭环智能路径由输血类型、性质、方式的组合选择决定,涵盖了从输血前检测、评估、输血方式与治疗方案选择、输血前知情告知、输血治疗知情同意书签署、输血申请与审核审批、输血多学科诊疗到备用血信息反馈、输血过程监测、输血不良反应识别、处理与上报、输血护理记录、输血疗效评价、输血病程记录等全过程。输血类型包括门急诊输血、住院非手术和手术输血,输血方式包括异体同型输血、异体配合型输血和自体输血,输血性质包括常规、紧急、大量、特殊输血。路径轨迹实现了对管理和技术要素的智能实时控制与信息共享,如临床输血前评估的输血前相关检测及输血治疗知情同意书签署的实时控制,输血申请的输血方式、性质及申请医师资质和用血权限的路径实时控制,输血过程监测、输血后评价的路径实时控制及输血记录信息智能共享,如图 6、7。

2.1.2 血液标本全程闭环智能路径 血液标本全程闭环智能路径包括供者和患者血液标本路径,轨迹涵盖了血液标本的采集、运送、接收、定位编号、效期监测、检测、保存、报废等全过程。患者血液标本从输血相关医嘱信息提示与医嘱智能生成进入路径,供血者血液标本从血液制剂定位入库进入路径轨迹。路径轨迹实现了对标本信息、时效、输血相容性检测状态与结果、操作与运行状态的智能实时控制与信息共

血数据库,血液标本,血液制剂,质量分析与持续改进等功能路径间闭环无缝对接,实现了全程信息智能共享,过程智能实时控制及质量分析与持续改进,且与患者路径轨迹交叉融合,见图 5。

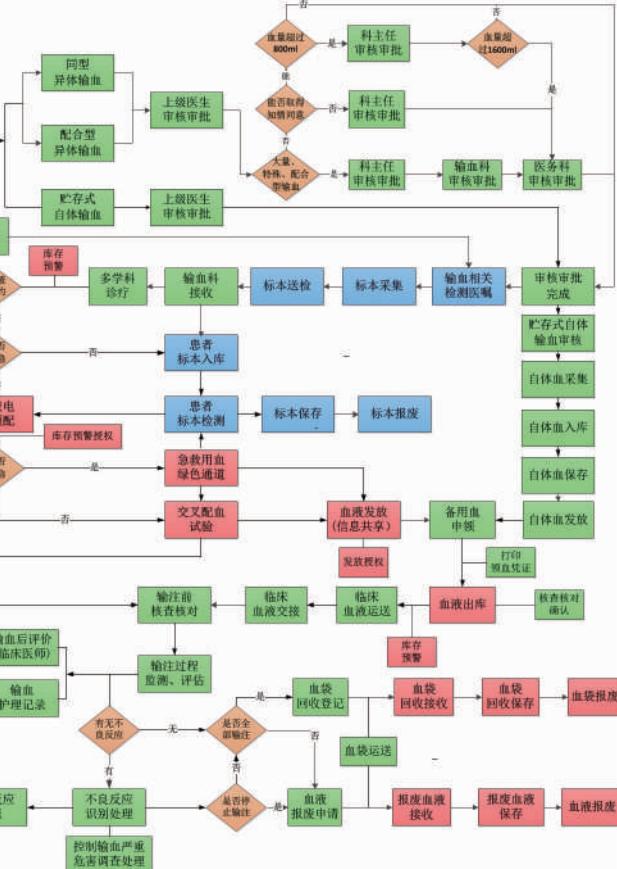


图 6 临床输血申请输血前检查实时控制



图 7 输血后评价实时控制与输血病程记录信息共享

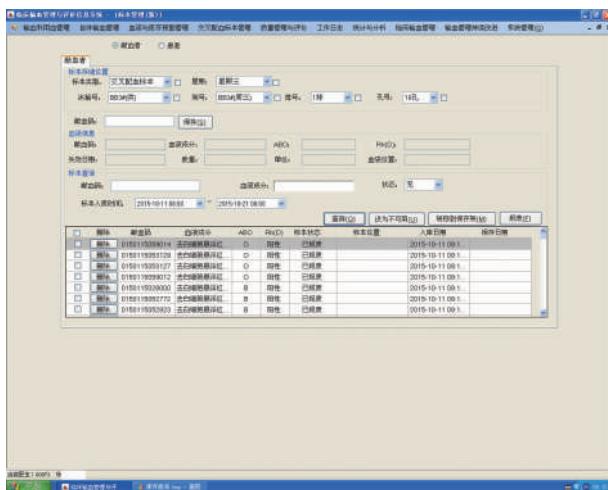


图8 血液标本全程闭环路径-标本接收



图9 血液制剂全程闭环路径-入库管理

2.1.3 血液制剂全程闭环智能路径 血液制剂全程闭环智能路径包括自体和异体成分血路径,涵盖了血液制剂预约与接收、入库、贮存、质量监测、库存与动态预警、电子预配与交叉配血试验、发放、出库或授权出库、血液领取、运送、临床交接与输注前核查核对、输注过程监测、血袋回收或血液报废、血袋保存或血袋报废等全过程。路径轨迹实现了对血液制剂信息、效期、输血相容性检测状态及结果、库存动态预警、配合型与应急库存授权发放等智能实时控制与信息共享,如图9。

2.2 临床用血全程闭环智能路径特点 该路径具备了路径轨迹闭环化、过程溯源循证化、功能智能集成化、质量和安全实时控制化及质量持续改进的功能特点。

3 讨论

在大数据临床精准输血的学科发展时代背景要求下,建立一套规范化、体系化、科学化、标准化的临床用血全面质量管理智能信息系统,是关注患者临床转归,有效实施精准输血的前提基础^[9]。以数字化为基础,借助质量管理体系,持续改进临床用血质量管理与科学安全有效用血水平,是现代医院临床用血全面质量管理要求。然而医疗机构临床用血却面临着全面质量管理体系与监督评价机制不健全,信息化管理智能水平较低,流程式管理存在诸多信息孤岛,尚不能涵盖临床用血全程及过程和环节实时控制^[10-11],质量持续

改进效果不佳等问题,患者血液管理与科学安全有效用血水平还存在较大上升空间。因此,如何利用智能信息化手段构建全员参与、预防为主、质量与过程全面、质量和安全实时控制、信息共享的临床用血全程闭环智能路径信息系统,是临床用血全面质量管理所急需解决的问题。

本研究通过构建临床用血全面质量管理体系,在其基础上集成创新地自主开发了临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径,涵盖了临床输血评估评价、异体输血、自体输血与用血数据库,血液标本,血液制剂,质量分析与持续改进等临床用血全过程,全程路径间闭环无缝对接,信息智能共享与过程实时控制、质量持续改进,具有科学性、规范性、系统性、安全性、全程闭环性、实时控制性、路径轨迹溯源性、质量持续改进性等特点,实现了临床用血全程路径轨迹闭环化、过程溯源循证化、功能智能集成化、管理规范系统化和多部门全员参与、事前主动评价、质量和安全实时控制及质量持续改进的全面质量管理,有效提高了临床用血依从性和工作效率,优化了资源配置,解决了临床用血全面质量管理实践过程中诸多关键问题,有利于临床用血质量管理和科学安全有效用血水平的持续提升,为医疗机构和行政部门输血管理决策提供循证依据,同时亦为探索单病种个体化精准输血治疗和大数据临床输血循证研究提供了坚实基础。但临床用血管理与评价信息系统全程闭环智能路径仍需随着临床用血管理与技术要素的不断更新而持续改进,并在实践中得以优化和完善,最终达到以患者为中心,为患者提供最佳循证输血治疗服务的目的。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部.临床输血技术规范.2000-6-1.
- [2] 中华人民共和国卫生部.医疗机构临床用血管理办法.2012-6-7.
- [3] 中华人民共和国献血法(中华人民共和国主席令第93号).1997-12-29.
- [4] 中华人民共和国侵权责任法(中华人民共和国主席令第21号).2009-12-26.
- [5] 中华人民共和国卫生部医疗服务监管司.输血管理与持续改进.三级综合医院评审标准实施细则(2011版).2011-11-25.
- [6] 张宗久.中国医院评审实务.人民军医出版社,2013,3:122-126.
- [7] 江西省卫生厅.江西省医疗机构输血科建设与临床用血管理评估标准(试行).2013-5-13.
- [8] 乐爱平,黄萍,杨丽云,等.运用PDCA循环持续改进临床用血过程管理和环节控制.中国输血杂志,2013(9):919-921.
- [9] 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.
- [10] 王国云.临床输血信息管理系统构建与展望.临床血液学杂志(输血与检验),2014(3):533-535.
- [11] 曹晓明,吴清玲.输血科信息管理系统的应用.中国输血杂志,2007,20(1):69-70.

(2016-05-26 收稿,2017-01-20 修回)

本文编辑:夏玲

· 论著 ·

临床输血评估评价全程闭环智能路径构建及其应用^{*}胡飘萍¹ 刘威¹ 曹磊¹ 李建林¹ 龚剑国¹ 李劲波² 向军² 熊伟² 范时海² 乐爱平^{1△}

(1.南昌大学第一附属医院,江西南昌 330006;2.江西先锋信息产业有限公司)

摘要:目的 通过构建临床输血评估评价全程闭环智能路径,以实现单病种个体化循证输血评估评价,有效提升患者血液管理和科学安全有效用血水平。**方法** 以三级组织管理和三级临床输血评估评价为基本架构,贯穿于临床用血全程闭环智能路径,路径间无缝对接,智能实时控制与信息共享。**结果** 1)临床输血评估评价全程闭环智能路径涵盖了输血前、输血过程中评估与输血多学科诊疗,输血疗效评价及质量评价与持续改进的全过程;2)具有全程组织管理、多部门全员参与,评估评价的个体化、系统性、全面性,过程控制的智能路径化与信息实时共享,质量持续改进智能化分析等特点,实现了临床输血评估评价的多部门全员参与、事前主动评价、全程闭环路径实时控制与质量持续改进。3)应用数据显示,医院输血前评估率、输血后评价率、输血合理率、自体输血率、术中自体输血率、微创手术率等均呈持续上升趋势,分别由 2013 年的 93.30%、89.72%、96.01%、20.01%、57.77%、25.45% 上升到 2015 年的 98.60%、95.87%、99.43%、27.36%、75.59%、28.97% ($P<0.01$),医院出院患者输血率、异体输血率分别由 2013 年的 9.13%、7.84% 下降到 2015 年的 5.92%、4.77% ($P<0.01$),出院患者均异体 RBC 量和均 RBC 量、手术台均异体 RBC 量和台均 RBC 量分别由 2013 年的 0.26 U、0.36 U、0.18 U、0.42 U 下降到 2015 年的 0.21 U、0.29 U、0.08 U、0.31 U,均呈持续下降趋势。**结论** 临床输血评估评价全程闭环智能路径对提升患者血液管理和科学安全有效用血水平,减少患者输血需求,指导单病种个体化循证输血与质量持续改进有着良好的应用前景。

关键词: 输血评估评价;全程闭环;智能路径;临床输血;患者血液管理

中图分类号:R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0005-04

Construction and application of the whole closed-loop intelligent path on assessing and evaluating clinical transfusion

HU Piaoping¹, LIU Wei¹, CAO Lei¹, LI Jianlin¹, GONG Jianguo¹, LI Jingbo², XIANG Jun², XIONG Wei², FAN Shihai², LE Aiping¹. 1. The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi Software Information Technology Industry Co Ltd. Corresponding author: LE Aiping

Abstract: Objective To construct a whole closed-loop intelligent path on assessing and evaluating for clinical transfusion in order to actualize the evidence-based assessment and evaluation of individual blood transfusion for single disease, and to effectively improve the level of patient blood management and scientifically safe and effective use of blood. **Methods** A three-level organization management and three-level assessment and evaluation of clinical transfusion comprised the basic framework construction and an impenetrable whole close-loop intelligent path of clinical transfusion, which provided a seamless process in intelligent real-time control and information sharing. **Results** 1) The whole closed-loop intelligent path on assessing and evaluating for clinical transfusion covers the whole process of assessment before and during the process of blood transfusion, multidisciplinary diagnosis and treatment, efficacy evaluation, quality evaluation continuous improvement of blood transfusion. 2) The path was characterized by a comprehensive organizational management and multisectoral participation, individual and systematic and comprehensive assessment and evaluation, process control of intelligent path and real-time information sharing, and quality continuous improvement of intelligence analysis, which eventually actualized multisectoral participation, active pre-evaluation, real-time control of the whole closed-loop path and quality continuous improvement for assessment and evaluation of clinical transfusion. 3) Application data showed that the rate of transfusion assessment and evaluation, the rate of reasonable blood use, the rate of autologous blood transfusion, the rate of intraoperative autologous blood transfusion, and the rate of minimally invasive surgery in hospital continuously increased from 93.30%, 89.72%, 96.01%, 20.01%, 57.77%, 25.45% in 2013 to 98.60%, 95.87%, 99.43%, 27.36%, 75.59%, 28.97% ($P<0.01$) in 2015, respectively. The rate of transfusion and allogeneic blood transfusion in discharged patients continued to decline from 9.13%, 7.84% in 2013 to 5.92%, 4.77% ($P<0.01$) in 2015, respectively. The allogeneic RBC and mean RBC usage in discharged patients and during operation of discharged patients continued to decline from 0.26 U, 0.36 U, 0.18 U,

0.42 U in 2013 to 0.21 U, 0.29 U, 0.08 U, 0.31 U in 2015, respectively. **Conclusion** The path has a good application prospect in improving the levels of patient blood management, advocating a scientifically safe and effective use of blood, reducing

patients' transfusion needs, and guiding evidence-based blood transfusion and quality continuous improvement for clinical conditions.

Key words: assessment and evaluation of transfusion; the whole closed-loop; intelligent path; clinical transfusion; patient blood management

临床输血评估评价是医疗机构临床用血基础性工作,涉及到临床输血多部门全员参与、过程与环节控制,涵盖了临床输血所有管理要素和技术要素^[1-7]。其评估评价体系是否健全,过程要素控制、监督检查与持续改进是否到位直接影响着医疗机构科学安全有效用血水平,关系着患者的临床转归。在临床输血评估评价体系构建实践过程中,除组织管理、工作职能和工作流程等管理要素规范化,更为重要的是临床输血评估评价技术要素在过程控制中是否得以系统化科学化有效实施,对患者血液管理,提高输血疗效,降低输血风险,有效保护血液资源具有重要意义。现将本院临床输血评估评价全程闭环智能路径构建及其应用情况报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床输血评估评价全程闭环智能路径架构体系 临床输血评估评价全程闭环智能路径以三级组织管理和三级临床输血评估评价为基本架构,贯穿于临床用血全程闭环智能路径,与 HIS、LIS、手麻、电子病历、医生、护士工作站等系统间互联互通,无缝对接与信息共享。

1.1.1 三级组织管理 由三级临床医师,输血科、临床科室用血质量控制小组和职能部门,临床用血管理委员会构成三级组织管理,见图 1。

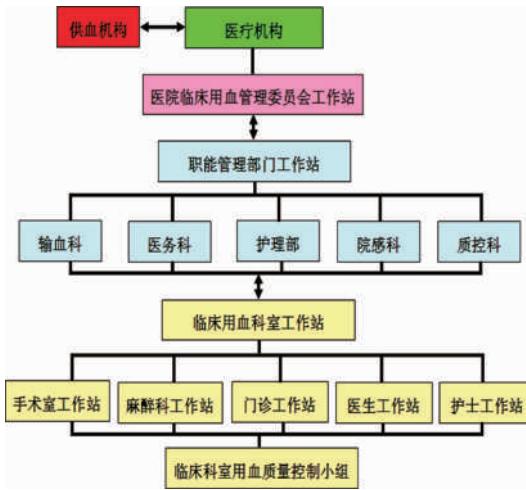


图 1 临床输血三级组织管理

1.1.2 三级临床输血评估评价 临床输血评估评价依据医院临床用血管理委员会审定的临床用血管理与技术指南^[8],采用智能路径化实时控制手段,实现以患者为中心,关注患者临床转归,科学安全有效用血的全面质量管理,由输血前、输血过程中评估、输血后多学科诊疗,输血后疗效评价,输血质量评价与持续改进构成。临床医师负责患者输血前、输血过程中评估、输血后疗效评价及质量持续改进,输血科医师负责输血多学科诊疗;临床科室用血质量控制小组负责对本病区或科室临床输血质量监督、考核评价与持续改进,输血科与职能部门负责对全院临床输血质量监督、考核评价及

持续改进与效果评价;临床用血管理委员会负责医院临床输血技术指导与培训、质量评价与持续改进措施的审核审定^[8]。临床医师或用血科室可对输血质量考核评价反馈意见向临床用血管理委员会申请复议。其智能路径,见图 2。

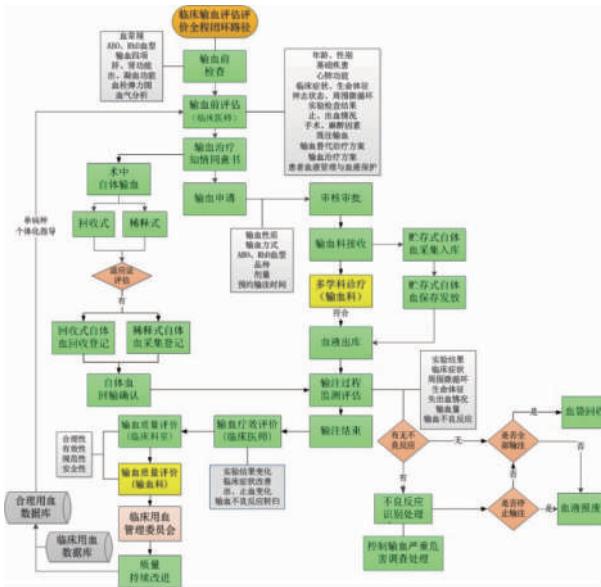


图 2 临床输血评估评价全程闭环智能路径

1.1.2.1 输血前与输血过程中评估 涵盖于非手术输血患者和手术输血患者的术前、术中、术后的输血前与输血过程中评估,包括患者血液管理和输血治疗方案评估。

患者血液管理包括患者基础疾患的病因治疗、药物性贫血治疗、减少诊断性贫血、纠正凝血功能、减少失血与止血、血液代替品合理应用、自体输血、节约用血新型医疗技术等综合治疗措施评估与应用,目的是改善患者贫血耐受能力,减少患者输血需求,提高输血疗效。

输血治疗方案评估是临床医师在患者血液管理基础上,结合患者年龄、性别、基础疾患、心肺功能、临床症状、生命体征、神志状态、周围微循环、实验检查结果、止、出血情况、手术与麻醉因素、既往输血、自体输血适应症和禁忌症等因素综合评估患者病情预后变化与输血需求,严格控制输血指征,选择适宜患者在适当的时机,采取正确的输血方式、选用正确的血液制剂、适合的剂量提供循证的输血治疗方案,以改善患者临床转归,降低输血风险,科学有效用血。在输血过程中密切监测患者失血速度、失血程度和失血量、临床症状、生命体征、周围微循环、凝血功能、实验床旁结果的变化或输血不良反应的转归,以评估是否决定再次输血。

输血多学科诊疗是输血科医师在接受临床输血申请时,通过智能实时信息检索,综合评价输血申请的规范性,输血治疗方案中输血方式、性质、输血品种、剂量等内容的合理性,提出输血多学科诊疗意见,信息共享。

1.1.2.2 输血后疗效评价 输血治疗结束后 24 h 内,临床

医师应结合患者输血治疗后相关实验结果的变化、临床症状的改善、出、止血情况变化、输血不良反应转归等因素,综合评价输血治疗的有效性、合理性,及时完成输血病程记录。

1.1.2.3 输血质量评价与持续改进 输血科医师定期对全院临床输血合理性、有效性、规范性、安全性进行质量指标评价与质量持续改进分析。

1.2 临床输血数据库和合理输血数据库 标准数据层包含中心数据库和数据仓库 2 个层次。中心数据库存储临床输血最新业务数据,数据仓库按照主题存储历史业务数据,为临床输血评估评价质量持续改进分析提供数据源。日常输血数据构成临床输血数据仓库,剔除评价为不合理输血的数据构成合理输血数据库。

1.3 质量指标计算 输血前评估率=输血前评估人次/输血总人次×100%,输血后评价率=输血后评价人次/输血总人次×100%,输血合理率=合理输血量/输血总量×100%,自体输血率(术中)=自体输血患者数(术中)/接受输血患者数(术中)×100%,微创手术率=微创手术台次/手术台次×100%,出院患者(异体)输血率=(异体)输血出院患者数/出院患者数×100%,出院患者均(异体)RBC量=(异体)RBC量/出院患者数×100%。

1.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理,计数资料比较用 χ^2 检验,当理论频数小于 5,改用 Fisher 确切概率法,显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 临床输血评估评价全程闭环智能路径特点 临床输血评估评价全程闭环智能路径具有全程组织管理、多部门全员参与,评估评价的个体化、系统性、全面性,过程控制的智能路径化与信息实时共享,质量持续改进智能化分析等特点,实现了临床输血评估评价的多部门全员参与、事前主动评价、全程闭环路径实时控制与质量持续改进,如图 3、4。

2.2 应用效果 上线应用质量数据分析显示,医院输血前评估率、输血后评价率、输血合理率、自体输血率、术中自体

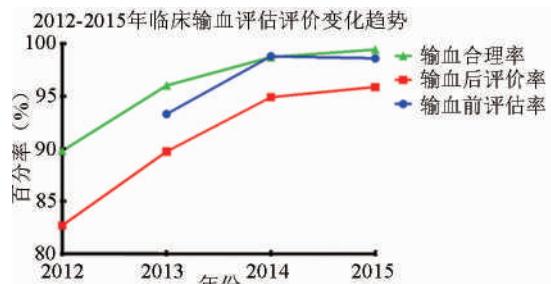


图 5 临床输血评估评价全程闭环智能路径应用效果分析

输血率、微创手术率等均呈持续上升趋势,分别由 2013 年的 93.30%、89.72%、96.01%、20.01%、57.77%、25.45% 上升到 2015 年的 98.60%、95.87%、99.43%、27.36%、75.59%、28.97% (χ^2 分别为 932.15、611.16、2978.39、18544.18、20770.71、3954.89, $P<0.01$);医院出院患者输血率、异体输血率分别由 2013 年的 9.13%,7.84% 下降到 2015 年的 5.92%,4.77% (χ^2 分别为 878.14,747.41, $P<0.01$),出院患者均异体 RBC 量和均 RBC 量、手术台均异体 RBC 量和台均 RBC 量分别由 2013 年的 0.26 U、0.36 U,0.18 U、0.42 U 下降到 2015 年的 0.21 U、0.29 U,0.08 U、0.31 U,均呈持续下降趋势,见图 5。



图 3 临床输血评估操作智能路径



图 4 自体输血评估操作智能路径

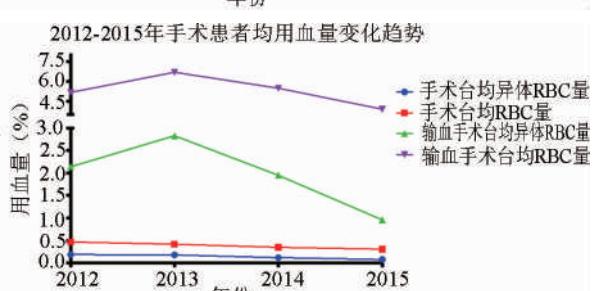
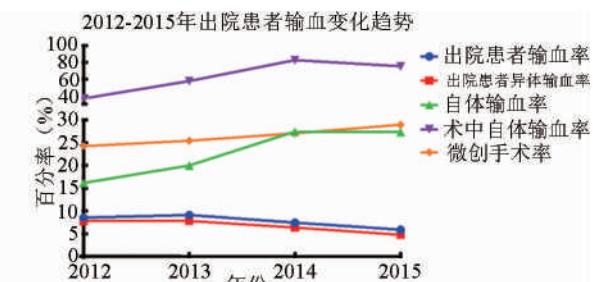


图 5 临床输血评估评价全程闭环智能路径应用效果分析

3 讨论

临床输血评估是在患者输血前与输血过程中,针对基础疾患的病因治疗、贫血药物性治疗、减少失出血措施、自体输血等患者血液管理措施综合评估应用后,结合患者病情预后变化、临床症状和实验结果,综合考虑患者自身需要,决定是否个体化输血治疗,以遵循临床输血不可替代、风险规避和患者生理需求原则。临床输血评价是对输血治疗的有效性、合理性、规范性、安全性的综合评价,是临床输血质量持续改进与单病种个体化循证输血指导的基础。临床输血评估评价的规范性、科学性、全面性与质量持续改进是持续提升医疗机构患者血液管理和科学安全有效用血水平的决定性因素。

国内大多数医疗机构高度重视临床输血指征评估和输血合理性评价及质量持续改进,科学用血得到一定程度的有效提升。血红蛋白水平、需要缓解临床症状、预防患者死亡和病情恶化等都是评估输血治疗的支持性因素,但国内部分医疗机构仍仅以实验检测指标作为输血指征的唯一判定标准,缺乏个体化全面评估,诸如使用促红细胞生成素、铁剂、维生素等药物治疗贫血,停止或调整抗凝药物、加强床旁监测以纠正出凝血功能,采用微创外科技术和良好的麻醉技术、止血技术以减少患者失血,开展自体输血以有效血液保护等患者血液管理措施未能得到有效应用,输血疗效评价不充分或血源紧缺致输血不足或延迟等不良事件时有发生,因此医疗机构在优化患者血液管理,减少患者输血需求,降低输血风险,提高输血疗效上仍存在一定管理空间,科学安全有效用血内涵有待进一步深化,探索规范化、科学化的临床输血评估评价与单病种个体化循证输血将成为科学安全有效用血的必然要求。

本研究以三级组织管理和三级临床输血评估评价为基本架构,综合考虑患者血液管理和输血治疗评估评价要素,构建了全程闭环智能路径,涵盖了临床输血评估评价全过程。

程,实现了路径间无缝对接,智能实时控制与信息共享,充分发挥了输血多学科诊疗与临床用血管理委员会的技术指导作用,切实解决了合理用血数据库对单病种个体化循证输血治疗的评估指导,达到了临床输血评估评价以患者为中心、多部门全员参与、事前主动评价、过程和环节实时控制、全程监督指导与质量持续改进的系统化、规范化、科学化、标准化、智能化和精细化的全面质量管理要求。上线应用以来数据分析显示,医院输血前评估率、输血后评价率、输血合理率、自体输血率、术中自体输血率、微创手术率等质量指标均持续呈上升趋势($P<0.05$);医院出院患者输血率、异体输血率、均异体 RBC 量和均 RBC 量、手术台均异体 RBC 量和台均 RBC 量等质量指标均持续呈下降趋势($P<0.05$),说明临床输血评估评价全程闭环智能路径对提升患者血液管理和科学安全有效用血水平,减少患者输血需求,指导单病种个体化循证输血与质量持续改进有着良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, et al. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 2014.
- [2] 中华人民共和国卫生部.临床输血技术规范.2000-6-1.
- [3] 中华人民共和国卫生部.医疗机构临床用血管理办法.2012-6-7.
- [4] 中华人民共和国卫生部医疗服务监管司.输血管理与持续改进.三级综合医院评审标准实施细则(2011 版).2011-11-25.
- [5] 张宗久.中国医院评审实务.人民军医出版社,2013,3:122-126.
- [6] 江西省卫生厅.江西省医疗机构输血科建设与临床用血管理评估标准(试行).2013-5-13.
- [7] 中国医师协会输血科医师分会.特殊情况紧急抢救输血推荐方案.中国输血杂志,2014,27(1):1-3.
- [8] 乐爱平,李建林,陈世彪,等.外科患者术中用血质量管理成效分析.中国输血杂志,2014,27(12):1324-1327.

(2016-05-26 收稿,2017-01-02 修回)

本文编辑:闻欣

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

HTLV 与血液筛查策略

4℃冷藏保存血小板体外实验研究

输血传播疾病

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

· 论著 ·

血液标本全程闭环智能路径质量和安全实时控制^{*}黄雯¹ 刘威¹ 曹磊¹ 李建林¹ 龚剑国¹ 李劲波² 向军² 熊伟² 范时海² 乐爱平^{1△}

(1.南昌大学第一附属医院,江西 南昌 330006;2.江西先锋信息产业有限公司)

摘要:目的 通过构建血液标本全程闭环智能路径,以实现临床用血全程血液标本质量和安全智能路径信息化实时控制。**方法** 依据临床用血全程血液标本管理要素和技术要素的全面质量管理要求,采用智能路径信息化实时控制手段对血液标本的操作和运行路径轨迹进行全程闭环构建。**结果** 1)通过对血液标本的路径生成、信息识别与核查核对、精确定位保存、有效期与免疫学状态、输血相容性检测状态与结果等操作和运行轨迹的信息智能检索与比对、操作提示与授权的路径化实时控制,实现了血液标本全程闭环智能路径质量和安全的全面质量管理与持续改进,涵盖了供者和患者血液标本;2)血液标本全程闭环路径与临床输血、血液制剂、质量分析与持续改进等路径间无缝对接,实现了全程信息智能共享,具备路径轨迹全程闭环性、实时性、溯源性、智能控制性及质量持续改进等特点,实现了输血检测项目和血液标本免疫学状态实时控制的智能路径化、标准化;3)输血相关项目检测率和血液标本时限符合率的持续改进成效显著($P<0.001$)。**结论** 血液标本全程闭环智能路径能有效保障临床用血全程血液标本质量和安全的实时控制,提升了临床用血全面质量管理及其智能信息化水平。

关键词: 血液标本;全程闭环;智能路径;实时控制;质量和安全**中图分类号:**R457.1 TP311.52 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0009-03

Quality and safety real time control of closed loop intelligent path of whole blood samples process HUANG Wen¹, LIU Wei¹, CAO Lei¹, LI Jianlin¹, GONG Jianguo¹, LI Jingbo², XIANG Jun², XIONG Wei², FAN Shihai², LE Aiping¹. 1. The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi Ahead Information Technology Industry Co. Ltd. Corresponding author: LE Aiping

Abstract: Objective To ensure the quality and safety real time control of blood samples in whole clinical blood use process by constructing a whole closed loop intelligent path in blood samples,. **Methods** The whole closed loop intelligent path in clinical blood sample management and operation track system was constructed with intelligent path method and real-time control of the whole process, in accordance with the managerial and technical elements found in total quality management standards for processing blood samples for clinical blood use. **Results** 1). The whole closed loop intelligent path management and continuous improvement on the whole blood sampling process was actualized through intelligent retrieval and comparison of information, prompting of operation information and path authorization, real time control on path of blood sample processing, identification and information verification, active inspection on the period of validity and immunological state of the specimens, and continuous monitoring of blood compatibility test conditions and results. 2). The whole closed loop path of blood samples could seamlessly join and share the full intelligent information with the paths from clinic blood transfusion, blood products, quality analysis and continuous improvement. This closed loop path demonstrated the following advantages, including real time, traceability, intelligent control, continuous improvement, as well as the capacity to actualize an intelligent route and standardization for real time control of the immune status of blood specimens and blood transfusion testing categories. 3). The detection rate's effect on continuous improvement of blood transfusion related item and the rate of compliance in blood specimen was significant ($P<0.001$). **Conclusion** The whole closed loop intelligent path of blood samples can effectively ensure the quality and safety real time control of blood samples in whole clinical blood use process, and improve total quality management and the level of intelligent information in clinical blood use.

Key words: blood samples; closed loop of whole process; intelligent path; real time control; quality and safety.

抗原抗体相容是保障临床输血安全性和有效性的前提条件。国内现行采取输血前进行 ABO、RhD 血型、不规则抗体筛查、交叉配血试验的输血相容性检测策略,并且对输血

检测项目和血液标本的质量、时限、检测流程及相容性输血原则均做出明确规定^[1-2]。临床用血全程管理和环节控制的质量持续改进过程中,输血项目检测的规范性和血液标本尤其是交叉血标本是否反映患者当前免疫学状态,是临床用血不良事件发生的主要环节^[3],其根本原因是检测项目及其血液标本缺乏有效的实时控制。我们针对临床用血全程实验检测要求和血液标本的管理要素和技术要素,采用智能路

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.003

*基金项目:江西省科技重大项目(20144BBG70001);△通信作者:乐爱平(1971.11-),男,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。

径信息化实时控制手段构建了血液标本全程闭环智能路径，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 血液标本全程闭环智能路径设计要求 按照临床用血全面质量管理总体要求，依据现行输血检测项目及血液标本管理要素和技术要素^[1-2,4-14]，对血液标本实施全程闭环路径轨迹化，多部门全员参与，质量和安全智能实时控制，信息智能共享，质量分析与持续改进。

1.2 血液标本全程闭环路径质量和安全智能实时控制方法

1.2.1 血液标本路径生成的实时控制 根据输血前评估实验检测指标要求智能生成输血前检测医嘱，如输血四项、血型初检、血常规、肝、肾功能、凝血功能测定等；根据患者既往输血史、妊娠史，对输血申请进行评估后，智能生成第1次备用血输血相容性医嘱，如血型复检、交叉血标本等；患者若有既往输血史、妊娠史，第1次输血申请时智能生成不规则抗体筛查医嘱；住院期间第1次输血后，每隔72 h的再次申请输血，则再次智能生成不规则抗体筛查医嘱。根据患者所输注血液品种，智能生成输血疗效评价实验检测指标医嘱；根据效期内血液标本质量、检测信息反馈或输血不良反应监测

开具输血医嘱，如效期内因血液标本质量、疑难血型、疑难交叉配血的血液标本重抽，输血不良反应调查的输血相容性检测复核、直接抗人球蛋白试验、转铁蛋白、外周血血红蛋白及网织红细胞、血浆游离血红蛋白、血清间接胆红素、尿血红蛋白、肾功能测定等；护士执行输血相关医嘱则生成患者血液标本路径。血液制剂接收后，采集血液制剂输血相容性检测标本则生成供者血液标本路径。

1.2.2 血液标本全程闭环路径的智能实时控制 血液标本全程闭环路径包括供者和患者血液标本全程闭环路径，涵盖了血液标本路径生成的输血医嘱，血液标本的采集、运送、接收、检测、核查核对、保存及报废等操作与运行轨迹，其质量和安全的智能实时控制图，见图1。血液标本路径生成后，采取PDA或条形码扫描方式对血液标本全程的操作、运行状态与轨迹进行闭环路径化实时控制与信息反馈；采用电子预配和急救绿色通道方式对供者和患者交叉血标本基本信息、定位、效期、输血相容性检测状态与结果等信息进行智能检索与信息提示，以实施输血相容性试验的路径化实时控制；通过电子预配和急救绿色通道方式对血液制剂发放时供者、患者及供患者间输血相容性检测结果智能比对、路径化控制及信息提示与授权操作，以实施血液制剂发放的路径实时控制。

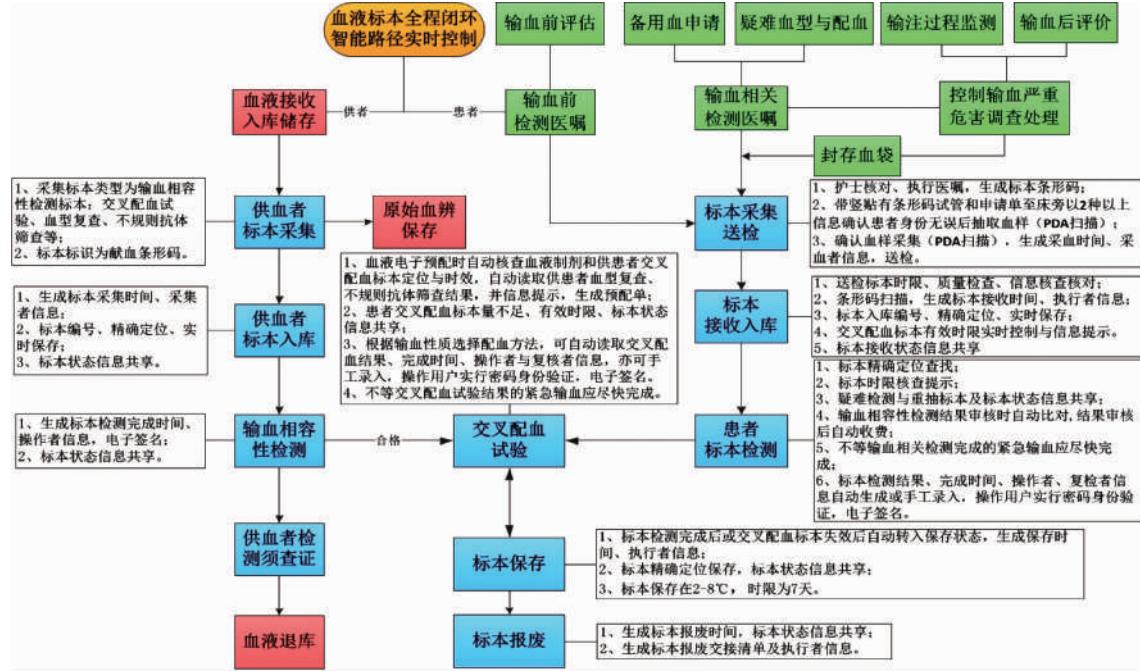


图1 血液标本全程闭环路径质量和安全智能实时控制图

1.2.3 交叉血标本反映患者当前免疫学状态的实时控制 对有输血史患者，根据上次输血至本次住院期间第1次输血的间隔，对交叉配血标本有效性定义如下^[4]：间隔在3~14 d内，交叉血标本效期不超过24 h；间隔在15~28 d，交叉血标本的效期不超过72 h；间隔在29~90 d，交叉血标本不超过1 w；以后的再次输血交叉血标本不超过24 h。

1.3 血液标本全程闭环智能路径运行环境 1)服务器运行环境：Windows Server 2008 R2 Enterprise 8G内存；2)客户端运行环境：Windows XP及以上、.net framework 4.0、3G内存；3)浏览器运行环境：Windows XP及以上、Google Chrome 浏览器、3G内存。

1.4 统计分析 采用SPSS19.0统计软件进行数据处理，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

2.1 血液标本全程闭环质量和安全智能路径实时控制 通过对血液标本的路径生成、信息识别与核查核对、精确定位保存、免疫学状态与有效期、输血相容性检测状态与结果等操作和运行轨迹的信息智能检索与比对、操作提示与授权的路径化实时控制，实现了血液标本全程闭环智能路径质量和安全的全面质量管理与持续改进，涵盖了供者和患者血液标

本,如图 2。

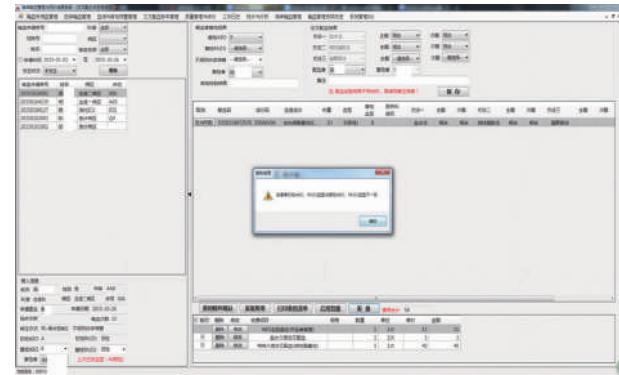


图 2 输血相容性智能路径化实时控制

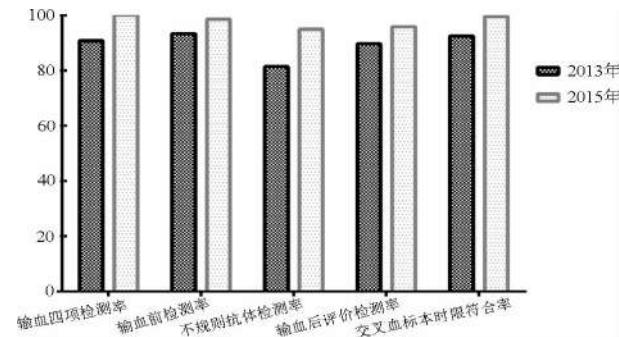


图 3 全程闭环智能路径应用效果比较

2.2 血液标本全程闭环智能路径质量和安全实时控制特点

血液标本全程闭环路径与临床输血、血液制剂、质量分析与持续改进等路径间无缝对接,实现了全程信息智能共享,具备路径轨迹全程闭环性、实时性、溯源性、智能控制性及质量持续改进等特点。

2.3 血液标本全程闭环智能路径应用效果比对 自 2014 年全程闭环智能路径上线以来,输血相关项目检测率和血液标本时限符合率得到了显著提高,输血四项、输血前检测、不规则抗体、输血后疗效评价的检测率及交叉血标本时限符合率分别由 2013 年的 90.78%、93.30%、81.37%、89.72%、92.45% 上升至 2015 年的 100%、98.60%、94.88%、95.87%、99.50%,率的显著性差异均存在统计学意义 ($\chi^2 = 919.26$ 、 932.15 、 1965.85 、 611.16 、 1240.44 , $P < 0.001$) (如图 3)。

3 讨论

规范的输血项目检测和可靠的血液标本是保障临床用血质量和安全的前提。血液标本在操作和运行过程中除了患者身份与血液标本信息正确识别、血液标本采集流程、血液标本质量符合要求外,还涉及到输血相关检测项目与时限、检测工作流程、频率、标准化操作、室内质量控制及室间质量评价等一系列多部门参与的质量和安全控制。然而在血液标本全程质量管理实践中,常存在着输血相关检测项目漏检或重复检查,血液标本采集流程依从性差导致血液标本错误,血液标本不符合输血相容性时限要求,输血相容性检测工作流程不符合技术规范要求,血液标本运行状态与信息反馈不畅等诸多影响临床用血质量和安全的环节因素,且持续改进效果不佳,仍然面临着血液标本全面质量管理的规范化、标准化和过程实时控制的难题。

本研究构建的血液标本全程闭环智能路径,通过信息智能检索和路径化对输血前评估、输血相容性及输血后评价等相关检测项目的路径生成实时控制,规范了临床用血检测项目管理,提高了临床工作依从性。自 2014 年上线以来,输血相关项目检测率和血液标本时限符合率得到显著提高,有效改进了临床用血评估评价实验指标的标准化检测,保障了血液标本反映患者当前免疫学状态。在全程闭环智能路径中,采用 PDA 扫描和条形码技术对患者身份识别、血液标本采集流程、信息识别与核查核对、定位保存、效期等血液标本的操作和运行轨迹进行路径化实时控制与信息共享,实现了血液标本全程闭环智能路径轨迹化管理,在优化工作流程的同时杜绝了血液标本的差错发生;通过信息智能检索与比对、操作提示与授权的路径化实时控制,有效解决了临床输血相容性试验工作流程及血液制剂发放的规范化、标准化,同时亦能及时满足急救状态下血液发放的需求,保障了临床用血安全;通过血液标本全程闭环智能路径与临床用血全程闭环路径间的无缝对接,杜绝了信息孤岛,实现了全程信息智能共享,提高了临床工作效率。总之,血液标本全程闭环智能路径的开发与应用实现了从血液标本路径生成到报废的全程闭环化、智能路径化、过程规范化、标准化的质量和安全实时控制,有效提升了临床用血全面质量管理及其智能信息化水平。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.血站技术操作规程.2015-12-17.
- [2] 中华人民共和国卫生部.临床输血技术规范.2000-6-1.
- [3] 乐爱平,黄萍,杨丽云,等.运用 PDCA 循环持续改进临床用血过程管理和环节控制.中国输血杂志,2013,26(9):919-921.
- [4] Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, et al. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 2014.
- [5] 中华人民共和国卫生部(第 85 号令).医疗机构临床用血管理办法.2012-6-7.
- [6] 中华人民共和国卫生部.医疗机构消毒技术规范.2012-4-5.
- [7] 中华人民共和国卫生部(国卫医发[2006]167 号).血站质量管理规范.2006-04-29.
- [8] 医学实验室质量和能力认可准则在输血医学领域的应用说明. CNAS-CL40:2012,2012-9-13.
- [9] 医学实验室质量和能力认可准则在实验室信息系统的实施指南. CNAS-GL17:2007, 2007-5-15.
- [10] 中华人民共和国卫生部.医疗机构临床实验室管理办法.2006-2-27.
- [11] 中华人民共和国卫生部.医疗机构医疗废物管理办法.2003-10-15.
- [12] 江西省卫生厅.江西省医疗机构输血科建设与临床用血管理评估标准(试行).2013-5-13.
- [13] 中华人民共和国卫生部医疗服务监管司.输血管理与持续改进.三级综合医院评审标准实施细则(2011 版),2011-11-25.
- [14] 中国医师协会输血科医师分会.特殊情况紧急抢救输血推荐方案.中国输血杂志,2014,27(1):1-3.

(2016-05-26 收稿,2017-01-15 修回)

本文编辑:李宜蔓

• 基础医学与实验研究 •

• 论著 •

透明质酸水凝胶三维培养促进人胚胎干细胞向红系细胞诱导分化*

曾宪波 毛斌 赖默温 潘旭 孙文翠 周琼秀 马峰[△]

(中国医学科学院北京协和医学院输血研究所,四川成都,610052)

摘要:目的 探讨采用透明质酸材料的三维培养方法将人胚胎干细胞(hESCs)来源造血干/祖细胞向红系细胞诱导分化的效果。**方法** 将 hESCs 与小鼠主动脉-性腺-中肾基质细胞(AGM-S3)共培养(37°C 、 $5\% \text{CO}_2$)12 d 的细胞(1.0×10^6)分别种植进海藻酸钠水凝胶、胶原蛋白水凝胶、透明质酸水凝胶内,并以悬浮法培养 hESCs 作对照。以流式细胞仪检测细胞表面抗原表达,比较不同材料建立的三维培养的优劣,优化红系诱导分化的三维培养体系。**结果**

海藻酸钠组内细胞培养 10 d 的 GPA⁺ 细胞为 2.3%, GPA⁺CD36⁺ 细胞仅为 0.9% 而悬浮培养分别为 15.8% 和 6.1%。胶原蛋白组内细胞培养 10 d 的 GPA⁺ 细胞为 11.1%, GPA⁺CD36⁺ 细胞为 5.2%, 而悬浮培养分别为 35.7% 和 27.7%。透明质酸组内红系细胞 GPA⁺ 细胞量和比率分别为 2.06×10^5 个和 19.6%, 而悬浮培养的红系细胞 GPA⁺ 细胞量和比率分别为 1.62×10^5 个和 15.7%, 透明质酸组是悬浮培养的 1.27 倍, 其中悬浮培养 GPA⁺CD36⁻ 为 9.7%, 而透明质酸水凝胶为 GPA⁺CD36⁻ 为 13.1%。**结论** 与悬浮培养相比, 海藻酸钠水凝胶和胶原蛋白水凝胶未表现出明显的扩增红系细胞的效果。透明质酸凝胶建立的三维培养方法利于红系细胞生长, 该培养方法诱导分化 hESCs 得到的红系细胞成熟度提高。

关键词:人胚胎干细胞;红系祖细胞;透明质酸;三维培养;造血干/祖细胞;诱导;分化

中图分类号:R457.7 Q813.1¹ 0629.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0012-05

Three dimensional culture in hyaluronic acid based hydrogel promotes proliferation of erythroid cells derived from hESCs ZENG Xianbo, MAO Bin, LAI Mowen, PAN Xu, SUN Wencui, ZHOU Qiongxiu, MA Feng. Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College. Corresponding author: MA Feng

Abstract: **Objective** To establish a three-dimensional culture system in order to culture erythroid cells derived from hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs) generated from hESCs/AGM-S3 co-cultured in vitro. **Methods** HSPCs (1.0×10^6) from hESCs/AGM-S3 co-cultured (37°C , $5\% \text{CO}_2$) for 12 days were seeded into alginate hydrogels, collagen hydrogels and hyaluronic acid (HA) hydrogels respectively, and all hydrogels were compared with suspension culture of hESCs. The proliferation of erythroid cells in different materials were then compared by flow cytometry in order to select the most suitable materials for three-dimensional culture of erythroid cells. **Results** GPA⁺ cells were 2.3% and GPA⁺CD36⁺ cells were 0.9% in alginate hydrogels, however those cells were 15.8% and 6.1%, respectively, in suspension culture. In the collagen group, GPA⁺ cells were 11.1% and GPA⁺CD36⁺ cells were 5.2%, but cells in suspension culture were 35.7% and 27.7%, respectively. The amount and ratio of GPA⁺ cells was 1.62×10^5 and 15.7%, respectively, in suspension culture, while it was 2.06×10^5 and 19.6% in HA. The GPA⁺ erythroid cells produced in the hyaluronic acid hydrogel was 1.27 times higher than in the suspension culture. Among GPA⁺ cells, GPA⁺CD36⁻ cells were 9.7% in the suspension culture, while HA hydrogels reached 13.1%. **Conclusion** Alginate hydrogels and collagen hydrogel are not suitable for the growth of erythroid cells, but hyaluronic acid hydrogel favors erythroid cell maturation.

Key words: hESCs; erythroblasts; hyaluronic acid; three-dimensional culture; HSPCs; induction; differentiation

自 1989 年 Fibach 等^[1]在液体培养体系中扩增出红系祖细胞后,研究者们建立起了多种体外诱导红系细胞分化的实验体系。如 Ma 等^[2]用老鼠胎肝与未分化的人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)共培养,其诱导分化出的造血干/祖细胞在造血因子刺激下可产生几近 100% β 亚基阳性并具有携氧放氧功能的成熟红细胞; Dias 等^[3]将

hESCs 与小鼠骨髓基质细胞(OP9)共培养 7~8 d, 再将悬浮培养 2~5 d 的细胞与 MS5 基质细胞共培养 20~25 d, 红细胞脱核率可达 2%~10%。此外, 我们实验室将 hiPSCs 与小鼠主动脉-性腺-中肾基质细胞(aorta-gonad-mesonephros, AGM)共培养 12 d 时, 改用悬浮培养方法将共培养得到的细胞再培养 24 d, 发现这些细胞上的 β 亚基接近 85%^[4,5]。这些方法可归纳为 2 个步骤:1)用基质细胞共培养或者 EBs 方法, 将 hiPSCs 诱导分化至造血干/祖细胞(HSPCs);2)将 hiPSCs 来源的 HSPCs 用悬浮培养方法, 用不同培养基, 分若干阶段进一步向红系诱导分化(表 1)。我们注意到, 这些基于平面培养而来的红系细胞成熟度和产量并不高, 阻碍了体外诱导而

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.004

* 国家自然科学基金(面上项目 5001042804); △ 通信作者:马峰(1961.11-),男,医学博士,研究员,主要从事干细胞、造血干细胞、造血发生以及与血液疾病相关的基础和临床研究,电话:028-61648510,Email:mafeng@hotmail.co.jp

来的红系细胞应用于临床。三维培养方法是指在体外模拟细胞的三维生长环境,使细胞能与其所处环境相互作用,从而提高细胞的扩增能力。Di Buduo 等^[7]用蚕丝蛋白制成三维支架,加入基质细胞和各种基质蛋白,并模拟骨髓的物理环境,促进血小板扩增和成熟。有学者将 CD34⁺ 细胞体外培养至中幼红细胞或晚幼红细胞,再将这种细胞用三维多孔支架作后续培养,发现三维培养方法可使该来源的晚期红细胞扩增和成熟^[8]。还有研究者用透明质酸水凝胶模拟骨髓造血微环境,对脐带血来源的 CD34⁺ HSPCs 做维持培养,发现与悬浮培养相比,透明质酸水凝胶能更好维持 HSPCs 扩增^[9]。故我们推测三维培养同样能使 hESCs 来源的红系细胞成熟度提高,于是借鉴文献[10-12]方法,拟用海藻酸钠、胶原蛋白和透明质酸 3 种材料分别制成三维支架,探讨 hESCs 来源的 HSPCs 在此支架内成熟度效果,旨在了解 hESCs 来源的 HSPCs 向红系细胞分化过程中,不同材料制成的三维空间结构对红系细胞成熟的影响,报道如下。

表 1 hESCs/hiPSCs 体外不同诱导方法产生红细胞比较^[6]

| 方法 | | 产量 (个) | 血红蛋白 产量(%) | 脱核率 (%) |
|--------|---|-------------------------|---------------|--------------|
| EB | 1) hESCs 培养至 EBs(SF/SC) | 高 (10 ³) | 少或无 | 高 (34-48) |
| | 2) 诱导分化成熟红细胞(SF) | | | |
| | 1) hiPSCs 培养至 EBs(SF) | 中 (10 ²) | 无 | 低 (4-10) |
| | 2) 诱导分化成熟红细胞(SF) | | | |
| | 1) hESCs 和基质细胞共培养 (SC) | 中 (10 ²) | 高 | |
| | 2) 内皮祖细胞扩增(SC) | | | |
| 共培养 | 3) 诱导分化成熟红细胞(SF/ SC) | | | |
| | 4) 与 OP-9/MS-5 基质细胞共 培养,增加红细胞脱核率(SF) | | | |
| | 1) hESCs 分化至 EBs(SF) | 低 (0-16) | 高 (30-65) | |
| | 2) 诱导分化成熟红细胞(SF) | | | |
| | 3) 与 OP-9/MS-5 基质细胞共 培养,增加红细胞脱核率(SF) | | | |
| | | | | |
| EB+共培养 | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 基质胶 (Matrigel, 批号 01730)、CD71-FITC (批号 555536)、GPA-PE 试剂 (批号 555570) (美国 BD); CD36-APC (批号 336208, 美国 BioLegend); 无血清扩增培养基 (Serum-Free Expansion Medium, SFEM) (批号 9650)、mTeSR TM1 培养基 (批号 05850) (加拿大 StemCell); IMDM 培养基 (批号 12440-053)、胶原蛋白酶 I (批号 17018029) (美国 Gibco); 0.25% Trypsin/EDTA 消化酶 (批号 202-16931, 日本 Wako); 低粘 24 孔板 (批号 3473, 美国 Corning); 兔血清 (批号 ZLI9025, 北京中山生物技术有限公司); L-谷氨酰胺 (L-Glutamine) (批号 25030081)、非必需氨基酸 (NEAA) (批号 11140-050) (美国 Gibco); 胶原蛋白 (批号 C4243)、海藻酸钠 (批号 18097)、HEPES (批号 V900477)、抗坏血酸 (AA) (批号 1043003)、转铁蛋白 (Tri) (批号 T2252)、地塞米松 (Dexamethasone, DEX) (批号 D4902)、β-巯基乙醇 (批号 D4902) (美国 Sigma,); α-MEM (批号 SH30265.01B, 美国 Hy-

clone); 5% 胎牛血清 (批号 S1580-500, 美国 Biowest); CaCl₂ (批号 1B1110, 美国 AMRESCO); 柠檬酸钠 (批号 6132-04-3, 成都化学试剂厂); 血管内皮生长因子 (VEGF) (批号 061-04051)、重组人干细胞生长因子 (rhSCF) (批号 199-12813)、重组人白细胞介素 (IL) 3 (IL-3) (批号 MYE0317)、IL-6 (批号 099-04631)、重组人 Fms 样酪氨酸激酶 3 配体 (Flt-3) (批号 061-04051) 及碱性成纤维生长因子 (bFGF) (批号 06004543) (日本 Wako,); 重组人促血小板生成素 (TPO) (批号 NHK0828-SDM, 日本 KIRIN); 重组人促红细胞生成素 (EPO) (批号 RC086, 日本 BBI)。生物 X 射线照射仪 (RS-2000, 美国 RAD SOURCE 公司); CO₂ 培养箱 (HeraCell1502)、离心机 (LABOFUGE 400) (美国 Thermo 公司); 流式细胞仪 (BD Canto II, 美国 BD 公司)。

1.2 细胞培养 采用本实验室建立的 hESCs 向红系细胞诱导分化的培养体系^[4, 13-16]。

1.2.1 细胞珠来源 hESCs 细胞 H1 购自美国 Wicell 基金会; AGM-S3 取自日本 C3H 小鼠的 AGM 区, 并传代培养。

1.2.2 hESCs 维持培养 将 135 μL Matrigel 溶解于 12 mL DMEM/F12 中, 混匀后取 1 mL 铺于 35 mm 培养皿, 室温放置 1 h; 0.5 mmol/L EDTA 消化 hESCs 3 min, 转移到准备好的培养皿中, 加入 2 mL mTeSR TM1 培养基作维持培养, 每 4-5 d 传代 1 次。

1.2.3 AGM-S3 基质细胞准备 将冻存的 AGM-S3 细胞复苏到明胶包被的培养皿中, 用 10 mL α-MEM、5% 胎牛血清培养, 待 AGM-S3 细胞长到密度接近 100% 时, 用生物 X 射线照射仪以 15 Gy 照射 650 s。

1.2.4 hESCs 定向诱导分化为红系细胞 第 1 阶段: 取 hESCs (约 1×10⁵ 个) 克隆接种于辐照后的 AGM-S3 基质细胞上培养, 前 3 d 用 hESCs 培养基维持培养, 然后转换成造血分化培养基培养 12 d; 第 2 阶段: 取共培养 12 d 细胞, 按 1×10⁶ 个/孔接种到低粘 24 孔板中, 并将培养基转为悬浮配方 (100 ng/mL SFEM、100 ng/mL SCF 100、100 ng/mL IL-6、5 ng/ml TPO、5 ng/mL、5 ng/mL IL-3、20 ng/mL VEGF、4 IU/ml EPO) 培养 5 d; 第 3 阶段: 之后将细胞收集, 按悬浮配方 (100 ng/mL SFEM、100 ng/mL SCF、5 ng/mL IL-3、4 IU/ml EPO、1×10⁻⁶ mol/L DEX) 培养 5 d, 其中 1.0×10⁶ 细胞接种于水凝胶内, 1.0×10⁶ 细胞直接用悬浮培养方法继续培养。

1.3 水凝胶制作

1.3.1 透明质酸^[17] 按照透明质酸水凝胶试剂盒配制水凝胶, 加入 1.0×10⁶ 细胞混匀, 37°C、5% CO₂ 15 min, 按 1.2.4 步骤作后续培养实验。

1.3.2 海藻酸钠^[12] 将 1.0×10⁶ 细胞重悬于海藻酸钠溶液中, 混匀; 取 400 μL 细胞混合液缓慢加入到 600 μL CaCl₂ 溶液内, 37°C、5% CO₂ 5 min, 洗尽 CaCl₂ 溶液后, 按 1.2.4 步骤作后续培养实验。

1.3.3 胶原蛋白^[11] 取 500 μL 胶原蛋白混合液于 24 孔板中, 37°C 温箱放置 2 h; 加入悬浮培养基充分润湿 3 d, 将 1.0×10⁶ hESCs 来源的共培养细胞悬液加入至准备好的胶原蛋白水凝胶后, 按 1.2.4 步骤作后续培养实验。

1.4 水凝胶解离 1) 透明质酸^[17]: 将培养基吸弃, PBS (自

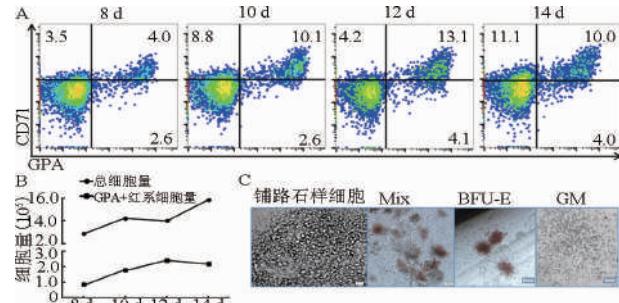
配)洗2遍,向孔内加入200 μ L 1 mg/L透明质酸酶作用8 h,洗涤弃上清液。2)海藻酸钠^[12]:将培养基吸弃,PBS洗2遍,向孔内加入加1 mL解离液作用5 min,收集混合液,用PBS洗3遍,移弃上清液。3)胶原蛋白:将培养基吸弃,PBS洗2遍,向孔内加入50 μ L 4%胶原蛋白酶作用45 min,洗涤弃上清液。4)上述解离出来的细胞用流式细胞仪检测表面标志。

1.5 红系细胞表面标志物检测 将上述3种材料制作三维体系培养的细胞取出,用0.2%FBS-PBS重悬、计数,用兔血清封闭Fc受体20 min,加入流式荧光抗体CD71-FITC、GPA-PE和CD36-APC染色,4℃孵育45 min;加入1 mL、含2%血清的PBS洗去未结合的抗体,300 g离心5 min,每个样品加入200 μ L、含2%血清的PBS重悬细胞。用BD FACScantontm II检测,记录结果,数据分析使用FlowJo vX.0.7作图分析。

1.6 统计学分析 每次实验平行重复3次,用GraphPad Prism 5软件作统计学分析,数据以“均数±标准差($\bar{x}\pm s$)”表示,组同比较应用t检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。计算公式:GPA⁺红系细胞量=总细胞量×GPA⁺红系细胞比值,GPA⁺CD36⁺红系细胞量=总细胞量×GPA⁺CD36⁺红系细胞比值,GPA⁺CD36⁻红系细胞量=总细胞量×GPA⁺CD36⁻红系细胞比值;提升效率=100%×(水凝胶内细胞量-悬浮培养内细胞量)/悬浮培养内细胞量。

2 结果

2.1 hESCs/AGM-S3共培养产生红系细胞 在维持培养基作用下,hESCs与AGM-S3共培养3 d标记为3 d,hESCs克隆增大并保持未分化状态,此时将培养基更换为造血分化液并记为造血分化的0 d(图2);造血分化至12 d时,每个hESCs分化克隆周围产生大量“铺路石”样细胞——能够产生造血细胞集落(图1-C);流式检测共培养细胞:在造血分化的8 d左右,开始出现GPA⁺CD71⁺红系细胞,在共培养12 d时,GPA⁺CD71⁺红系细胞比例达最高(图1-A);将总细胞量与GPA⁺红系细胞比率相乘的换算结果显示:GPA⁺红系细胞8 d开始增多,12 d达到峰值,然后开始下降(图1-B)。因此,我们选择共培养12 d hESCs与AGM-S3做进一步的三维培养和悬浮培养(对照)。



A 共培养8、10、12、14 d流式细胞检测:GPA和CD71共阳性红细胞产生;B 共培养过程中不同时间检测GPA⁺细胞绝对数及其占总细胞数的比率;C 共培养12 d产生的铺路石样红系细胞以及集落培养产生的造血细胞集落形态(标尺分别为20和100 μ m)

图1 hESCs/AGM-S3共培养诱导分化过程中红系细胞的产生

2.2 不同凝胶材料三维培养对hESCs向红系细胞诱导分化的效果 由于已经证实可以在特定的时间点观察细胞表面分子表达的百分比以及相应细胞群的细胞绝对数量并选择最优时间点培养红系细胞^[6];因此我们将上述共培养12 d的细胞,在SCF、IL-6、IL-3、TPO、FL-3、EPO、VEGF 7个因子条件下再悬浮培养5 d,进一步将细胞种进水凝胶内;同时用悬浮培养作为对照,在SCF、IL-3、EPO条件下继续培养5 d(图2)。实验观察的细胞群分别有总GPA⁺、GPA⁺CD36⁻和GPA⁺CD36⁺,分别代表总的红系细胞、幼稚和相对成熟红系细胞群^[5]。

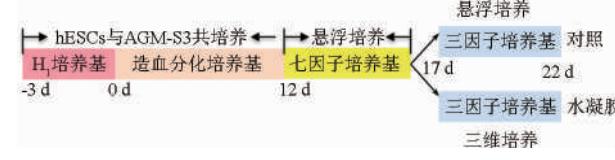
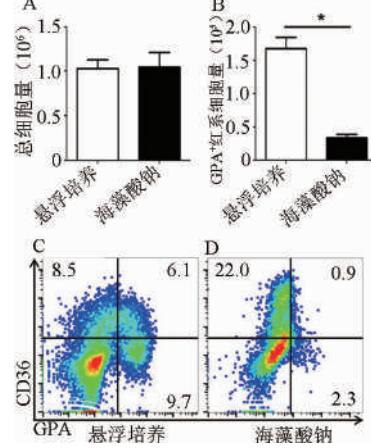


图2 hESCs/AGM-S3共培养向红系细胞诱导分化过程中悬浮培养和三维培养模式

2.2.1 海藻酸钠水凝胶 培养10 d时,悬浮培养和海藻酸钠水凝胶三维培养的GPA⁺细胞分别为15.8%和2.3%,GPA⁺CD36⁺细胞分别为6.1%和0.9%;2种方法培养得到的细胞总量无差别,但是,海藻酸钠水凝胶培养的红系细胞扩增效率更低(图3)。提示与悬浮培养相比,红系细胞并未在海藻酸钠水凝胶内展现出较好的扩增能力。



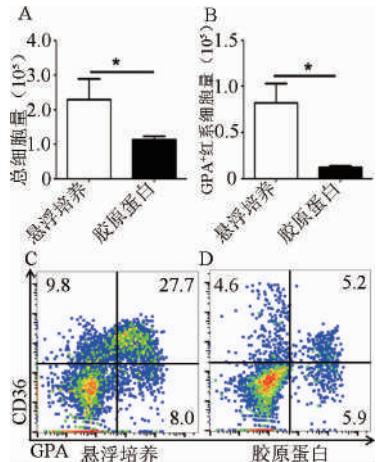
A 总细胞量;B GPA⁺红系细胞的绝对数[$n=3$,悬浮培养 $(1.68\pm 0.08)\times 10^6$,海藻酸钠 $(0.33\pm 0.02)\times 10^5$, $* t = 15.7, P < 0.05$];C,D 红系细胞表达GPA和CD36表面分子情况,C为悬浮培养,D为海藻酸钠水凝胶(三维)培养

图3 海藻酸钠水凝胶三维培养的红系细胞表面分子表达情况和扩增数量

2.2.2 胶原蛋白水凝胶 用胶原蛋白制成水凝胶三维培养体系并以悬浮培养作对照,悬浮培养和胶原蛋白水凝胶三维培养10 d的GPA⁺细胞分别为35.7%和11.1%,GPA⁺CD36⁺细胞分别为27.7%和5.2%,且无论总细胞数还是GPA⁺红系细胞数,胶原蛋白水凝胶培养均较悬浮培养差(图4)。

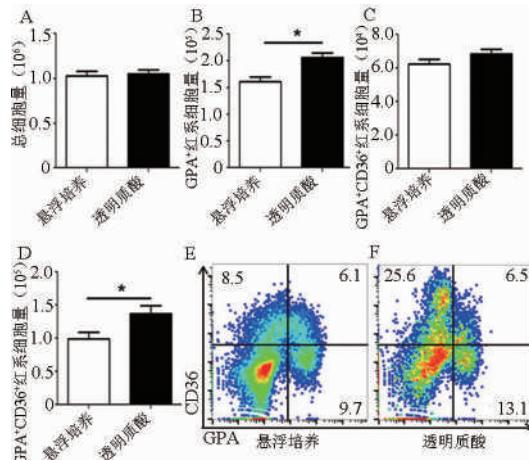
2.2.3 透明质酸 悬浮培养和透明质酸水凝胶三维培养10 d的总细胞数相近($P>0.05$)(图5-A),GPA⁺红系细胞比率分别为15.8%和19.6%(图5-E,F);GPA⁺CD36⁻细胞比率悬浮培养和透明质酸水凝胶三维培养分别为9.7%和13.1%,GPA⁺CD36⁺细胞比率分别为6.1%和6.5%(图5-E,

F);透明质酸水凝胶三维培养较悬浮培养的细胞绝对数量明显增加(表 2)。



A 总细胞量 [$n=3$, 悬浮培养 (2.30 ± 0.30) $\times 10^5$, 胶原蛋白 (1.13 ± 0.01) $\times 10^5$, * $t = 3.83, P < 0.05$] ;B GPA⁺ 红系细胞的绝对数 [$n=3$, 悬浮培养 (0.82 ± 0.10) $\times 10^5$, 胶原蛋白 (0.13 ± 0.01) $\times 10^5$, * $t = 6.48, P < 0.05$] ;C、D 红系细胞表达 GPA 和 CD36 表面分子情况, C 悬浮培养, D 胶原蛋白水凝胶三维培养

图 4 胶原蛋白水凝胶三维培养的红系细胞表面分子表达情况和扩增数量



A 总细胞量; B GPA⁺ 红系细胞的绝对数 [$n=3$, 悬浮培养 (1.62 ± 0.07) $\times 10^5$, 透明质酸 (2.06 ± 0.08) $\times 10^5$, * $t = 3.77, P < 0.05$] ;C GPA⁺ CD36⁺ 红系细胞的绝对数 [$n=3$, 悬浮培养 (0.62 ± 0.03) $\times 10^5$, 透明质酸 (0.68 ± 0.03) $\times 10^5$] ;D GPA⁺ CD36⁻ 红系细胞的绝对数 [$n=3$, 悬浮培养 (0.99 ± 0.04) $\times 10^5$, 透明质酸 (1.38 ± 0.05) $\times 10^5$, * $t = 5.05, P < 0.05$] ;E、F 红系细胞表面分子 GPA、CD36 表达情况, E 悬浮培养, F 透明质酸水凝胶三维培养

图 5 透明质酸水凝胶三维培养的红系细胞表面分子表达情况和扩增数量

表 2 悬浮培养和透明质酸水凝胶三维培养的细胞数量

| | 悬浮培养 | 透明质酸 | 提升效率 |
|--|--------------------|--------------------|------|
| 总细胞量 | 1.03×10^6 | 1.05×10^6 | / |
| GPA ⁺ 红系细胞量 | 1.62×10^5 | 2.06×10^5 | 27.2 |
| GPA ⁺ CD36 ⁺ 红系细胞量 | 0.62×10^5 | 0.68×10^5 | 9.6 |
| GPA ⁺ CD36 ⁻ 红系细胞量 | 0.99×10^5 | 1.38×10^5 | 39.4 |

3 讨论

海藻酸钠是从海藻中提取而来的 1 种天然高分子,与细胞外基质的糖聚糖类似,具有良好的生物相容性和保水能力,以及且能够方便地制作成支架,因而已被广泛应用于体外三维培养。有学者将小鼠 ES 细胞(mESCs)直接种植进海藻酸钠制成的水凝胶,通过造血分化液和红系细胞分化液,发现培养 14 d 的 BFU-E、CFU-E 的产出多于悬浮培养^[10]。而 Yuan 等^[13]则发现脐带血 CD34⁺ 细胞能够在海藻酸钠水凝胶更好地扩增^[12]。胶原蛋白是一类生物高分子,主要有 I、II、III、IV 型胶原蛋白,常见于动物结缔组织,因其有良好生物相容性、可降解性和生物活性,常用于模拟体内培养环境并应用于细胞培养^[11]。透明质酸(hyaluronic acid, HA)又称玻尿酸,是 1 种直链酸性粘多糖,由 1,4-β-D-葡萄糖醛酸(glucuronic acid)和 1,3-β-D-N-乙酰氨基葡萄糖(N-acetyl glucosamine)双糖重复单元组成,是骨髓微环境组成成分,不仅组成骨髓网状结构,还可通过受体和配体结合影响造血干细胞的功能^[18-20]。由于透明质酸具有良好生物相容性、可降解性和生物活性,因而常用于细胞三维培养中。

目前,人类红系细胞体外诱导分化的各种培养方法仍普遍存在培养出的细胞数量不足和成熟度不高的问题,阻碍了其向临床的转化。我们尝试用水凝胶材料建立 1 种简单的三维培养方法,优化 hESCs 产生的 HSPCs 向红系细胞诱导分化。虽然海藻酸钠能够应用于 CD34⁺ 细胞的扩增培养^[12],但本组实验数据并没有显示它有利于 hESCs 来源的红系细胞的扩增和成熟(图 3)。本组实验数据同样不支持胶原蛋白水凝胶可用于红系细胞的三维培养(图 4)。我们发现,虽然透明质酸水凝胶三维培养 hESCs 收获的总细胞量与悬浮培养比较相差不大,但其较悬浮培养能收获更多的 GPA⁺ 红系细胞(是后者 1.27 倍)(图 5);提示透明质酸水凝胶三维培养能够直接促进红系细胞扩增。此前我们的研究已证实 在 hESCs/AGM-S3 共培养中随着 HSPCs 向成熟红细胞发育,随着红细胞成熟度增高,CD36 表达有 1 个起初阴性进而逐渐高表达的动态过程,GPA⁺ CD36^{low/+} 比 GPA⁺ CD36⁻ 成熟度无论在形态学还是 β 亚基的表达率都要高^[5]。本次实验结果则显示,透明质酸水凝胶三维培养的细胞不但 GPA⁺ CD36⁺ 细胞数量比悬浮培养提高了近 1 倍,提示透明质酸对促进红系细胞成熟有一定作用而且 GPA⁺ CD36⁻ 细胞数量也比悬浮培养分别提高了 39.4%(图 5)。这说明相比 GPA⁺ CD36⁺ 细胞,透明质酸更能促进幼稚红系细胞扩增分化。

已有实验提示透明质酸水凝胶能延缓 BFU-E 集落衰亡进程^[9]。在红系细胞诱导分化过程中,红系祖细胞通过胞核内的热休克蛋白 70(heat shock protein 70, Hsp70)抑制 Caspase-3 介导的对 GATA-1 解裂,从而抑制红系细胞的衰亡^[21];而透明质酸受体 CD44 在 HSPCs 表面有表达,且在红系细胞发育过程中,作为黏附分子而表达于红系祖细胞^[22-23]。透明质酸通过与 CD44 相互作用,上调 Hsp72 表达,从而激活 HSF1,使得细胞衰亡减慢^[24]。Hsp70 家族包括 Hsp70 和 72, Hsp72 是可诱导的 Hsp70, 分布于胞核、胞浆、线粒体内,是抑制细胞衰亡的主要蛋白之一^[25-26]。我们的实验结果类进一步证

实了透明质酸水凝胶三维培养比悬浮培养更能促进人类 CD34⁺造血细胞扩增并在二次集落培养中产生更多的 BFU-E^[9]。因此,我们推测基于透明质酸的三维培养通过 CD44 和 Hsp70 家族蛋白相互作用,延缓了红系细胞衰亡进程,从而促进了 hESCs 来源的 HSPCs 向红系细胞的增殖和成熟。

HSPCs 的自我更新和定向分化依赖于骨髓微环境的调节作用。已有的研究显示,骨髓微环境是由基质细胞、细胞外基质、细胞因子组成的复杂三维环境构成。近几十年来,研究者们试图在体外模拟骨髓微环境,从而使细胞更好地生长发育。尽管我们采用的实验方法及其结果提示透明质酸能够促进红系细胞成熟度增加,但我们只做了流式细胞仪检测,今后还需要做更多工作以加强本研究的结论。

参 考 文 献

- [1] Fibach E, Manor D, Oppenheim A, et al. Proliferation and maturation of human erythroid progenitors in liquid culture. *Blood*, 1989, 73(1):100-103.
- [2] Ma F, Ebihara Y, Umeda K, et al. Generation of functional erythrocytes from human embryonic stem cell-derived definitive hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105(35):13087-13092.
- [3] Dias J, Gumennyuk M, Slukvin II, et al. Generation of red blood cells from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev*, 2011, 20(9):1639-1647.
- [4] Mao B, Huang S, Lu XL, et al. Early development of definitive erythroblasts from human pluripotent stem cells defined by expression of glycophorin A (CD235a), CD34 and CD36. *Stem Cell Reports*, 2016, pii: S2213-6711(16)30188-6.
- [5] 毛斌. 人类多潜能干细胞体外分化红细胞发育过程中表型分子的研究[D].北京:北京协和医学院,2015.
- [6] 毛斌,马峰. hESCs/hPSCs 体外诱导产生红细胞的研究进展及其临床应用的展望. *中国生物医学报*. 2012,34(11):1067-1079.
- [7] Di Buduo CA, Wray LS, Tozzi L, et al. Programmable 3D silk bone marrow niche for platelet generation ex vivo and modeling of megakaryopoiesis pathologies. *Blood*, 2015, 125(14): 2254-2264.
- [8] Lee E, Han SY, Choi HS, et al. Red blood cell generation by three-dimensional aggregate cultivation of late erythroblasts. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(3-4):817-828.
- [9] Demange E, Kassim Y, Petit C, et al. Survival of cord blood haematopoietic stem cells in a hyaluronan hydrogel for ex vivo biomimicry. *J Tissue Eng Regen Med*, 2013, 7(11):901-910.
- [10] Fauzi I, Panoskaltsis N, Mantalaris A. Early exposure of murine embryonic stem cells to hematopoietic cytokines differentially directs definitive erythropoiesis and cardiomyogenesis in alginate hydrogel three-dimensional cultures. *Stem Cells Dev*, 2014, 23 (22):2720-2729.
- [11] Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm*, 2001, 221(1-2): 1-22.
- [12] Yuan Y, Tse KT, Sin FW, et al. Ex vivo amplification of human hematopoietic stem and progenitor cells in an alginate three-dimensional culture system. *Int J Lab Hematol*, 2011, 33(5): 516-525.
- [13] 路旭琳. StemRegenin 1 扩增人类多能干细胞来源的造血干/祖细胞及其分化潜能的研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2015.
- [14] 潘旭,杨文钰,孙文翠,等. 人胚胎干细胞向嗜酸性粒细胞高效定向诱导分化模型的建立. *中国输血杂志*. 2015; 28(5): 479-482.
- [15] 郁金凤,孙文翠,路旭琳,等. 人胚胎干细胞高效诱导产生巨噬细胞方法的建立. *中国输血杂志*, 2015, 28(5):482-487.
- [16] 路旭琳,郁金凤,孙文翠,等. 拟胚体培养体系中造血表面标志的变化及其向红细胞分化潜能的研究. *中国输血杂志*. 2015; 28 (5):488-492.
- [17] 李凯,吕少一,周建业,等. 不同浓度透明质酸水凝胶的细胞相容性. *中国组织工程研究*, 2013, 17(16):2927-2934.
- [18] Haylock DN, Nilsson SK. The role of hyaluronic acid in hemopoietic stem cell biology. *Regen Med*, 2006, 1(4):437-445.
- [19] Lapeć L Jr, Lapeć L, de Smedt S, et al. Hyaluronan: preparation, structure, properties, and applications. *Chem Rev*. 1998, 98 (8):2663-2684.
- [20] Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23(1):435-461.
- [21] Ribeil JA, Zermati Y, Vandekerckhove J, et al. Hsp70 regulates erythropoiesis by preventing caspase-3-mediated cleavage of GATA-1. *Nature*, 2007, 445(7123):102-105.
- [22] Telen MJ. Erythrocyte adhesion receptors: blood group antigens and related molecules. *Transfus Med Rev*, 2005, 19(1):32-44.
- [23] Chen K, Liu J, Heck S, et al. Resolving the distinct stages in erythroid differentiation based on dynamic changes in membrane protein expression during erythropoiesis. *Proc Natl Acad Sci*, 2009, 106(41):17413-17418.
- [24] Xu H, Ito T, Tawada A, et al. Effect of hyaluronan oligosaccharides on the expression of heat shock protein 72. *J Biol Chem*, 2002, 277(19):17308-17314.
- [25] Daugaard M, Rohde M, Jäättelä M. The heat shock protein 70 family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *FEBS Lett*, 2007, 581(19):3702-3710.
- [26] Lanneau D, de Thonel A, Maurel S, et al. Apoptosis versus cell differentiation: role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27. *Prion*, 2007, 1(1):53-60.

(2016-08-03 收稿, 2017-01-22 修回)

本文编辑:蔡辉

· 论著 ·

KIRs 在 HLA 全相合造血干细胞移植供患者 NK 细胞上的分布

王东梅 王中梅 李冬妹 敬媛媛 王洁 倪蕾 单晓燕[△](北京市红十字血液中心,北京 100088)

摘要:目的 研究杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin-like receptors, KIRs)在无关人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)全相合造血干细胞移植供患者的NK细胞上的分布差异。方法 用第一代测序(sequenced-base typing, SBT)的方法对造血干细胞移植的供患者进行HLA分型,用序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)对46组HLA全相合的供、患者进行KIR分型。结果 KIR基因型在46对供患者中都存在,16个基因型的分布频率在供患者分布无显著差异,KIR单体型中,AA的频率是29.34%,AB的频率是23.91%,BB的频率是46.75%,在供患者间的分布亦无差异。KIR-HLA错配11例,占24%。结论 KIR基因型在供患者中的分布频率无显著差异,在HLA全相合造血干细胞供患者间的KIR-HLA错配几率低。

关键词:杀伤细胞免疫球蛋白样受体;造血干细胞移植;人类白细胞抗原

中图分类号:R457.1+1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0017-03

The prevalence of NK cell KIRs of donor/recipient pairs in HLA-matched unrelated allo-HSCT WANG Dongmei, WANG Zhongmei, LI Dongmei, JING Yuanyuan, WANG Jie, NI Lei, SHAN Xiaoyan. Beijing Red Cross Blood Center, Beijing 100088, China. Corresponding author: SHAN Xiaoyan

Abstract: **Objective** To study the prevalence of killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) on the NK cell of donor/recipient pairs in HLA matched unrelated hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). **Methods** Sequenced-base typing method was used to type the HLA genotype of donor/recipient pairs. Sequence specific primers polymerase chain reaction (PCR-SSP) method was used to type the KIRs gene of 46 pairs of HLA-matched unrelated donor/recipients. **Results** There is no significant difference on the prevalence of KIRs in donors and recipients. The frequencies of AA haplotype was 29.34%, AB haplotype was 23.91%, BB haplotype was 46.75%. There were 11 KIR-HLA mismatch pairs in 46 HLA-matched donor/recipient pairs. **Conclusion** The frequencies of KIR genotypes in patients are similar to those in donor. In HLA-matched unrelated donor/recipient pairs, the rate of KIR-HLA mismatch is low.

Key words:Killer cell immunoglobulin like receptor; hematopoietic stem cell transplantation; human leukocyte antigen

一直以来,患者和供者的人类白细胞抗原系统相合与否被认为是影响造血干细胞移植成败的决定性因素,但是,即使是在HLA基因高分辨分型全相合的造血干细胞移植中,移植预后在受者间也存在着很大的差异。近年来的研究表明,在造血干细胞移植中,由供者的杀伤细胞免疫球蛋白样受体错配引发的NK细胞异源反应活性能够在患者体内有效清除白血病细胞,延缓疾病的复发。为了更加有效的研究KIR的作用,我们对拟进行造血干细胞移植的46对HLA全相合的供患者进行了KIR的基因分型,初步探讨KIR基因型,其配体在供患者间的分布情况。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2012年1~9月在本实验室进行的HLA-A、B、C、DRB1、DQB1 5个位点高分辨分型结果全相合的供患双方共46对。急性淋巴细胞白血病(ALL)16例,慢性粒细胞白血病(CML)12例,急性髓系白血病(AML)12例,再生障碍性贫血(AA)3例,骨髓增生异常综合征(MDS)3例。

1.2 试剂与仪器 DNA提取试剂盒(美国 perkin Elmer 公

司,货号 B200-0126115), HLA-A、-B、C、-DRB1、-DQB1 高分辨率基因分型试剂盒(美国, Celera Corporation 公司, Abbott 试剂盒), KIR 分型试剂盒(美国, ThermoFisher, 货号 789303), PCR 扩增仪(美国 ABI, PE9700), ABI prism 3730 Genetic Analyzer 测序仪(美国, Applied Biosystems 公司), DNA 全自动提取仪(瑞士 HAMILTON, microlab STAR) 4K15 板式离心机(德国 SIGMA)。

1.3 方法

1.3.1 DNA 抽提方法 采用DNA全自动提取仪,按照说明进行操作,提取的DNA测定浓度和纯度,OD260/280 的比值在1.8~2.0,浓度在(20~50)ng/μL。

1.3.2 HLA 分型方法 采用第一代测序方法,按试剂盒说明书进行操作,用 Assign 3.6 软件分析结果。

1.3.3 KIR 分型方法 采用序列特异性引物聚合酶链反应基因分型(PCR-SSP)方法,按 KIR 分型试剂盒说明书进行操作,根据电泳结果,按读板纸判断结果。

1.4 统计学分析 KIR 基因表型频率:PF=表型数/总数,组与组之间的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KIR 基因型在 46 对供患者间的分布情况 我们采用的 KIR 分型试剂盒对 KIR 的 16 个基因型进行了分型,所有的基因型在供患者中都存在,KIR 各基因型的分布频率在 92 个个体中的分布频率,在供者、患者中的分布频率见表 1,根据分型结果,发现 KIR 各基因型分布频率在供患者间差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 KIR 基因型在供患者中的分布频率

| | 观察的个体数 | 频率(%) | 患者中的个数 | 供者中的个数 |
|-----------|--------|--------|--------|--------|
| 2DL4 | 92 | 100.00 | 46 | 46 |
| 3DL2 | 92 | 100.00 | 46 | 46 |
| 2DL1 | 91 | 98.91 | 45 | 46 |
| 3DX1-3DL3 | 90 | 97.83 | 44 | 46 |
| 2DP1 | 89 | 96.74 | 43 | 46 |
| 3DP1 | 89 | 96.74 | 44 | 45 |
| 3DL1 | 83 | 90.22 | 43 | 40 |
| 2DS4 | 68 | 73.91 | 31 | 37 |
| 2DL3 | 64 | 69.57 | 31 | 33 |
| 2DL5 | 42 | 45.65 | 23 | 19 |
| 3DS1 | 38 | 41.30 | 18 | 20 |
| 2DS1 | 34 | 36.97 | 16 | 18 |
| 2DL2 | 22 | 23.91 | 12 | 10 |
| 2DS3 | 19 | 20.65 | 10 | 9 |
| 2DS2 | 14 | 15.22 | 5 | 9 |
| 2DS5 | 8 | 8.70 | 4 | 4 |

2.2 KIR 单体型在供患者的分布情况 KIR 的单体型因其基因型组合的不同可以分为 AA 型,AB 型和 BB 型。AA 型除了含有框架基因 KIR2DL4, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR3DP1 外,还包含 KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR2DS4; AB 型是在 AA 型的基础上多出至少 1 个其他的 KIR 基因型; BB 型是缺失至少 1 个 AA 型的基因型^[1]。各单体型在供患者中的分布情况见表 2, KIR 单体型在供患者间分布差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 KIR 基因单体型在供患者中的分布情况

| KIR 基因单体型 | 患者 | 供者 |
|-----------|----|----|
| AA | 15 | 12 |
| AB | 8 | 14 |
| BB | 23 | 20 |

2.3 供者和患者间 KIR 基因型的相合情况 根据实验结果发现,46 对供患者间,KIR 基因型完全相合的有 9 对,不同的有 37 对。在这 37 对中,患者的 KIR 基因型包含供者的有 8 对,供者包含患者的有 9 对,完全不同的有 20 对。

2.4 KIR-HLA 配体在供患者间的错配分布情况 KIR 基因型在供患者间不同的 37 对中,只考虑完全不同的和供者包含患者的两类,共计 29 对。患者没有的激活型的 KIR 基因和抑制性的 KIR 基因各有 22 例,大部分都能在患者中找到相应的 HLA-C 配体,仅 11 例 KIR 基因型存在错配,即这些供者的 KIR 基因在患者体内没有相应的配体。它们是 2DS1 和 3DS1 各 6 例,2DL2 和 2DS2 各 4 例 2DL1 1 例。其中,激活型基因共 16 例,抑制型基因共 5 例($\chi^2=7.466, P<0.05$)。

3 讨论

部分 T 细胞表面的一类受体。分为抑制型 L 受体和激活型 S 受体。目前,KIR 受体家族已知的有 17 个成员^[2],由于编码 KIR 的基因位于人 19 号染色体(19q13.4),所以,即便在 HLA 全相合的姊妹间,KIR 基因型也可不同。

KIRs 分子识别 HLA-A,-B,-C 分子上的 4 种多态性表位^[3],这些表位是根据 HLA I 类分子重链 α1 融旋的 76–83 位氨基酸残基的变化定义的,统称为 KIR 的配体。Cl/C2 表位位于 HLA-C, Bw4 表位由 HLA-B 分子携带,A3/11 表位由 HLA-A*03 和 A*11 携带。

异基因造血干细胞移植是治疗恶性血液病最有效的治疗方法之一,而移植后患者免疫系统的重建和清除残余白血病细胞对治疗预后至关重要。1998 年,Ruggeri 等^[4]第一次显示了 NK 异源反应活性对 HSCT 预后的影响,至今,已经有很多方面的研究,结果不一,有的研究表明受体-配体错配数量越多,NK 细胞的潜在抗白血病效应越强;有的认为 KIR2DS1 对 HSCT 有保护作用,这种保护作用是 HLA-C 依赖方式的;有的研究证实了供者的 KIR2DL2 和 KIR2DS2 移植后,AML 患者的缓解期明显延长^[5-7]。这些都表明了人们对 NK 细胞的异源反应活性的发生和功效都还需要大量的、更深入的研究。因此了解 KIR 基因在 HLA 全相合的供患者间的分布特点,对选择供者有一定的指导意义。

我们对 46 对 HLA 全相合的供患者的 KIR 基因分型发现,KIR 基因型的分布频率与 Shi^[8] 报道的 KIR 基因的分布频率相近,KIR 基因型在供患者间分布无统计学上的显著差异,在 46 对供患者间,有 11 例存在 KIR-HLA 错配,占 24%。常见的错配 KIR 基因是 2DS1/3DS1,2DL2/2DS2, 激活型 KIR 基因占多数。

通过对 HLA 全相合的供患者 NK 细胞上的 KIR 分析,发现由于供患者的 HLA-C 是相同的,所以 KIR-HLA 的错配相对较少,在 HLA 半相合的供患者或亲属间的比率应该更高,但相应的 GVHD 的风险也高,所以,需要更多的临床数据评估患者选择供者的利弊。

参 考 文 献

- [1] Schonberg K, Sribar M, Enczmann J, et al. Analyses of HLA-C-specific KIR repertoires in donors with group A and B haplotypes suggest a ligand-instructed model of NK cell receptor acquisition. *Blood*, 2011, 117(1): 98-107.
- [2] Middleton D, Gonzalez F. The extensive polymorphism of KIR genes. *Immunology*, 2010, 129(1): 8-19.
- [3] Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, et al. Donor killer cell Ig-like receptor B haplotypes, recipient HLA-C1, and HLA-C mismatch enhance the clinical benefit of unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *J Immunol*, 2014, 192(10): 4592-4600.
- [4] Ruggeri L, Capanni M, Casucci M, et al. Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 1999, 94(1): 333-339.
- [5] Leung W, Iyengar R, Turner V, et al. Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol*. 2004, 172(1): 644-650.

杀伤细胞免疫球蛋白样受体 KIR 是表达在 NK 细胞及

- [6] Venstrom JM, Pittari G, Gooley TA, et al. HLA-C dependent prevention of leukemia relapse by donor activating KIR2DS1. *N Engl J Med*, 2012, 367(9): 805-816.
- [7] Impola U, Turpeinen H, Alakulppi N, et al. Donor haplotype B of NK KIR receptor reduces the relapse risk in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation of AML patients. *front. Immunol*, 2014, 5:405.

- [8] SHI S, ZHANG H, SHEN Y, et al. Distribution of KIR genes in Han population in Yunnan Province comparison with other Han populations in China. *International Journal of Immunogenetics*, 2013, 40(5), 361-368.

(2016-10-10 收稿, 2017-01-20 修回)

本文编辑:闻欣

• 论著 •

江苏地区汉族人群血小板 CD36 抗原表达差异的研究 *

庄云龙 段志敏² 陈蓉³ 蔡莉³ 肖建宇³ 黄成垠³ 李岷² 陈青^{3△}

(1. 山东省血液中心, 山东 济南 250014; 2. 中国医学科学院 北京协和医学院 皮肤病研究所; 3. 江苏省血液中心)

摘要: 目的 了解江苏地区汉族人群血小板上 CD36 抗原表达的差异。**方法** 应用流式细胞技术检测江苏地区 140 位汉族献血者血小板上 CD36 抗原的表达, 并分析其表达量。**结果** 本组江苏汉族献血者中, 血小板上 CD36 抗原表达缺失型占比 2.86% (4/140); 非缺失型占比 97.14% (136/140), 其中低表达 29 例、中表达 93 例, 高表达 14 例, 三者的平均荧光强度 (MFI) 分别为 $1\ 821.4 \pm 21.8$ vs $3\ 920.4 \pm 10.0$ vs $8\ 787.4 \pm 63.7$ ($P < 0.05$)。在 CD36 抗原表达的非缺失型中, 男性 127 例、女性 9 例, 其血小板上 CD36 抗原的 MFI 分别为 $3\ 678.36 \pm 13.5$ vs $5\ 296.0 \pm 314.4$ 。**结论** 江苏地区汉族人群血小板 CD36 抗原表达具有多样性。

关键词: CD36 抗原; 血小板; 血小板膜糖蛋白 IV; 流式细胞术; 江苏汉族**中图分类号:** R446.62 R331.1⁺43 **文献标识码:**A **文章编号:** 1004-549X(2017)1-0019-03

Study on diverse expression of platelets CD36 antigen in Han population in Jiangsu, China ZHUANG Yunlong¹, DUAN Zhimin², CHEN Rong³, CAI Li, XIAO Jianyu, HUANG Chenggen, LI Min, CHEN Qing. 1. Shandong Blood Center, Jinan 250014, China; 2. Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences & Beijing Union Medical College; 3. Jiangsu Province Blood Center. Corresponding author: CHEN Qing.

Abstract: Objective To investigate CD36 expression levels in platelets in the Jiangsu Han population. **Methods** CD36 expression levels on platelets were analyzed by flow cytometry among 140 blood donors in Jiangsu region. **Results** In these 140 blood donors, CD36-deficient and CD36-expression individuals were 2.86% (4/140) and 97.14% (136/140), respectively. Among 136 individual with platelet CD36 expression, according to mean fluorescence intensity (MFI) value, 29, 93 and 14 individuals showed low, moderate and high expression levels of CD36, respectively, and their MFIs were $1\ 821.4 \pm 21.8$; $3\ 920.4 \pm 10.0$ and $8\ 787.4 \pm 63.7$ ($P < 0.05$), respectively. Of the 136 individuals, the MFI CD36 expressions levels were $3\ 678.36 \pm 13.5$ in 127 males and $5\ 296.0 \pm 314.4$ in 9 females, respectively. **Conclusion** Platelet CD36 surface expression levels are diverse in the Jiangsu Han population.

Key words: CD36 antigen; platelets; platelet membrane glycoprotein IV; flow cytometry

血小板膜糖蛋白 IV (GP IV) 又称脂肪酸移位酶 (FAT), 即 CD36, 是 1 个 88 kDa 的糖蛋白, 属于 B 族清道夫受体 (scavenger receptor, SR) 成员, 表达于多种人类细胞包括血

小板、单核细胞、巨噬细胞和内皮细胞等表面^[1]。CD36 作为受体与多个配体相结合, 如它是氧化低密度脂蛋白 (oxLDL) 和长链脂肪酸 (LCFA) 的受体^[2], 因而具备多种功能。CD36 表达缺失导致心肌对 LCFA 吸收异常, LCFA 是心脏的主要能量来源, 这或许与肥厚性心肌病 (HCM) 的发生有关^[3-4]。CD36 缺失也影响着机体的脂类代谢, 导致血浆甘油三磷脂和低密度脂蛋白 (LDL) 的升高或高密度脂蛋白 (HDL) 的降低^[5-6]。oxLDL 通过 CD36 被吸收, 有利于形成巨噬细胞源性泡沫细胞 (macrophage foam cell), 提示 CD36 缺失能有效阻止动脉粥样硬化斑块的病理进程^[7-8]。oxLDL 通过 CD36 诱导或增强血小板活化, 血脂异常患者血栓前 (prothrombotic) 症状与此有关, 在动脉粥样硬化的进程中, oxLDL 和血小

doi: 10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 01. 006

* 基金项目: 江苏省重点研发计划社会发展项目 (BE2015717), 江苏省“十二五”期间“科教兴卫工程”医学重点人才 (RC2011088), 江苏省第十批“六大人才高峰”项目 (2013-WSW-039), 江苏省第四期和第五期“333 高层次人才培养工程”, 2010、2014 年度江苏省卫生国际交流支撑计划项目资助, 山东省医药卫生科技发展计划重点项目 (2013WS0170); △通信作者: 陈青 (1972.07-), 医学博士, 研究员, 主要从事血液免疫学研究, 电话: 025-85411563-6421, Email: chenqing90@yahoo.com

板 CD36 的相互作用或许参与了动脉粥样硬化斑块部位的血栓形成^[9]。尽管有研究证实不同个体血小板 CD36 的表达水平不仅存在着差异,而且其 CD36 表达水平还影响着血小板对 oxLDL 的功能响应,亦即血小板 CD36 的表达水平调节血小板的功能^[10];然而不同地区人群(如江苏地区汉族人群)血小板 CD36 抗原表达水平的变化及差异如何,仍是值得探索的课题,为此,我们以江苏地区汉族人群献血者为研究对象,对其血小板表面的 CD36 抗原表达水平做了检测与分类,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 从 2015 年 3 月在江苏省血液中心符合国家献血者健康检查标准、无偿捐献血小板的江苏籍健康献血者中随机抽取 140 人,其中男 131 人、女 9 人,年龄 19~51 (34.25 ± 6.1) 岁。在机采血小板过程中,通过主袋留瓣后热合的方法留取机采血小板 3 mL/(人)份,22°C、60 r/min 振荡(振幅 5 cm)保存,采集当日完成实验。

1.2 仪器和试剂 血小板恒温保存箱(PC42001,美国 Hemon 公司);流式细胞仪(FACSVersa™ Flow Cytometer,货号 651154,美国 BD 公司);离心机(Centrifuge 5810R,德国 Eppendorf 公司)。别藻蓝蛋白(APC)标记的抗人 CD36 单克隆抗体(批号 5150127086)及 APC 标记抗小鼠 IgG2a 抗体(批号 5150224035)(德国 miltenyi 公司),所有试剂都在效期内使用。

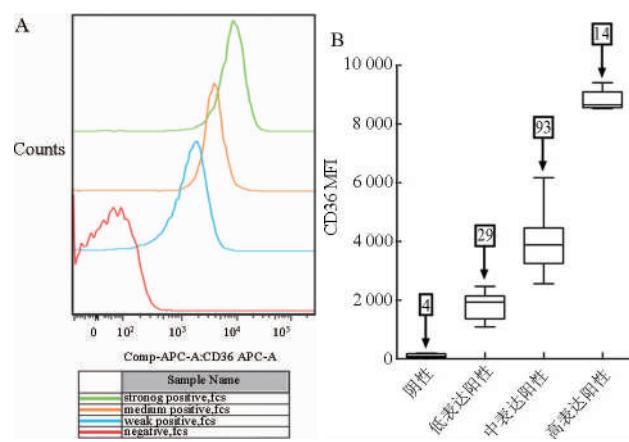
1.3 标本处理 将 3 mL/份富血小板血浆转入离心管,1 200 g 离心 5 min,弃去上层血浆,用 PBS 洗涤血小板 2 次后,把血小板悬浮在 PBS 中,调整血小板浓度为 10^6 /mL。

1.4 血小板 CD36 表达检测及分析 取 100 μL/份血小板悬液加入 10 μL APC 标记的抗人 CD36 单克隆抗体,APC 标记抗小鼠 IgG2a 抗体作为同型对照,混匀,4°C 避光孵育 10 min 后,1 800 g 离心 5 min,洗涤 3 次,振荡混匀,悬浮在 200 μL PBS 中;流式细胞仪检测,通过 FSC/SSC 设血小板门,以 Flow Jo 7.6.2 软件(美国 Tree Star 公司)分析血小板表面的平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)。

1.5 统计学分析 用 Flow Jo 7.6.2. 分析软件中的 MFI 值计算血小板表面 CD36 抗原的表达量,以“均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,应用 SPSS 19.0 统计软件,组间 MFI 的比较采用单因素方差分析,并采用 LSD-t 检验对不同组间做两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血小板上 CD36 抗原表达的检测 血小板上 CD36 抗原的 MFI 显示,本组江苏汉族献血人群的 CD36 抗原表达强度存在差异:1)4 例阴性(缺失型),MFI 值 101.6 ± 17.1 。2)136 例阳性(非缺失型),其中 CD36 抗原低表达 29 例,MFI 值 1821.4 ± 21.8 ,大大高于缺失型组($F = 59.707, P < 0.05$);CD36 抗原中表达 93 例,MFI 值 3920.4 ± 10.0 ,明显高于低表达组($F = 109.600, P < 0.05$);CD36 抗原高表达 14 例,MFI 值 8787.4 ± 63.7 , >1 倍中表达组 MFI 值($F = 149.794, P < 0.05$)(图 1)。



A 血小板 CD36 抗原表达检测的流式结果;B 流式结果统计

图 1 江苏汉族献血人群血小板 CD36 抗原的差异表达分析

2.2 血小板 CD36 抗原表达与性别的关系 本组江苏汉族献血人群 CD36 抗原表达非缺失型者 MFI,男性为 3678.36 ± 13.5 、女性为 5296.0 ± 314.4 ,但由于性别比例过于悬殊(男性:女性 = 127:9),是否二者存在明显差异,有待于今后扩大女性 CD36 抗原表达非缺失型者的例数来证实。

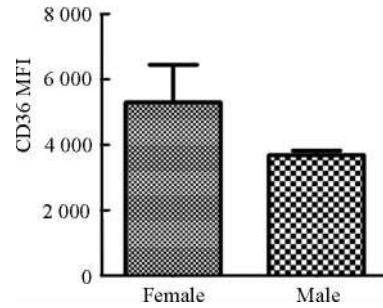


图 2 江苏汉族不同性别献血者血小板 CD36 抗原表达

3 讨论

本组数据证实血小板 CD36 抗原量在正常健康人群的不同个体中呈现明显差异:CD36 表达阳性个体的 MFI 值大约为 2 000~8 000^[10](图 1)。CD36 抗原表达调节血小板的活性^[10~11],由于 CD36 表达在 α-颗粒和开放微管系统的膜上,一旦血小板活化,就增加了 CD36 与配体接触的机会,这可能是 CD36 表达量能够强化血小板功能的原因^[12]。Ghosh 等^[10]还发现在健康人群中血小板活化后,CD36 与配体的结合大约增加了 20%;CD36 的表达水平和血小板对 oxLDL 的反应程度极相关。这种相关性或许可能通过 CD36 的表达水平预测血栓形成的潜在风险。就健康个体而言,CD36 的表达水平是比较稳定的^[10]。本组男性和女性 CD36 的表达水平存在差异(女性高于男性)(图 2),但由于两性比例(数)极不均衡,还需要增加女性例数来进一步研究。

我们依据血小板上 CD36 表达量的 MFI 值,将本组江苏汉族献血人群分为阴性组和阳性低表达、中表达和高表达组(图 1),推测这些个体 CD 表达量差异可能与编码 CD36 基因的碱基序列差异、等位基因拷贝数以及相关的调控序列的差异有关,CD36 抗原阴性个体可能存在编码基因缺失,CD36 阳性低表达个体可能为 CD36 基因缺失的杂合子($CD36^{+/-}$),CD36 阳性中、高表达个体可能是正常双等位基

因纯合子($CD36^{+/+}$)^[2]。这有待于通过测序等方法进一步证实。

$CD36$ 是血小板表面重要的膜糖蛋白之一, 血小板表面复杂的膜糖蛋白在免疫性血小板减少症的发生和发展中也发挥重要作用。 $CD36$ 在输血医学中由于 $NaK^a(-)$ 表型的发现而受到重视^[13]。研究发现, 个体血小板表面 $CD36$ 抗原缺乏可受免疫刺激产生抗- $CD36$, 已证实抗- $CD36$ 的产生是血小板输注无效的原因之一^[14]。此外, $CD36$ 同种抗体还可导致新生儿免疫性血小板减少和输血后血小板减少性紫癜^[15]。 $CD36$ 还涉及多种生物学过程, 包括脂质代谢, 炎症, 动脉粥样硬化, 先天免疫反应和氧化脂类的摄取等^[5-9], 最近有台湾学者报道血小板 $CD36$ 缺失型或低水平表达的单采血小板献血者比正常对照组有更高的由于脂血症导致延期献血的记录^[16]。单采血小板献血者 $CD36$ 抗原表达情况也开始受到重视。本研究有助于了解江苏地区汉族人群血小板上 $CD36$ 抗原表达的差异。

参 考 文 献

- [1] Silverstein RL, Febbraio M. $CD36$, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior. *Sci Signal*, 2009, 2(72):1-14.
- [2] Masuda Y, Tamura S, Matsuno K, et al. Diverse $CD36$ expression among Japanese population: defective $CD36$ mutations cause platelet and monocyte $CD36$ reductions in not only deficient but also normal phenotype subjects. *Thromb Res*, 2015, 135(5):951-957.
- [3] Okamoto F, Tanaka T, Sohmiya K, et al. $CD36$ abnormality and impaired myocardial long-chain fatty acid uptake in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Jpn Circ J*, 1998, 62(7):499-504.
- [4] Tanaka T, Nakata T, Oka T, et al. Defect in human myocardial long-chain fatty acid uptake is caused by $FAT/CD36$ mutations. *J Lipid Res*, 2001, 42(5):751-759.
- [5] Yanai H, Chiba H, Morimoto M, et al. Human $CD36$ deficiency is associated with elevation in low-density lipoprotein-cholesterol. *Am J Med Genet*, 2000, 93(4):299-304.
- [6] Yamashita S, Hirano K, Kuwasako T, et al. Physiological and pathological roles of a multi-ligand receptor $CD36$ in atherosclerosis; insights from $CD36$ -deficient patients. *Mol Cell Biochem*, 2007, 299(1):19-22.
- [7] Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S, et al. Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from $CD36$ -deficient subjects. *J Clin Invest*, 1995, 96(4):1859-1865.
- [8] Febbraio M, Podrez EA, Smith JD, et al. Targeted disruption of the class B scavenger receptor $CD36$ protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest*, 2000, 105(8):1049-1056.
- [9] Nergiz-Unal R, Lamers MM, Van Kruchten R, et al. Signaling role of $CD36$ in platelet activation and thrombus formation on immobilized thrombospondin or oxidized low-density lipoprotein. *J Thromb Haemost*, 2011, 9(9):1835-1846.
- [10] Ghosh A, Murugesan G, Chen K, et al. Platelet $CD36$ surface expression levels affect functional responses to oxidized LDL and are associated with inheritance of specific genetic polymorphisms. *Blood*, 2011, 117(23):6355-6366.
- [11] Magwenzi S, Woodward C, Wraith KS, et al. Oxidized LDL activates blood platelets through $CD36/NOX2$ -mediated inhibition of the cGMP/protein kinase G signaling cascade. *Blood*, 2015, 125(17):2693-2703.
- [12] Berger G, Caen JP, Berndt MC, et al. Ultrastructural demonstration of $CD36$ in the alpha-granule membrane of human platelets and megakaryocytes. *Blood*, 1993, 82(10):3034-3044.
- [13] Tomiyama Y, Take H, Ikeda H, et al. Identification of the platelet-specific alloantigen, Nak^a , on platelet membrane glycoprotein IV. *Blood*, 1990, 75(3):684-687.
- [14] Chee-Loong S, Helen S, Brian RC, et al. Two cases of platelet transfusion refractoriness associated with anti- $CD36$. *Transfusion*, 2010, 50(12):2638-2642.
- [15] Xu X, Ye X, Xia W, et al. Studies on $CD36$ deficiency in South China: two cases demonstrating the clinical impact of anti- $CD36$ antibodies. *Thromb Haemost*, 2013, 110(6):1199-1206.
- [16] Lo SC, Lin KH, Hsieh HH, et al. Genetic variations of $CD36$ and low platelet $CD36$ expression - a risk factor for lipemic plasma donation in Taiwanese apheresis donors. *Vox Sang*, 2016, 110(3):236-243.

(2015-12-26 收稿, 2016-11-17 修回)

本文编辑:蔡辉

欢 迎 购 稿

欢 迎 订 阅

《中国输血杂志》邮发代号:62-186

· 论著 ·

维生素 C 和氮-乙酰半胱氨酸抑制悬浮红细胞氧化应激损伤量效关系的初步比较^{*}

杨琨 王红 桑培培 周洋 李伟楠 贺曾 钟锐 刘嘉馨[△]

(中国医学科学院 北京协和医学院 输血研究所, 四川 成都 610052)

摘要:目的 探讨维生素 C(VC)和氮-乙酰半胱氨酸(NAC)对悬浮红细胞保存过程中氧化应激损伤的抑制作用,二者介入悬浮红细胞的量效关系。**方法** 取新鲜悬浮红细胞(采集制备至实验开始 3 d)8 袋(2 U/袋),使每袋均分为 9 份(40 mL/份),用无菌方式转移至 50 mL 塑料血袋,设 VC(实验组):取 4 份分别加入 0.1、1、10 和 100 mmol/L 的 VC 溶液各约 4.44 mL,使其终浓度为 0.01、0.1、1 和 10 mmol/L;NAC(实验组):取 4 份分别加入 0.1、1、10 和 100 mmol/L 的 NAC 溶液各约 4.44 mL,使其终浓度为 0.01、0.1、1 和 10 mmol/L;对照组:剩余 1 份加入等体积的等渗 PBS。3 组红细胞置于(4±2)℃保存,分别于保存 7、14、21、28 及 35 d 取样(6 mL/次)测定红细胞变形性、渗透脆性(g/L)、ATP、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)。**结果** RBC 保存初期,与对照组相比,1 和 10 mmol/L VC 实验组对 200⁻¹、1 000⁻¹剪切率 EI、渗透脆性(g/L)、胞内 ATP(μmol/g Hb)、GSH-Px(U/L)这 4 个指标均有改善: 0.290±0.022 vs 0.297±0.018 vs 0.282±0.026、0.527±0.029 vs 0.538±0.023 vs 0.520±0.043、4.892±0.128 vs 4.908±0.741 vs 5.000±0.068、4.82±0.49 vs 4.74±0.52 vs 4.45±0.57、89.24±5.76 vs 90.01±2.20 vs 75.51±16.03 ($P<0.05$);1 和 10 mmol/L NAC 实验组在 200⁻¹、1 000⁻¹剪切率 EI 值、渗透脆性、胞内 ATP(μmol/g Hb)、GSH-Px(U/L)分别为: 0.284±0.023 vs 0.298±0.012 vs 0.282±0.026、0.540±0.024 vs 0.550±0.027 vs 0.520±0.043、0.511±0.56 vs 5.000±0.068 vs 4.45±0.57、90.59±9.9 vs 99.06±27.8 vs 75.51±16.03, 其他浓度实验组红细胞没有明显的改变或规律性;保存末期,与对照组相比,1 mmol/L VC 和 NAC 实验组对渗透脆性(g/L)及 GSH-Px(U/L)这 2 个指标有改善: 0.260±0.017 vs 0.257±0.027 vs 0.241±0.024、0.507±0.019 vs 0.491±0.027 vs 0.485±0.036、87.89±10.83 vs 86.12±8.71 vs 77.75±8.17 ($P<0.05$)。**结论** 适宜浓度的 VC 和 NAC 能够抑制悬浮红细胞保存过程中的氧化应激损伤,改善悬浮红细胞的保存质量。

关键词: 悬浮红细胞; 氧化应激损伤; 维生素 C; 氮-乙酰半胱氨酸; 血液保存

中图分类号: Q591.2 R331.1¹ R457.1¹ 文献标识码:**A** 文章编号:1004-549X(2017)1-0022-06

The primary contrast of VC and NAC dose-effects on oxidative stress damage of stored RBC YANG Kun, WANG Hong, SANG Peipei, ZHOU Yang, LI Weinan, HE Zeng, ZHONG Rui, LIU Jiaxing. Chinese Institution of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Chengdu 610052, China. Corresponding author: LIU Jiaxin

Abstract: Objective To investigate the inhibition effects of VC and NAC on oxidative stress of erythrocyte suspension and to identify the dose-effect relationship of the two drugs during storage of RBC. **Methods** Blood samples were collected from eight healthy donors. Nine moieties were divided from the same suspension of RBC under sterile condition. This study was divided into the following three groups: four moieties were VC group, with a final concentration of 0.01, 0.1, 1 and 10mmol/L of VC drug which was added with 0.1, 1, 10 and 100 mmol/L of VC drug. Another four moieties comprised the NAC group, with a final concentration of 0.01, 0.1, 1 and 10mmol/L of NAC drug which was added with 0.1, 1, 10 and 100mmol/L of NAC drug. The last group was the control group with the addition of the same volume of isotonic PBS. The RBC was preserved at (4±2)℃ until the samples were measured on 7, 14, 21, 28 and 35 d. **Results** At the prophase stage, the deformability of RBC, osmotic fragility(g/L), ATP concentration(μmol/gHb) and GSH-Px(U/L) of 1mmol/L and 10mmol / L in VC group for RBC preservation were superior to the control group: 0.290±0.022 vs 0.297±0.018 vs 0.282±0.026, 0.527±0.029 vs 0.538±0.023 vs 0.520±0.043, 4.892±0.128 vs 4.908±0.741 vs 5.000±0.068, 4.82±0.49 vs 4.74±0.52 vs 4.45±0.57, 89.24±5.76 vs 90.01±2.20 vs 75.51±16.03 ($P<0.05$). The deformability of RBC, osmotic fragility(g/L), ATP concentration(Hmol/gHb) and GSH-Px(U/L) of 1mmol / L and 10mmol / L in NAC group were: 0.284±0.023 vs 0.298±0.012 vs 0.282±0.026, 0.540±0.024 vs 0.550±0.027 vs 0.520±0.043, 0.511±0.56 vs 5.000±0.068 vs 4.45±0.57, 90.59±9.9 vs 99.06±27.8 vs 75.51±16.03 ($P<0.05$), respectively. During the terminal stage, the concentration of 1mmol/L of between the experiment groups of

VC 和 NAC 显示了显著差异于两个指标的渗透脆性(g/L)和 GSH-Px(U/L): 0.260±0.017 vs 0.257±0.027 vs 0.241±0.024, 0.507±0.019 vs 0.491±0.027 vs 0.485±0.036, 87.89±10.83 vs 86.12±8.71 vs 77.75±8.17(P<0.05)。Conclusion VC 和 NAC 在适当浓度下可以减轻红细胞的氧化应激损伤并改善储存红细胞的质量。

Key words: VC; NAC; 悬浮红细胞; 氧化应激损伤; 血液储存

机体在大量失血、贫血等低血容量的情况下,输注红细胞能够有效地为组织及器官供氧,是拯救生命的重要抢救和治疗措施。但是在红细胞在保存的过程中,会发生贮存损伤及细胞老化^[1-3];三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)生成逐渐减少,其含量与输注后红细胞的生存率有明显的相关性^[4]。氧化应激是红细胞贮存损伤的重要机制之一,大量活性氧的产生,使蛋白质及脂质发生改变,细胞膜不断发生变化,红细胞变形性降低,渗透脆性增加^[5]。谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)是人体内重要的抗氧化剂之一,能够清除体内的过氧化氢(H₂O₂)和许多有机过氧化物,在降低氧化应激损伤中起重要作用。维生素 C(VC)作为抗氧化剂已被广泛应用于血液保存^[6-7],能够减轻游离血红蛋白(FHb)产生氧化物引起的损伤^[8];N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)作为一种巯基化合物,有很强的抗氧化能力^[9-10]。有鉴于此,我们选择 VC 和 NAC 开展红细胞体外保存的研究,通过测定不同保存时间添加了 4 种浓度 VC 和 NAC 溶液的红细胞变形性、渗透脆性、ATP、GSH-Px 等指标,从红细胞的功能、能量提供及红细胞内的抗氧化酶活性的角度来探讨 VC 和 NAC 对红细胞保存质量的影响,并确立 VC 和 NAC 与 RBC 的量效关系,报道如下。

1 材料与方法

1.1 样品来源 新鲜悬浮红细胞 8 袋[400 mL/份(袋)]来自四川省德阳中心血站,分别于 2016 年 10 月 2 日采集 2 份,2016 年 10 月 25 日采集 3 份,2016 年 11 月 2 日采集 2 份全血制备而成,MAP 液抗凝、4℃保存,采集制备至实验开始相距 3 d。本实验通过中国医学科学院输血研究所医学伦理委员会审查。

1.2 仪器与试剂 血细胞计数仪(BC-3200,深圳迈瑞);全波长酶标仪(EON,美国 Bio Tek);红细胞变形仪(LBY-BX,北京普利生公司);紫外可见分光光度计(DU800,美国 Beckman Coulter);台式低温离心机(Biofuge Stratos,美国 Thermo Scientific)。ATP 检测试剂盒(批号 S0026,上海碧云天生物技术研究所);聚乙烯比咯烷酮 K30(批号 20130401,分析纯,成都科龙);NAC(批号 H15270726,上海 aladdin);抗坏血酸(VC)(批号 20120110,分析纯,成都科龙)。

1.3 不同浓度 VC 盐溶液和 NAC 盐溶液的制备 精密称量 VC

表 1 保存不同时间的不同浓度 VC 实验组和对照组红细胞 200⁻¹剪切率 EI 值比较 (n=8, $\bar{x}\pm s$)

| | 对照组 | 0.01 mmol/L VC 组 | 0.1 mmol/L VC 组 | 1 mmol/L VC 组 | 10 mmol/L VC 组 |
|------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 7 d | 0.282±0.026 | 0.297±0.012 [*] | 0.286±0.026 | 0.290±0.022 | 0.297±0.018 [△] |
| 14 d | 0.279±0.014 | 0.304±0.008 [△] | 0.297±0.011 [△] | 0.304±0.018 [△] | 0.304±0.015 [*] |
| 21 d | 0.260±0.031 | 0.283±0.010 | 0.258±0.035 | 0.277±0.021 [*] | 0.274±0.029 [△] |
| 28 d | 0.248±0.024 | 0.244±0.017 | 0.261±0.031 | 0.269±0.034 [*] | 0.227±0.021 [*] |
| 35 d | 0.241±0.024 | 0.254±0.013 | 0.253±0.025 | 0.260±0.017 [*] | 0.237±0.021 [*] |

* 与对照组相比,t 值分别为 2.822、2.905、2.521、2.893、3.540、3.742、3.653,P<0.05;△与对照组相比,t 值分别为 3.152、5.104、3.785、4.837、4.911,P<0.01

固体(17.613 g)和 NAC 固体(16.319 g),各溶于 1 L 等渗 PBS 溶液(pH 7.4)中,配置成 100 mmol/L 的 VC 和 NAC 溶液,并用等渗 PBS 逐级稀释得到 10、1、0.1 mmol/L 的 VC 和 NAC 溶液。

1.4 VC 和 NAC 盐溶液对悬浮红细胞的处理及实验分组 取新鲜悬浮红细胞 8 袋,将每袋悬浮红细胞均分为 9 份(40 mL/份)。按照红细胞体积与 VC 和 NAC 溶液 9:1,取 100、10、1、0.1 mmol/L 的 VC 和 NAC 溶液各约 4.44 mL,分别添加到其中 8 份悬浮红细胞中,使实验组 VC 盐溶液和 NAC 盐溶液的终浓度均形成 10、1、0.1、0.01 mmol/L 4 个浓度梯度,最后 1 份作为对照组则加入等体积 PBS,放入 4℃冰箱保存,分别于保存 7、14、21、28 及 35 d 测定相应指标。

1.5 添加 VC 及 NAC 盐溶液的红细胞相关指标测定

1.5.1 红细胞变性指数(elongation index, EI)测定 取各组(5~10)μL/份浓缩红细胞,加入 1 mL PVP 溶液中混匀,取 500 μL 上红细胞变形仪,测定红细胞在切变率分别为 200⁻¹、1 000⁻¹ 的 EI 值^[11]。

1.5.2 红细胞渗透脆性测定 按照文献[11]方法,计算得到 50% 时溶血时的 NaCl 浓度。

1.5.3 ATP 测定 严格按照试剂盒说明书操作。

1.5.4 GSH-Px 测定 严格按照试剂盒说明书操作。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 做统计学分析,定量数据以“均值±标准差($\bar{x}\pm s$)”表示,组间比较采用配对 t 检验,P<0.05 或<0.01 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 添加不同浓度 VC 和 NAC 盐溶液的实验组红细胞在不同保存期的 EI 变化 在 7 和 14 d,4 种浓度 VC 和 NAC 组实验组保存效果均有一定改善;在 21 和 28 d,相较于对照组,1、10 mmol/L 的 VC 和 NAC 实验组保存效果好;在 35 d,200⁻¹ 和 1 000⁻¹ 剪切率,1 mmol/L VC 和 NAC 对红细胞具有改善效果,10 mmol/L VC 和 NAC 组则对红细胞产生反作用(表 1-4)。

2.2 添加不同浓度 VC 及 NAC 盐溶液的实验组红细胞在不同保存期得渗透脆性变化 在 7 和 14 d,1 和 10 mmol/L VC 和 NAC 实验组的保存效果优于对照组(P<0.05);但是在保存 28 和 35 d,10 mmol/L VC 和 NAC 实验组红细胞的保存效果则差于对照组(P<0.05)(表 5-6)。

表 2 保存不同时间的不同浓度 NAC 实验组和对照组红细胞 200^{-1} 剪切率 EI 值比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

| | 对照组 | 0.01 mmol/L NAC 组 | 0.1 mmol/L NAC 组 | 1 mmol/L NAC 组 | 10 mmol/L NAC 组 |
|------|-------------|-------------------|------------------|----------------|-----------------|
| 7 d | 0.282±0.026 | 0.294±0.015 * | 0.290±0.025 △ | 0.284±0.023 | 0.298±0.012 * |
| 14 d | 0.279±0.014 | 0.301±0.008 * | 0.288±0.023 | 0.296±0.010 * | 0.298±0.013 * |
| 21 d | 0.260±0.031 | 0.278±0.013 | 0.272±0.027 | 0.269±0.033 * | 0.271±0.031 * |
| 28 d | 0.248±0.024 | 0.245±0.019 | 0.294±0.010 | 0.272±0.017 △ | 0.248±0.033 |
| 35 d | 0.241±0.024 | 0.245±0.016 | 0.250±0.015 | 0.257±0.027 | 0.233±0.021 * |

* 与对照组相比, t 值分别为 2.357、2.582、2.713、3.204、3.232、2.742、2.860、2.521, $P<0.05$; △ 与对照组相比, t 值分别为 3.050、4.669, $P<0.01$

表 3 不同保存时间的不同浓度 VC 实验组和对照组红细胞 1000^{-1} 剪切率 EI 值比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

| | 对照组 | 0.01 mmol/L VC 组 | 0.1 mmol/L VC 组 | 1 mmol/L VC 组 | 10 mmol/L VC 组 |
|------|-------------|------------------|-----------------|---------------|----------------|
| 7 d | 0.520±0.043 | 0.548±0.006 * | 0.521±0.046 | 0.527±0.029 * | 0.538±0.023 * |
| 14 d | 0.531±0.021 | 0.547±0.013 | 0.530±0.028 | 0.546±0.028 * | 0.558±0.012 △ |
| 21 d | 0.498±0.048 | 0.537±0.007 | 0.512±0.036 * | 0.521±0.034 * | 0.514±0.038 * |
| 28 d | 0.484±0.031 | 0.491±0.024 | 0.501±0.032 | 0.498±0.032 * | 0.469±0.022 △ |
| 35 d | 0.485±0.036 | 0.497±0.016 | 0.500±0.030 | 0.507±0.019 * | 0.447±0.025 * |

* 与对照组相比, t 值分别为 2.459、2.465、2.561、2.353、2.705、2.731、2.976、3.333、2.680、2.594, $P<0.05$; △ 与对照组相比, t 值分别为 5.729、3.667, $P<0.01$

表 4 保存不同时间的 NAC 实验组和对照组红细胞 1000^{-1} 剪切率 EI 值比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

| | 对照组 | 0.01 mmol/L NAC 组 | 0.1 mmol/L NAC 组 | 1 mmol/L NAC 组 | 10 mmol/L NAC 组 |
|------|-------------|-------------------|------------------|----------------|-----------------|
| 7 d | 0.520±0.043 | 0.534±0.024 * | 0.536±0.024 * | 0.540±0.024 * | 0.550±0.027 * |
| 14 d | 0.531±0.021 | 0.551±0.019 | 0.538±0.029 | 0.548±0.012 * | 0.557±0.012 * |
| 21 d | 0.498±0.048 | 0.531±0.013 | 0.512±0.032 | 0.514±0.039 * | 0.520±0.041 * |
| 28 d | 0.484±0.031 | 0.490±0.028 | 0.468±0.008 | 0.507±0.035 * | 0.472±0.035 * |
| 35 d | 0.485±0.036 | 0.491±0.021 | 0.500±0.028 | 0.491±0.027 | 0.467±0.034 * |

* 与对照组相比, t 值分别为 2.347、2.379、2.505、2.208、3.618、2.959、2.750、2.905、2.642、2.489、2.931, $P<0.05$

表 5 保存不同时间的不同浓度 VC 实验组和对照组渗透脆性比较 ($n=8, \bar{x} \pm s, g/L$)

| | 对照组 | 0.01 mmol/L VC 组 | 0.1 mmol/L VC 组 | 1 mmol/L VC 组 | 10 mmol/L VC 组 |
|------|-------------|------------------|-----------------|---------------|----------------|
| 7 d | 5.000±0.068 | 5.060±0.219 | 4.938±0.069 | 4.892±0.128 * | 4.908±0.741 * |
| 14 d | 5.053±0.131 | 4.981±0.157 | 4.974±0.126 | 4.916±0.501 * | 4.918±0.052 * |
| 21 d | 5.089±0.252 | 5.092±0.335 | 4.942±0.166 | 4.888±0.098 * | 4.819±0.122 |
| 28 d | 4.882±0.225 | 4.955±0.381 | 4.866±0.314 | 4.894±0.313 | 5.070±0.342 * |
| 35 d | 4.826±0.186 | 4.691±0.116 | 4.784±0.187 | 4.823±0.184 | 4.879±0.178 * |

* 与对照组相比, t 值分别为 2.456、2.572、2.526、2.414、2.924、2.526、2.565, $P<0.05$

表 6 保存不同时间的不同浓度 NAC 组和对照组渗透脆性比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

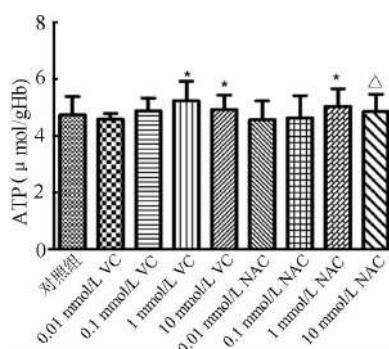
| | 对照组 | 0.01 mmol/L NAC 组 | 0.1 mmol/L NAC 组 | 1 mmol/L NAC 组 | 10 mmol/L NAC 组 |
|------|-------------|-------------------|------------------|----------------|-----------------|
| 7 d | 5.000±0.068 | 4.970±0.185 | 4.872±0.076 * | 4.901±0.343 * | 4.830±0.120 * |
| 14 d | 5.053±0.131 | 4.990±0.179 | 5.007±0.173 | 4.993±0.118 * | 4.937±0.153 * |
| 21 d | 5.089±0.252 | 4.993±0.143 | 5.136±0.268 | 4.873±0.166 * | 4.932±0.177 * |
| 28 d | 4.882±0.225 | 4.818±0.223 | 4.859±0.315 | 4.919±0.334 | 4.772±0.167 |
| 35 d | 4.826±0.186 | 4.664±0.167 | 4.795±0.230 | 4.797±0.173 | 4.864±0.181 * |

* 与对照组相比, t 值分别为 3.223、3.291、3.149、3.079、2.732、2.701、2.675、2.746, $P<0.05$

2.3 添加不同浓度 VC 及 NAC 盐溶液的实验组红细胞在不同保存期的 ATP 变化 在 7 和 14 d, 1 和 10 mmol/L 的 VC 和 NAC 实验组红细胞内 ATP 升高较对照组明显(图 1-2); 在 21 d, 1 mmol/L VC 和 NAC 实验组红细胞内 ATP 仍高于对照组($P<0.05$)(图 3-4); 直到保存末期, 1 mmol/L VC 和 NAC 实验组红细胞内 ATP 含量才与对照组相似, 而 10 mmol/L VC 和 NAC 实验组红细胞内 ATP 则明显降低($P<0.05$)

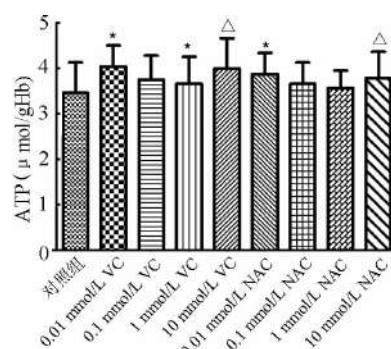
(图 5-6)。

2.4 添加不同浓度 VC 及 NAC 盐溶液的实验组红细胞在不同保存期 GSH-Px 活力变化 在保存 7、14 和 21 d, 与对照组相比, 1 mmol/L VC 组和 10 mmol/L NAC 组 GSH-Px 含量始终高于对照组($P<0.05$)(图 6-8); 而在保存 28 和 35 d, 只有 1 mmol/L VC 和 NAC 组 GSH-Px 含量仍高于对照组(图 9-10)。



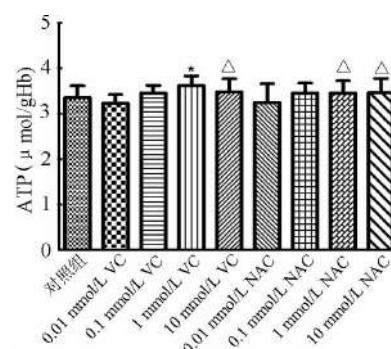
* 与对照组相比, t 值分别为 2.496、2.515、2.478, $P < 0.05$; Δ 与对照组相比, t = 3.984, $P < 0.01$

图 1 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 7 d 红细胞内 ATP 含量比较



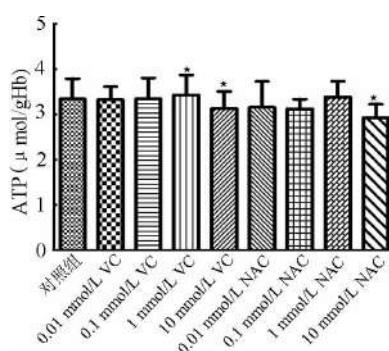
* 与对照组相比, t 值分别为 2.442、2.622、2.437, $P < 0.05$; Δ 与对照组相比, t 值分别为 5.848、3.962, $P < 0.01$

图 2 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 14 d 红细胞内 ATP 含量比较



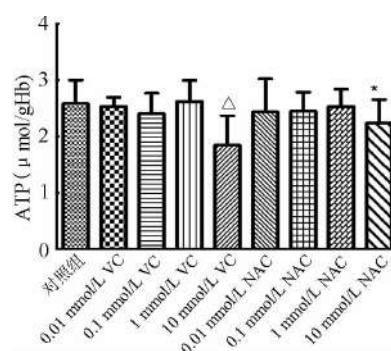
* 与对照组相比, t = 2.341, $P < 0.05$; Δ 与对照组相比, t 值分别为 4.235、4.253、3.992, $P < 0.01$

图 3 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 21 d 红细胞内 ATP 含量比较



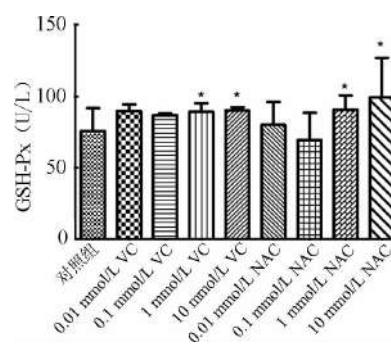
* 与对照组相比, t 值分别为 = 2.816、3.157、3.149, $P < 0.05$

图 4 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 28 d 红细胞内 ATP 含量比较



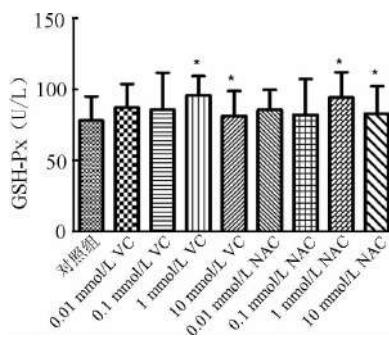
* 与对照组相比, t = 3.285, $P < 0.05$; Δ 与对照组相比, t = 3.680, $P < 0.01$

图 5 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 35 d 红细胞内 ATP 含量比较



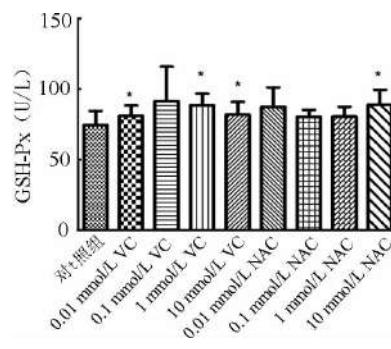
* 与对照组相比, t 值分别为 2.7、2.5、2.47、2.522, $P < 0.05$

图 6 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 7 d 红细胞 GSH-Px 活力比较



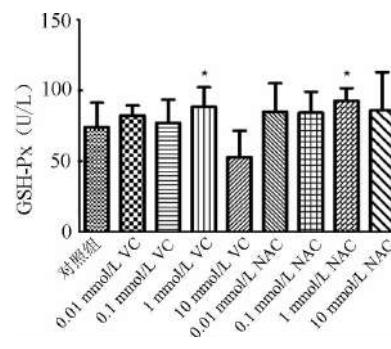
* 与对照组相比, t 值分别为 2.675、2.747、3.149、2.633, $P < 0.05$

图 7 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 14 d 红细胞 GSH-Px 活力比较



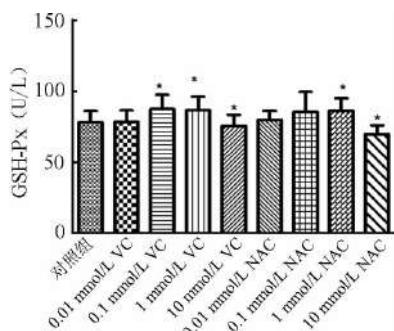
* 与对照组相比, t 值分别为 2.474、3.681、2.705、2.991, $P < 0.05$

图 8 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 21 d 红细胞 GSH-Px 活力比较



* 与对照组相比, t 值分别为 3.039、4.089, $P < 0.05$

图 9 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组保存 28 d 红细胞 GSH-Px 活力比较



*与对照组相比, t 值分别为 2.501、2.336、2.505、2.642、3.122, $P < 0.05$

图 10 不同浓度 VC 和 NAC 实验组和对照组
保存 35 d 红细胞 GSH-Px 活力比较

3 讨论

红细胞输注是临幊上常用的 1 种治疗手段,能够提高机体血液运氧能力,改善组织缺氧状态,但是红细胞在贮存过程中会发生贮存损伤^[5]。VC 和 NAC 是 2 种抗氧化剂,具有抗氧化作用,因此我们向 MAP 保存液中分别加入 VC 和 NAC,观察二者对红细胞保存质量的影响。前期所做的预试验是在红细胞中加入 10、100 mmol/L 的 VC 或 NAC 溶液,观察二者对保存红细胞的影响,发现 100 mmol/L VC 或 NAC 溶液对保存 1~5 周的红细胞均产生不利影响,因此我们参考相关研究成果^[7,12~13],设置更宽的浓度范围(0.01、0.1、1 和 10 mmol/L),并经实验证实,添加 VC 和 NAC 盐溶液对红细胞保存质量具有改善作用^[12~14]。

VC 是 1 种水溶性维生素,具有较强的还原性,在体内可作为抗氧化剂,防止自由基对人体的伤害,抑制由于细胞缩水、能量耗尽、氧化应激损伤、胞质 Ca^{2+} 浓度增高引起的类似于核细胞凋亡的红细胞自杀性死亡^[15]。NAC 是谷胱甘肽(GSH)的前体,在体内可以转化为 GSH 发挥对组织的保护作用,并能通过清除活性氧保护抗蛋白酶的功能,干扰凋亡出现后下游信号^[16]。红细胞在保存的过程中会发生保存损伤和细胞老化^[17],影响血液的流变学特性和运氧功能,且其密度增大,刚性增强,变形性和可塑性逐渐降低^[18]。ATP 是红细胞内能量的供应者,其含量下降将严重影响红细胞的正常活性和功能^[14]。我们通过对保存红细胞添加不同浓度的 VC 和 NAC 盐溶液发现,在红细胞保存 7、14 d, 1 和 10 mmol/L VC 和 NAC 对 ATP、GSH-Px、红细胞变形性及渗透脆性等指标都有明显的改善作用(表 1~6, 图 1~10)。GSH-Px 是体内重要的抗氧化剂之一,能够阻断活性氧自由基对机体的进一步损伤,它以硒代半胱氨酸(Sec)的形式发挥作用,以 GSH 为还原剂分解体内的脂质过氧化物,从而可防止细胞膜和其他生物组织免受过氧化损伤^[19]。本组红细胞在保存末期的实验数据显示,1 mmol/L VC 和 NAC 对红细胞变形及 GSH-Px 这 2 个指标有改善效果,而 10 mmol/L VC 和 NAC 在保存末期对红细胞会产生负作用(表 1~4, 图 5, 10);猜测可能是由于悬浮红细胞主要依赖于保存液维持其结构和功能,随着保存时间的延长,红细胞会发生一系列的变化,造成红细胞质量下降^[5],1 mmol/L VC 和 NAC 对保存末期红

细胞有部分改善作用,而 10 mmol/L 可能因浓度相对较高,在保存末期产生反作用,具体原因仍需进一步研究。

综上所述,保存红细胞过程中通过添加适宜浓度 VC 和 NAC 盐溶液能够提高红细胞保存质量,在本实验条件下,1 mmol/L 是 2 种盐溶液相对适宜的浓度,其适宜浓度可能在(1~10)mmol/L。由于本研究 VC 和 NAC 浓度范围较宽,我们下一步拟在(1~10)mmol/L 之间设置浓度梯度,以找出最适宜浓度;另外还可将不同抗氧化剂联用对红细胞保存做进一步研究^[13],为改善红细胞保存质量提供数据支持。

参 考 文 献

- Lion N, David C, Olivier, et al. Stored red blood cells: a changing universe waiting for its map(s). *J Proteomics*, 2010, 73(3): 374-385.
- Karon BS, van Buskirk CM, Jaben EA, et al. Temporal sequence of major biochemical events during blood bank storage of packed red blood cells. *Blood Transfus*, 2012, 10(4): 453-461.
- Almac E, Ince C. The impact of storage on red cell function in blood transfusion. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2007, 21(2): 195-208.
- 武世文, 文爱清. 红细胞储存损伤的研究进展. *中国输血杂志*, 2013, 26(6): 593-595.
- Blasi B, D'Alessandro A, Ramundo N, et al. Red blood cell storage and cell morphology. *Transfus Med*, 2012, 22(2): 90-96.
- Dawson RB, Hershey RT, Myers CS, et al. Blood preservation 35. Red cell 2,3-DPG and ATP maintained by DHA-ascorbate-phosphate. *Transfusion*, 1981, 21(2): 219-223.
- Stowell SR, Smith NH, Zimring JC, et al. Addition of ascorbic acid solution to stored murine red blood cells increases posttransfusion recovery and decreases microparticles and alloimmunization. *Transfusion*, 2013, 53(10): 2248-2257.
- Dunne J, Caron A, Menu P, et al. Ascorbate removes key precursors to oxidative damage by cell-free haemoglobin in vitro and in vivo. *Biochem J*, 2006, 399(3): 513-524.
- Chao PL, Fan SF, Chou YH, et al. N-acetylcysteine attenuates arsenite-induced oxidative injury in dorsal root ganglion explants. *Ann NY Acad Sci*, 2007, 1122(10): 276-288.
- de Andrade KQ, Moura F, dos Santos JM, et al. Oxidative stress and inflammation in hepatic diseases: therapeutic possibilities of N-acetylcysteine. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(12): 30269-30308.
- 张警丹, 王红, 钟锐, 等. 一氧化氮对保存悬浮红细胞部分功能的量效关系初步比较. *中国输血杂志*, 2015, 28(3): 271-276.
- Raval JS, Fontes J, Banerjee U, et al. Ascorbic acid improves membrane fragility and decreases haemolysis during red blood cell storage. *Transfus Med*, 2013, 2(23): 87-93.
- Pallotta V, Gevi F, D'Alessandro A, et al. Storing red blood cells with vitamin C and N-acetylcysteine prevents oxidative stress-related lesions: a metabolomics overview. *Blood Transfus*, 2014, 12(3): 376-387.
- 詹彤, 陶靖, 唐荣才, 等. 维生素 C 对人全血红细胞的抗氧化保护作用. *中国实验血液学杂志*, 2005, 13(6): 1106-1108.
- Mahmud H, Qadri SM, Foller M, et al. Inhibition of suicidal erythrocyte death by vitamin C. *Nutrition*, 2010, 26(6): 671-676.

- [16] 李毅敏,赵树仪, N-乙酰半胱氨酸的研究进展.天津药学, 2003, 15(2): 50-53.
- [17] 于青,刘嘉馨,王红,等. NO 对不同天龄红细胞保存质量影响的初步研究.中国输血杂志, 2012(4): 341-346.
- [18] Relevy H, Koshkaryev A, Manny N, et al, Blood banking-induced alteration of red blood cell flow properties. Transfusion, 2008, 48 (1): 136-146.
- [19] 王咏梅,自由基与谷胱甘肽过氧化物酶.解放军药学学报, 2005, 21(5): 369-371.

(2016-01-26 收稿, 12-23 修回)

本文编辑:蔡辉

• 论著 •

混合浓缩血小板保存期质量变化研究 *

王世春 易中梅 张强 刁荣华 王泽蓉 赵树铭[△]

(第三军医大学 西南医院 输血科 中国人民解放军重庆血站, 重庆 400038)

摘要:目的 探讨混合浓缩血小板制剂(PC)保存期质量变化。方法 对 86 例(份)(400 mL/份)新鲜全血采用白膜法制备 PC, 按相同血型汇集, 汇集后血小板数>2.7×10¹¹个/治疗量, 并经白细胞滤器系统(含混合 PC 保存袋)过滤, 于滤后 0、3、5 d 观察血小板存活率、pH、PO₂、PCO₂、GLU、Lac、HSR、聚集率及 CD62p 表达率。结果 13 份混合 PC 保存 0 和 5 d 的血小板计数(×10¹¹个)为 2.88±0.28 vs 2.66±0.27($P>0.05$), 保存 5 d 的 PC 血小板存活率达 89.46%; 0 和 3 d 的 GLU(mmol/L)为 18.75±0.47 vs 17.52±0.54, Lac(mmol/L)为 4.30±0.46 vs 7.59±1.22, CD62p(%)为 10.90±5.93 vs 32.74±8.12 和 AGG(%)为 91.38±3.10 vs 52.42±21.68($P<0.01$); 0 和 5 d 的 pH 为 7.01±0.13 vs 6.90±0.13($P>0.05$); 3 和 5 d 的 AGG(%)为 52.42±21.68 vs 36.29±27.46($P>0.05$)。结论 混合 PC 保存袋保存的混合 PC 质量在保存期存在下降趋势, 但在保存 5 d 仍符合国家标准, 可以供临床输用。

关键词:浓缩血小板; 血小板保存; 血小板质量; 临床输血**中图分类号:**R446.1 R331.1¹43 R457.1¹2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0027-03

Study on the quantity of pooled platelet concentrates during storage period WANG Shichun, YI Zhongmei, ZHANG Qiang, DIAO Ronghua, WANG Zerong, ZHAO Shuming. Department of Blood Transfusion, First Affiliated Hospital, Chongqing 400038, China. Corresponding author: ZHAO Shuming

Abstract: **Objective** To explore the quality of pooled platelet concentrates during storage period. **Methods** In a routine method, platelets of identical blood type were pooled from buffy coat until the total platelet count was up to 2.7×10¹¹ per therapeutic dose, and then leukocytes were filtrated with the filter within 24 hrs after blood collection. All leuko-reduced pooled platelets were kept at 22 °C in centrifuge for 5 days. The following parameters, pH, pO₂, pCO₂, GLU, Lac, HSR, AGG and CD62p, were observed in all pooled platelets (a total number was 13) on d0, d3 and d5. **Results** Platelets counts(×10¹¹) showed no significant difference at the end of storage (0 d; 2.88±0.28 vs 5d; 2.66±0.27). The platelet's survival rate was 89.46% on 5 d. Compared to 0 d, GLU(mmol/L) (18.75±0.47 vs 17.52±0.54), Lac(mmol/L) (4.30±0.46 vs 7.59±1.22), CD62P (%) (10.90±5.93 vs 32.74±8.12) and AGG(%) (91.38±3.10 vs 52.42±21.68) were significant different ($P<0.01$) on 3 d. After 5 days, pH (0 d; 7.01±0.13 vs 5 d; 6.90±0.13) and AGG(%) (3 d; 52.42±21.68 vs 5 d; 36.29±27.46) declined markedly. **Conclusion** Pooled platelet concentrates stored in the storage bag with leukocyte filter within 5 days can be used for transfusion.

Key words:pooled platelet concentrates; blood storage; platelet quantity; clinical blood transfusion

血小板制剂对治疗出血性疾病有重要作用, 目前主要有 2 种制备方式:1)由血细胞分离机分离全血所得, 即单采血小板(single donor platelets, SDP); 2)通过人工分离全血汇集而得, 即浓缩血小板(platelet concentrates, PC)。现阶段我

国临床使用的血小板制剂几乎均为 SDP, 尽管其来源单一, 发生同种免疫和输血传播传染病风险较小, 但制备过程制约因素较多, 如固定专用的单采设备、指定的献血场所、较长的采集过程(全程需 1~2 h), 都可能影响 SDP 的临床供应量^[1-2]。相反, 浓缩 PC 可较容易地从血站每天常规手工采集的全血获得, 且不影响其他血液成分的分离, 真正实现一血多用、节约血源的目的, 具备无需专用设备采集指标、供应及时等优点。由于单袋(200~400 mL)分离出的血小板含量

不足以完成 1 次治疗,需要多人份混合使用,但目前混合 PC 保存袋尚未在临床推广使用,因此其保存期仅为 24 h,否则将过期报废。为了解混合 PC 是否可以像 SDP 一样保存 5 d 仍可满足临床输注要求,我们对保存 5 d 期间不同时间的混合 PC 质量做了监测,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 大容量低温离心机(J6-MC centrifuge, 美国贝克曼);全自动血细胞计数仪(KX-21N, 日本 Sysmex);无菌接驳机(TSCD-II, 日本泰尔茂);分光光度计(UNIC7200, 上海尤尼柯);电子恒温水箱(HH.W21.Cu600, 上海康路仪器设备有限公司);血小板聚集仪(Aggram, 美国海伦娜);低速离心机(KDC-40, 安徽中科中佳);血气分析仪(ABL715, 丹麦雷度);生化培养箱(SPX-150, 长沙跃进)。肾上腺素(批号 5367)、ADP(批号 1189)(美国海伦娜);CD62p-PE(批号 4197881)、CD61-FITC(批号 5079516)、IgG-PE(批号 5225509)(美国 BD);巯基乙酸酯培养基(Th 肉汤培养基)(批号 15F1001, 重庆庞统公司)。一次性使用塑料血袋(六联袋)(400 mL, 批号 151030, 四川南格尔);一次性使用去白滤器(含混合 PC 保存袋)(Q121-00931, 江苏高力特)。

1.2 血小板来源 从本站 2016 年 1 月 29 日~2 月 22 日在重庆市街头采集的符合国家《献血者健康检查标准》的无偿献血者全血中,随机抽取 86 份(400 mL/份)于室温放置,采集当天制备 PC。

1.3 白膜法制备 PC 制备程序按照《血站技术操作规程》执行:将 400 mL 全血于大容量低温离心机中离心,第 1 次离心按 22℃、1 875 g、15 min,转移血浆及红细胞,收集白膜,置振摇箱 22℃、60 次/min(振幅 5 cm)振摇过夜;次日上午第 2 次离心按 22℃、277 g、6 min,收集血小板,并按照《全血与成分血质量标准》筛选 PC,以同血型汇集,再经血小板用白细胞滤器滤除白细胞(简称滤白),为保证每份混合浓缩血小板

PC 滤白后血小板数 $>2.5 \times 10^{11}$ 个,要求汇集前每份混合 PC 血小板数 $>2.7 \times 10^{11}$ 个。本次实验组由 86(人)份 400 mL 全血制备得到的血小板共汇集 13 份混合 PC,容量为 (421.05 ± 67.90) mL/份。

1.4 PC 中血细胞计数 采用全自动血细胞计数仪计数。

1.5 血小板低渗休克反应(hypotonic shock response, HSR) 相对变化率测定 用分光光度计测定 PC 610 nm 处血小板的吸光度^[3]。

1.6 血小板最大聚集率(aggregation, AGG)测定 用贫血小板血浆(platelet poor plasma, PPP)调整血小板浓度为 $300 \times 10^9/L$ 左右,250 μL PPP 调零,按 9:1 加入富血小板血浆 PRP(platelet rich plasma, PRP)225 μL 和诱导剂 25 μL[二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)(12.5 μmol/L)与肾上腺素 EPN(epinephrine, EPN)(750 μmol/L)的混合物]至检测管中,血小板聚集仪测定 PC 的 AGG。

1.7 PC 代谢指标检测 留取 PC 标本 500 μL/份,血气分析仪检测代谢情况:主要观察 pH、PO₂、PCO₂、GLU、Lac 指标。

1.8 血小板活化检测 采用流式细胞仪检测 CD62p 表达量:将 PC 用 PPP 调至 Plt 为 $200 \times 10^9/L$,设空白管(5 μL 稀释后的 PC+5 μL IgG-PE)、对照管(5 μL 稀释后的 PC+5 μL CD61-FITC)和待测管(5 μL 稀释后的 PC+5 μL CD62p-PE),各管用 400 μL 含 1% 多聚甲醛的 PBS 溶液(pH7.38)固定待检^[4]。

1.9 细菌培养 从各组(份)相同血型血小板汇集后 PC 取标本 2 mL/份,加至 Th 肉汤培养基管内进行细菌培养。

1.10 统计学分析 采用 SPSS17.0 统计软件,定量数据以“均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 或 <0.01 为差异有统计学意义。

2 结果(表 1)

表 1 PC 保存(滤白)前后的物理及生化指标变化情况

(n=13, $\bar{x} \pm s$)

| | 滤前(采集当天) | 滤后 0 d | 滤后 3 d | 滤后 5 d |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------------------|
| 血小板数($\times 10^{11}$ 个) | 3.17 ± 0.36 | 2.88 ± 0.28 | 2.70 ± 0.29 | 2.66 ± 0.27 |
| 白细胞残留量($\times 10^6$ 个) | 98.24 ± 7.40 | 0.08 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 |
| 血小板存活率(%) | - | - | 93.75 ± 4.39 | 89.46 ± 3.62 |
| pH | 7.04 ± 0.05 | 7.11 ± 0.11 | 7.01 ± 0.13 | $6.90 \pm 0.13^\Delta$ |
| PCO ₂ (mmHg) | 51.04 ± 4.62 | 43.76 ± 9.06 | 40.44 ± 8.48 | 37.39 ± 11.03 |
| PO ₂ (mmHg) | 112.65 ± 7.98 | 134.54 ± 10.44 | 138.11 ± 9.16 | 133.88 ± 7.00 |
| GLU (mmol/L) | 18.73 ± 0.44 | 18.75 ± 0.47 | $17.52 \pm 0.54^*$ | $15.98 \pm 1.84^\Delta$ |
| Lac (mmol/L) | 4.29 ± 0.46 | 4.30 ± 0.46 | $7.59 \pm 1.22^*$ | $10.53 \pm 3.43^\Delta$ |
| CD62p 阳性比率(%) | 14.70 ± 5.79 | 10.90 ± 5.93 | $32.74 \pm 8.12^*$ | $45.03 \pm 20.27^\Delta$ |
| HSR(%) | 67.03 ± 11.60 | 77.34 ± 8.46 | 77.10 ± 11.43 | 75.43 ± 9.36 |
| AGG(%) | 88.63 ± 5.23 | 91.38 ± 3.10 | $52.42 \pm 21.68^*$ | $36.29 \pm 27.46^{\Delta\#}$ |
| 细菌培养 | 无菌生长 | 无菌生长 | 无菌生长 | 无菌生长 |

* 与 0 d 比较, t 值分别为 5.70、-8.95、-7.31、6.45, $P < 0.01$; Δ 与 0 d 比较, t 值分别为 4.06、4.36、-5.24、-4.45, 11.67 , $P < 0.01$; # 与 3 d 比较, $t=2.47$, $P < 0.05$

3 讨论

在上世纪 90 年代,国内外开始 PC 的制备及临床供应^[5-6]。随着医疗技术的发展和临床业务范围的拓宽,临床血小板需求量日益加大,同时伴随血细胞分离机的推广使

用,PC 曾一时被 SDP 替代,但随着人们对手工血小板的进一步认识,PC 输注遂成为临床输血的重要内容。2013 年,法国临床使用混合 PC 比率达 51.6%,德国为 38.5%,瑞士为 35.0%,英国为 19.3(2012 年为 14.7%)^[7]。国外普遍的共识是,混合 PC 对临床输血是必不可缺的,但也会保留一部分

(40%) SDP 供特定患者,尤其是需要 HLA/HPA 配型的患者使用。而国内在血细胞分离机普及前,临床应用的血小板绝大多数为手工分离的血小板,但随着各地血站血细胞分离机的普及,供应临床的大部分血小板制剂都换成了 SDP,PC 供应量逐渐萎缩甚至取消^[8]。但随着国家对混合 PC 的质量有了明确要求^[9]和血源的紧缺,全血分离而来的 PC 再次受到重视。

由于血小板离体后经采集,制备,贮存会发生活化、凋亡,因此随着保存时间的延长血小板数及其功能存在下降趋势^[10]。对于混合 PC,虽然国家标准没有明确要求应滤白,并像 SDP 一样保存期为 5 d,美国等国家已开发出混合长期保存(加入血小板添加液,并经病毒灭活处理,汇集保存 5 d)的血袋系统,我们则对国产 PC 保存袋保存血小板的质量做了评价。本组实验数据显示,混合 PC 滤白后的白细胞残留量符合去白细胞 SDP 质量要求($<5 \times 10^6$ 个/袋)(表 1),保存 5 d 时的血小板数量较滤白及保存前变化甚小($P>0.05$),仍可达到单采血小板 1 个治疗量细胞数量^[9]。我们认为只要采用合适的专用保存袋,并在混合开始时使血小板数 $>3.0 \times 10^{11}$ 个,即可使混合 PC 经过滤白处理后在保存期内的血小板数 $>2.5 \times 10^{11}$ 个,符合国家对 SDP 的质量要求。混合 PC 在保存过程中代谢指标 pH、GLU、Lac 变化明显,但仍在国家标准要求之内;形变能力基本保持不变;同时也印证了血小板活化指标 CD62p 和 AGG 随着保存时间延长变化明显,CD62p 呈上升、AGG 呈下降趋势^[11]($P<0.01$)(表 1)。

迄今已有大量研究对比了混合 PC 与 SDP 的输注疗效及安全性,普遍认为二者输注后均可提高患者外周血血小板数,24 h 血小板增加值(corrected count increment, CCI) ($P>0.05$)^[12,13]。在 1 项对混合 PC 输注安全性的研究中,Daurat 等^[14]比较了法国 23 个地区 2009–2011 年 SDP 与混合 PC 的输注不良反应率:SDP 的输注不良反应率明显高于 PC [(6 244 vs 2 469)/1 000 000, $P<0.01$],严重不良反应事件及危及生命事件也高[(241 vs 131)/1 000 000, $P<0.01$, (182 vs 121)/1 000 000, $P<0.05$],死亡率二者相当[(15 vs 6)/1 000 000, $P>0.05$]。还有研究者对 SDP 及混合 PC 病原体感染风险做了对比分析:混合 PC(5 人份)的细菌污染风险是 SDP 的 5.6 倍,但二者的输血相关急性肺损伤(transfusion related acute lung injury, TRALI) 的发生率无明显变化($P>0.05$)^[15]。但 Thiele 等^[16]认为输注混合 PC 带来的风险是否增加应根据计算模型来计算,而不能简单地认为来自多个献血者就会带来更高的感染风险;因此建议应结合患者输注的血液类型及先后顺序、假设只输注单采血小板输注的预估风险值,以及优先输注混合 PC 带来的风险值来计算,计算公式:输注混合 PC 的风险=(优先输注混合 PC 带来的风险值-假设只输注单采血小板的预估风险值)/假设只输注单采血小板的预估风险值×100,由此得出的结果显示输注混合 PC 增加的风险在 44% 左右,远低于之前报道的 300% – 500%^[17]。

总之,目前国家已对混合 PC 做了质量要求,通过上述体

外质量评价,我们认为混合 PC 经专用保存袋在保存 5 d 其质量仍满足国家标准有关对血小板制剂用于临床输注的要求;结合其来源方便,有利于合理、充分利用血液资源,操作制备简便等特点,完全可以作为常规血液制剂供临床使用。

参 考 文 献

- [1] 宁群杰. 混合浓缩血小板的临床应用. 河南医学研究, 2013, 22(6): 885-886.
- [2] 武银花. 浅谈用白膜法分离, 汇集, 白细胞过滤制备手工血小板的认识. 甘肃医药, 2014, 33(4): 292-294.
- [3] 国家食品药品监督管理局. YY0329-2009_一次性使用去白细胞滤器.2009-06-16.
- [4] 王红, 雷宇, 钟锐, 等. 滤除白细胞对血小板功能影响的初步研究. 中国输血杂志, 2010, 23(S):6.
- [5] Höglund CF, Berséus O, Eriksson L, et al. Buffy-coat-derived platelet concentrates: Swedish experience. Transfus Sci, 1997, 18(1): 3-13
- [6] Pacifici L, Casella F, Maggiore C. Platelet rich plasma (PRP): potentialities and techniques of extraction. Minerva Stomatol, 2001, 51(7-8): 341-350.
- [7] Berger K, Schopohl D, Wittmann G, et al. Blood product supply in Germany: the impact of apheresis and pooled platelet concentrates. Transfus Med Hemother, 2016, 43(6):389-394.
- [8] 赵树铭. 血小板的制备及临床应用研究进展. 中国输血杂志, 2008, 21(9): 728-731.
- [9] 中华人民共和国国家标准. GB18469-2012 全血及成分血质量要求. 北京:中国标准出版社, 2012:9-10.
- [10] Mittal K, Kaur R. Platelet storage lesion: an update. Asian J Transfus Sci, 2015, 9(1):1-3.
- [11] 袁国平. 单采血小板的储存时间与 CD62p 的相关性研究. 四川医学, 2015, 36(3): 418-420.
- [12] 陈婷婷, 潘艳莎, 贾苍松. 机器单采与手工分离浓缩血小板制品输注疗效对比观察. 中国实用儿科杂志, 2014, 29(4): 304-307.
- [13] 段本荣. 单采血小板与手工分离血小板质量及输注效果的对比研究. 中国医药指南, 2015, 13(25):154.
- [14] Daurat A, Roger C, Gris JC, et al. Apheresis platelets are more frequently associated with adverse reactions than pooled platelets both in recipients and in donors: a study from French hemovigilance data. Transfusion, 2016, 56(6):1295-1303.
- [15] Vamvakas EC. Commentary: relative safety of pooled whole blood-derived versus single-donor (apheresis) platelets in the United States: a systematic review of disparate risks. Transfusion, 2009, 49(12): 2743-2758.
- [16] Thiele T, Heddle N, Greinacher A. Donor exposures in recipients of pooled platelet concentrates. N Engl J Med, 2013, 368(5): 487-489.
- [17] Dumont LJ, Szczepiorkowski ZM. Pooled platelet concentrates or apheresis platelets? N Engl J Med, 2013, 368(19):1848-1849.

(2016-06-17 收稿,2017-01-21 修回)

本文编辑:蔡辉

· 论著 ·

载血小板复合生长因子明胶缓释微球制备及其体外缓释作用研究

王玲^{1,2} 单桂秋^{1,2△} 张卫³ 马静³ 施琳颖² 魏淑珍²

(1. 广州医科大学 研究生学院, 广东 广州 510010; 2. 广州军区广州总医院 输血科; 3. 南方医科大学)

摘要: 目的 制备载血小板复合生长因子明胶缓释微球, 观察其一般特性, 检测其体外缓释效果。方法 以明胶为原料, 戊二醛为交联剂, 采用改良的乳化冷凝聚合法制备明胶微球, 以微球粒径为参考指标, 通过单因素实验对明胶微球的制备条件进行优化。用光学显微镜、扫描电镜(SEM)对其大小结构形貌等一般特性进行表征; 以血管内皮生长因子(vascular epithelial growth factor, VEGF)的含量为代表, 酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测其含量, 计算微球吸附生长因子率、载生长因子量, 测定体外缓释效果。**结果** 当明胶溶液浓度为 15%、Span8 加入量为 1.5 mL, 搅拌速度为(750~855)r/min 时可获得最优的明胶微球制备方案, 获得的明胶微球平均粒径为 $15.95 \pm 3.79 \mu\text{m}$, 其中 7~20.5 μm 的微球占 88.23%。制备的 PG 上清中 VEGF 的含量为 $(694.45 \pm 1.13) \text{ pg/mL}$, 微球吸附生长因子率为 87.7%, 载 VEGF 量为 6.09 pg/mg, 体外缓释 7 d 累计释放量占总载药率的 75.73%。**结论** 制备的明胶缓释微球外观圆整, 粒径均匀, 分散度良好, 吸附生长因子率、载生长因子量及体外缓释效果良好, 初步实现了载血小板复合生长因子明胶缓释微球冻干制品的研制。

关键词: 富血小板血浆; 复合生长因子; 明胶微球; 缓释

中图分类号: R457.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)1-0030-04

Study on preparing gelatin microspheres which carry and release platelet compound growth factors and examining their releasing effect in vitro WANG Ling^{1,2}, SHAN Guiqiu^{1,2}, ZHANG Wei³, MA Jing³, SHI Linying², WEI Shuzhen². 1. Guangzhou Medical College, Guangzhou 510010, China; 2. Blood Bank, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command; 3. Southern Medical University. Corresponding author: SHAN Guiqiu

Abstract: Objective To prepare gelatin microspheres which carry composite growth factors that form platelet-rich plasma and slow release them, to observe the general characteristics and to examine the releasing effect in vitro. **Methods** Gelatin was used as raw materials and glutaraldehyde was used as crosslinking agent. A modified emulsion cold condensation method was used to prepare gelatin microspheres. With the size of the microspheres as the reference, the preparation conditions of gelatin microspheres were optimized by single factor experiments. Its general characteristics were determined with optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM), such as their size, structure and morphology. The levels of VEGF was used as representative. The content of growth factor was tested with ELISA kit. The adsorption rate of growth factor and levels of loading growth factor were estimated, and the slow releasing effect in vitro was evaluated. **Results** When the concentration of gelatin solution approached 15%, the dose of Span8 was 1.5 mL, stirring speed was 750~855 r/min, the optimized gelatin microspheres preparation program was formed. The average particle size of gelatin microspheres was $15.95 \pm 3.79 \mu\text{m}$. The microspheres within 7~20.5 μm accounted for 88.23%. The concentration of VEGF in the prepared supernatant of PG was $694.45 \pm 1.13 \text{ pg/mL}$. The microsphere adsorption of growth factor was 87.7%. The amount of loading VEGF was 6.09 pg/mg, In seven days, a total of sustained release in vitro was 75.73%. **Conclusion** The general characteristics of gelatin microspheres are satisfactory. The growth factor adsorption rate, the amount of growth factor content and the releasing effect in vitro of prepared microspheres are ideal. The initial development of freeze-dried gelatin microspheres products which carry PRP growth factor mixture followed by slow release them is realized.

Key words: platelet-rich plasma (PRP); composite growth factor; slow release; gelatin microspheres

慢性难愈合创面是指一类与创伤部位和宿主有关的创面, 在期望的时间内不能正常愈合^[1]。近年来, 因老年性疾病所引起的如糖尿病足溃疡、长期卧床导致的压迫性溃疡以及下肢循环障碍导致的血管性溃疡等慢性创面的发病率日

益趋高, 其临床治疗已经成为现代工业化社会和老龄化社会所面临的重要医疗负担。富血小板血浆(platelet rich in plasma, PRP)因其在创伤修复领域^[2-4]的出色表现被人们所关注, PRP 中加入凝血酶和钙离子后形成血小板凝胶(PG)。然而, 传统 PG 降解快, 支架不稳定; 生长因子半衰期短、易变性、易酶解, 在体内应用时局部扩散快、降解快, 从而导致其有效浓度下降, 有效作用时间缩短。明胶是一种制备微球的良好的天然聚合物材料, 以其制备的微球具有无毒, 活性官

能团丰富,黏附性、靶向性、生物相容性好,可生物降解,降解产物不引起组织炎症反应^[5]等优点。由于明胶自身溶胶-凝胶特性,明胶微球还可作为制备其他材料微球的模板,但目前国内尚无成熟的明胶微球制品。我们将 PRP 与明胶联合,制备缓释微球,以期有效地应用 PG 中的复合生长因子,使其能在局部达到缓慢释放和长效作用的效果,并保持较持久的生物活性,从而更好地促进组织再生和创伤愈合。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 固体明胶(Sigma-Aldrich, G7041-500G, 1002047083);液体石蜡(化学纯,山东利尔康医疗科技股份有限公司,450 mL, 141119);Span 80(化学纯,天津化学试剂厂,500 mL, 20150107);25%戊二醛(化学纯,国药集团化学试剂有限公司,100 mL, 20150617);异丙醇(分析纯,广州化学试剂厂,500 mL, 20150910-2);丙酮(分析纯,广州化学试剂厂,500 mL, 20150209);石油醚(分析纯,天津市百世化工有限公司,500 mL, GB/T 15894-2008);Human VEGF ELISA Kit(96 well/Kit Raybiotech, 1223150196);凝血酶冻干粉(湖南一格制药,500 U/瓶,20151012);AIRTECH 生物安全柜(广州市苏泰空调净化设备有限公司);SHZ-B 水浴两用振荡箱(上海悦丰公司);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);溶剂过滤器(滤头孔径 10 μm)及隔膜真空泵 GM-0.33(天津市津腾实验设备有限公司);精密电子天平(HANG PING JA2003);TCH 纯水机(TCH-RO/20 天创净水);DHP-420 电热恒温培养箱(常州科迈实验仪器有限公司);全自动酶标仪(Uranus AE280 深圳爱康)。

1.2 载血小板复合生长因子明胶微球的制备

1.2.1 空白明胶微球的制备 参考国内外相关文献^[6-11]以及 Arshady^[12]提出的公式: $d = (K \cdot Dr \cdot R \cdot Va \cdot Y) / (Ds \cdot N \cdot Vo \cdot Cc)$ (d:微球直径;Dr:搅拌槽直径;R:水/油体积比;Va:水相粘度;Y:界面张力;Ds:搅拌桨直径;N:搅拌速度;Vo:油相粘度;Cc:乳化剂浓度),通过单因素实验获得制备明胶微球的最优方案如下:用电子天平精确称量 3.0 g 固体明胶,溶于 20 mL 50℃ 蒸馏水中,搅拌溶解,配成 15% 的明胶溶液,置于 50℃ 水浴箱中待用。向三口瓶中倒入 100 mL 液体石蜡,再加入 1.5 mL Span 80,搅拌均匀后置 50℃ 恒温磁力加热搅拌器中继续搅拌 10 min,将搅拌器转速调至(750~825) r/min,向三口瓶中滴加配好的明胶溶液,边搅拌边滴加,乳化 10 min,形成油包水型乳剂,然后快速转入到冰水浴中,使温度迅速降至 4℃ 左右,维持 4℃ 条件继续搅拌 15 min 后,加入 25% 戊二醛 0.25 mL 预固化 5 min,加入 100 mL 25% 戊二醛,4℃ 冰箱放置 24 h。24 h 后取出倒掉上清,加入 100 mL 异丙醇脱水 2 h。用丙酮、异丙醇、石油醚交替洗 3 次,用抽滤机抽滤后,置 60℃ 干燥箱中干燥,即获得淡黄色粉末状的明胶微球。用 20 μm 孔径筛筛选后,装瓶储存备用。

1.2.2 微球的粒径、均匀度、分散度等外观形态检测 将适量微球置于载玻片上,光学显微镜及扫描电镜下观察其粒径、外形、均匀度、分散度等并拍照记录,同时测量不同光学显微镜视野下 500 个微球的直径,计算出微球的平均粒径。

微球平均粒径的计算公式:平均粒径 = $(n_1 d_1 + n_2 d_2 + \dots + n_n d_n) / (n_1 + n_2 + \dots + n_n)$ (注:上式中 $n_1, n_2 \dots n_n$ 为微球个数; $d_1, d_2 \dots d_n$ 为微球直径)。

1.2.3 空白明胶微球分装消毒 将明胶微球分装到 1.5 mL EP 管中,每管 10 mg,经 1 KGy 60Coγ 照射 30 min 消毒备用。

1.2.4 PG 上清的制备 抽取 8 人份青年志愿者的 O 型静脉全血各 20 mL,用 2 步离心法制备血小板计数为 $1019 \times 10^9 / \text{mL}$ 的 PRP(第一步离心:1 500 r/min,10 min;第二步离心:3 000 r/min,20 min)。PRP 与血小板激活剂按体积比 10:1 混合(激活剂为含有 100 U/mL 凝血酶的 10% 葡萄糖酸钙溶液)后,置 37℃ 水浴箱中水浴 30 min,离心取 PG 上清即获得所需的血小板复合生长因子,将 PG 上清置 -80℃ 超低温冰箱保存备用。

1.2.5 明胶微球负载血小板复合生长因子 分别将 100 μL PG 上清加到装有 10 mg 明胶微球的 EP 管中,混匀后置 4℃、pH 7.4 条件下充分浸润膨胀 24 h 后将负载 PG 上清的微球冷冻干燥,储存备用。

1.3 用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测 PG 上清中 VEGF 含量,微球吸附生长因子率,载 VEGF 量及体外缓释效果

1.3.1 样品制备 1 取 3 个装有空白微球的 EP 管,向每个 EP 管中分别加入 100 μL 的 PG 上清,4℃、pH 7.4 条件下充分浸润膨胀 24 h 后,以 8 090 r/min 离心 15 min,吸出全部上清,向 3 个 EP 管中分别加入 200 μL PBS 混匀后以 8 090 r/min 离心 5 min,吸出全部上清,重复洗 3 次,标记每次取出的上清,置 -80℃ 超低温冰箱保存待测。

1.3.2 样品制备 2 取 7 个装有冻干载血小板复合生长因子明胶微球的 EP 管,向每个 EP 管中各加入 100 μL 的 PBS;充分混匀后,将 7 个 EP 管置 4℃、pH 7.4 条件下充分浸润膨胀 24 h 后,向每个 EP 管中分别加入 700 μL 的 PBS,充分混匀后,放入 37℃ 水浴振荡箱中水浴振荡(100 r/min),分别于 d1, d2, d3, d4, d5, d6, d7 同一时间点取 1 个 EP 管以 1 500 r/min 离心 15 min,每次取上清液 300 μL,标记后置 -80℃ 超低温冰箱保存待测。

1.3.3 用 ELISA 试剂盒检测 2 组 1~7 d 标记收集的样品,微球未吸附的生长因子上清样品以及 PG 上清中 VEGF 的含量,计算微球缓释率,绘制体外缓释曲线。

1.3.4 计算微球的吸附率和载生长因子率^[13] 计算方法如下:

$$\text{吸附率} = (\text{加入生长因子总量} - \text{上清液中生长因子总量}) / \text{加入生长因子总量} \times 100\%$$

$$\text{载生长因子率} (\text{pg/mg}) = (\text{加入生长因子总量} - \text{上清液中生长因子总量}) / \text{微球总质量}$$

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件对微球粒径分布进行分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 微球的一般特性 光学显微镜及扫描电镜(SEM)下观察到制备的明胶微球呈圆球体,表面光滑,粒径均匀,分散度良好(图 1)。SEM 下可看到微球的微孔结构(图 2)。经统计分析,微球粒径 88.23% 分布于 7~20.5 μm 范围内,平均粒

径为 $(15.95\pm3.79)\mu\text{m}$ (图3)。冻干粉剂为白色疏松粉末,无塌陷及萎缩现象。

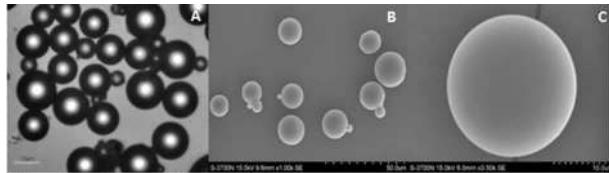


图1 微球光学显微镜图片与扫描电镜图片

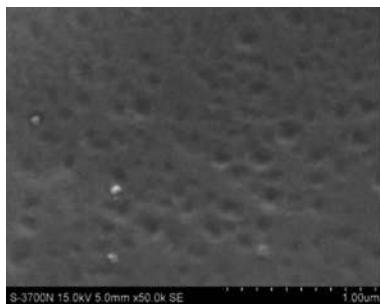


图2 微球在扫描电镜下可看到微孔结构

表1 ELISA检测缓释结果($\bar{x}\pm s$)

| | d1 | d2 | d3 | d4 | d5 | d6 | d7 | PG上清 |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| VEGF浓度(pg/mL) | 222.91 ± 1.26 | 298.37 ± 0.91 | 352.58 ± 0.67 | 401.26 ± 0.97 | 442.03 ± 0.25 | 474.45 ± 0.83 | 525.90 ± 0.84 | 694.45 ± 1.13 |
| 缓释百分比(%) | 32.10 | 42.96 | 50.77 | 57.78 | 63.65 | 68.32 | 75.73 | |

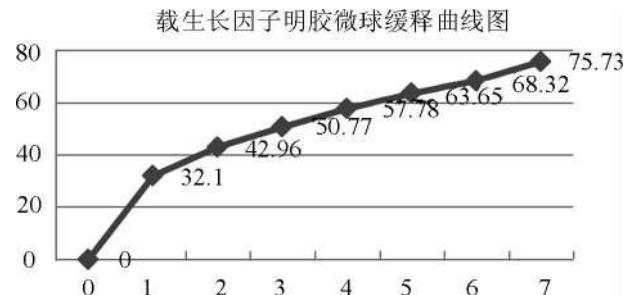


图4 载生长因子明胶微球体外缓释7 d曲线

3 讨论

PG释放的生长因子随体外保存时间的延长,其中的部分生长因子浓度降低,相应的生物活性明显下降^[14],说明生长因子不稳定、易失活是影响作用效果的主要因素。Kawai等^[15]经研究也指出,生长因子半衰期短,稳定性及生物膜通透性差。生长因子应用于体内时,体内局部体液环境复杂,如蛋白酶降解、组织细胞吞噬等,更会影响其活性及作用。此外,血小板激活后短时间释放大部分生长因子,使局部含有高浓度的生长因子,然而高浓度的生长因子不能短时间内被组织有效利用,部分随体液扩散。明胶是一种制备微球包裹生长因子的理想天然生物材料^[16]。其由氨基酸与肽类交联形成的直链聚合物,能进行多种表面修饰和反应,且含有氨基酸生物活性短肽,可与细胞表面受体结合,有利于细胞表面黏附分子识别^[17]。明胶分子溶于水后伸展为纤维状,在冷冻脱水条件下卷曲,并由多个分子凝聚成球状微粒;在固化剂(戊二醛)的作用下明胶分子形成稳定的三维网状结构^[18],本文研究将血小板复合生长因子与明胶联合制备缓释微球,其基本原理是生长因子为多肽结构,其与明胶分子之间有一定的亲和力,明胶微球膨胀吸附并包裹生长因

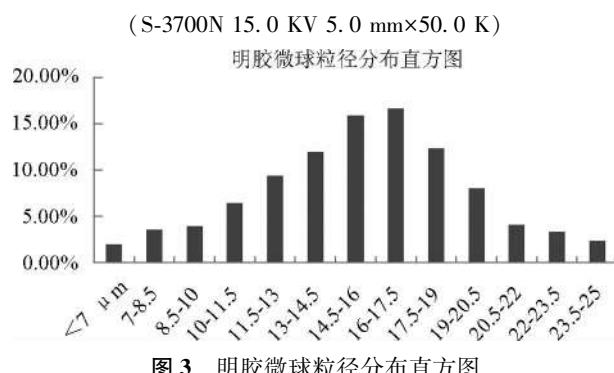


图3 明胶微球粒径分布直方图

2.2 VEGF含量、微球的吸附VEGF率与载VEGF生长因子率及体外缓释曲线 血小板计数为 $1000\times10^9/\text{mL}$ 的PG上清中VEGF含量为 $(694.45\pm1.13)\text{pg/mL}$,血小板复合生长因子微球的吸附VEGF率为87.7%,载VEGF生长因子率为 6.09 pg/mg ,7d累计释放率为75.73%,体外缓释曲线如下(表1、图4)。

子^[19],保证了微球的吸附生长因子率和载生长因子率;随着明胶微球的降解,实现生长因子在体内的缓慢释放^[17,20];在冻干过程中,明胶可以取代水与多肽形成氢键,稳定多肽的天然构象,从而保护因子活性^[15,21]。

本文对明胶微球制备及其体外缓释作用进行研究。制备的明胶缓释微球吸附生长因子率、载生长因子量及体外缓释效果良好,初步实现了载血小板复合生长因子明胶缓释微球冻干制品的研制。以VEGF含量为代表来评价微球缓释效果,是因为血管内皮细胞生长因子(VEGF)又称促血管因子或血管通透因子,能特异性结合血管内皮细胞表面受体,具有促进血管内皮细胞增殖和迁移、刺激血管生成、延长血管内皮细胞寿命、提高血管通透性等生物学作用。我们将应用HUVECs进行促细胞增殖实验,缓释效果实验和促细胞增殖实验的结果可互相验证。然而本研究仍有很多不足之处,部分条件有待进一步优化。如:仅检测了其中VEGF含量,而未检测PDGF-BB、TGF-β1、EGF、bFGF等其它生长因子含量,有局限性;制备的缓释微球载生长因子量相对偏低,下一步研究时可适当提高PRP中血小板含量,适当延长PRP激活时间,从而提高PG上清中生长因子含量^[22],进而提高微球载生长因子量。

参 考 文 献

- [1] Ongena K, Phillips TJ, Park HY. Level of fibronectin mRNA is markedly increased in human chronic wounds. Dermatol Surg, 2000, 26: 447-451.
- [2] 万芸,李文芳.富血小板血浆对组织损伤修复的研究进展.中国美容医学,2014,23(17):1487-1491.
- [3] Gruber R, Varga F, Fischer MB, et al. Platelet stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, micro particles and membranes. Clin Oral Implants Res, 2002, 13

- (5):529-535.
- [4] 张焕虎, 战志勇. 富血小板血浆的发展及在创面修复中的应用. 中国现代普通外科进展, 2013, 16(4):309-311.
- [5] Yamamoto M, Ikada Y, Tabata Y. Controlled release of growth factors based on bio-degradation of gelatin hydrogel. *J Biomer Sci Polym Ed*, 2001, 12: 77-88.
- [6] Nguyen AH, McKinney J, Miller T, et al. Gelatin methacrylate microspheres for controlled growth factor release. *Acta Biomaterialia*, 2015, 13:101-110.
- [7] 李仲谨, 张莎, 周亮, 等. 明胶微球的制备及其粒径影响因素的研究. 食品科技, 2010, 35(1):249-252.
- [8] 孙瑞雪, 史京京, 郭燕川, 等. 明胶微球粒径控制的研究. 高分子学报, 2008, (8):779-784.
- [9] 吴姝雯, 柏正武, 奚江波, 等. 乳化热交联法制备明胶微球. 武汉学报, 2009, 55(5):555-558.
- [10] 陆扬. 明胶微球的研究进展. 明胶科学与技术, 2006, 26(2): 57-68.
- [11] 徐军, 陈子扬, 单鹏, 等. 明胶微球的制备. 中国生物制品学杂志, 2012, 25(2):230-232.
- [12] Arshady R. Albumin microspheres and microcapsules: metrology of manufacturing techniques. *Control Rel*, 1990, 14:111-131.
- [13] 杨子明, 彭政, 李普旺, 等. 壳聚糖靶向缓释功能高分子载药微球及其特性研究. 功能材料, 2013, 44(12):1703-1708.
- [14] 刘云松, 周永胜, 朱珊珊, 等. 体外贮存对人富血小板血浆生物学活性的影响. 北京大学学报(医学版), 2008(1):34-28.
- [15] Kawai K, Suzuki S, Tabata Y, et al. Accelerated tissue regeneration through incorporation of basetibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres into artificial dermis. *Biomaterial*, 2000, 21(5):489-499.
- [16] Cortesi R, Esposito E, Osti M, et al. Dextran cross-linked gelatin microspheres as a drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1999, 47(12): 153-160.
- [17] Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials*, 2003, 24(10):4385-4415.
- [18] Richardson TP, Peters MC. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(9):1029-1034.
- [19] Yamamoto M, Ikada Y, Tabata Y. Controlled release of growth factors based on biodegradation of gelatin hydrogel. *J Biomer Sci Polym Ed*, 2001, 12:77-88.
- [20] Chen FM, Zhao YM, Wu H, et al. Enhancement of periodontal tissue regeneration by local decontrolled delivery of insulin-like growth factor-I from dextran-co-gelatin microspheres. *Journal of Controlled Release*, 2006, 114: 209-222.
- [21] 隋继强, 韩岩, 吴红, 等. 人表皮生长因子与碱性成纤维细胞生长因子纳米缓释剂对成纤维细胞的影响. 中国美容医学, 2006, 15(12):1342-1345.
- [22] Jalowiec JM, D'Este M, Bara JJ, et al. An in vitro investigation of platelet-rich plasma-gel as a cell and growth factor delivery vehicle for tissue engineering. *TISSUE ENGINEERING: Part C Volume 22, Number 1, 2016^a* Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/ten.tec.2015.0223.

(2016-09-01 收稿, 2017-01-22 修回)

本文编辑:闻欣

《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;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路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 ·

ABO 血型抗原检测胶体金试剂条的研制及应用

胡晶高[英科新创(厦门)科技有限公司,福建 厦门 362022]

摘要:目的 应用胶体金免疫层析技术,研制 1 种 ABO 血型抗原检测胶体金试剂条。**方法** 对试剂条在研制过程中牵涉到的各项工艺参数进行优化,包括:标记抗体用量与包被 NC 膜抗体浓度筛选,加样量及反应时间确定等,并对 500 例常规全血标本进行检测,评估试剂条的临床准确性。**结果** 确定标记抗体浓度为 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、抗-A 包被浓度为 1.2 mg/mL 、抗-B 包被浓度为 1.0 mg/mL ,加样量为 10–20 μL 、反应时间 5–15 min,临床准确率 100%。**结论**

试剂条具有操作简单,携带方便,准确性高,无需仪器辅助等特点,检测样本不局限于人类新鲜全血,还可以是凝块血、血渍,将来甚至可以检测唾液、尿液的 ABO 血型,适合流动采血点、法医学现场检验和医院检验科室的血型初筛。

关键词:ABO 血型;胶体金免疫层析;组织血型;正定型;试剂条

中图分类号:R457.1^{†1} **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0034-04

Preparation and application of colloidal gold immunochromatographic test strip for ABO blood group antigen detection HU Jinggao, Yingke Xinchuang (Xiamen) Technology Co. Ltd, Xiamen 362022, China.

Abstract: **Objective** To prepare a colloidal gold immunochromatographic test strip for ABO blood group antigen detection and to evaluate its application. **Methods** To obtain the best performance of the strip, several conditions were optimized as followed: the amount of monoclonal antibodies (McAb) for labeling colloidal gold, the amount of McAb for coating a nitrocellulose (NC) membrane, and the reaction conditions. Then, 500 whole blood samples were detected by the test strip to evaluate its typing accuracy. **Results** The optimal amount of monoclonal antibodies (McAb) for labeling were 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$, monoclonal antibodies of anti-A and anti-B were optimally coated at 1.2 mg/mL and 1.0 mg/mL respectively. The optimum reaction dose was 10–20 μL , and the optimum reaction time was 5–15 minutes. Under the optimal conditions, the clinical accuracy of the test strip was 100%. **Conclusion** The test strip for ABO blood group antigen detection is easy to carry and operate with high accuracy without any instrument, which is suitable for detecting ABO blood group antigen of human blood samples, such as whole blood, fingertip blood, blood clot and bloodstain. In the future, this method can detect even ABO blood substance in saliva and urine. The test strip for ABO blood group antigen detection is applicable for primary screening in mobile blood donation room, forensic examinations in the field and clinical laboratory in the hospital.

Key words:ABO blood group; immunity colloidal gold; Histo-blood group; forward blood grouping; test strip.

血型鉴定是临床输血的首要工作,正确的血型鉴定是保证输血安全的前提条件^[1-2]。ABO 血型的表型是由正定型和反定型两者共同决定的,正定型检测红细胞抗原,反定型检测人血清中的抗体^[3]。目前,ABO 血型鉴定中正定型的临床检测方法主要是针对完整红细胞的直接凝集法,分为:玻片/试管凝集法^[3]、微柱凝胶凝集法^[4-5]、固相卡凝集吸附法^[6-7],而本公司研制出了 1 种 ABO 血型抗原检测胶体金试剂条,检测样本不需要是新鲜完整红细胞,以胶体金为示踪粒子,首次将胶体金免疫层析技术应用到血型鉴定领域,该试剂条具有样本要求低、污染小,操作简单,携带方便,无需仪器辅助等优点,现对试条的工艺参数优化结果及临床性能评估进行报道。

1 材料与方法

1.1 标本来源 本公司员工从 2015 年 7 月–2015 年 8 月在解放军第一七四医院体检的全血标本,总计 500 例,用以评估临床准确率,其中:标本为常规 EDTA 抗凝标本,于 2–8°C

保存不超过 7 d。所有标本的血型均先采用微柱凝胶法鉴定,结果:A 型 118 例、B 型 129 例、O 型 201 例、AB 型 52 例。

1.2 材料与试剂 羊抗兔 IgG、兔 IgG(北京新创生物工程有限公司,批号:2015.01.04)抗-A 单克隆抗体、抗-B 单克隆抗体(北京新创生物工程有限公司,批号:2015.03.12),硝酸纤维素膜(Merck Millipore,批号:R6AA06505C),玻璃纤维、PVC 底板、吸水纸(购自上海金标生物科技有限公司),ABO 血型正/反定型和 RhD 血型检测卡(瑞士达亚美公司,批号:50093.61.05),胶体金、红细胞保存液、反定型用红细胞(公司自制)。

1.3 仪器与设备 微柱凝胶卡离心机(ID-Centrifuge 12 S II)(瑞士达亚美公司),划膜仪、数控切条机(上海金标生物科技有限公司产品),恒温鼓风干燥箱(上海圣欣科学仪器有限公司产品)。

1.4 实验方法

1.4.1 检测原理 通过双抗体夹心法来定性检测人 ABO 血型抗原,在玻璃纤维素膜上预包被金标抗-A 单抗、金标抗-B 单抗和金标兔 IgG,在 NC 膜上的检测线 T_B 处包被抗-B 单抗,检测线 T_A 处包被抗-A 单抗,在对照线处包被羊抗兔 IgG;

检测时,样本先与预包被的金标抗体结合,在层析作用下复合物沿膜带向前移动,经过检测线时与预包被的抗体结合形成夹心物而凝聚显色,游离的金标兔 IgG 则在对照线处与羊抗兔 IgG 结合而复集显色。

1.4.2 检测步骤及结果判读 吸取待检全血标本 10~20 μL 滴加到试剂条加样区,再滴加 2 滴(100 μL)冲洗液到冲洗区,开始计时,5~15 min 内判读结果,结果解释参见图 1,显色强度参见图 2。

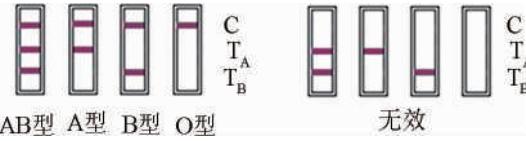


图 1 试剂条结果判读图



图 2 金标比色卡

1.4.3 ABO 血型抗原检测胶体金试剂条工艺参数优化

1.4.3.1 试剂条标记抗体量优化 血型抗体-胶体金标记物的制备:量取 1 mL 胶体金溶液,调节 pH 至 7.8,搅拌条件下加入不同量的血型单克隆抗体,继续搅拌 10 min,加入 10 μL 浓度为 0.2 g/mL BSA 溶液作为稳定剂,继续搅拌 10 min,然后将标记的胶体金溶液于 6 800 g 离心力离心 10 min,弃上清,沉淀即为金标抗体,用 10 mM PB 缓冲液(含一定浓度的蛋白质、糖及吐温)重悬至原体积后均匀涂布于玻纤上,再 45℃ 干燥箱烘干 2 h,即得到血型抗体-胶体金结合垫。

标记抗体量考察:采用目视法确定血型抗体的标记量,按顺序在一系列 pH7.8 的 1 mL 胶体金溶液中加入不同量的血型单克隆抗体,混匀,10 min 后在上述试管中各加入 100 μL 10% 的 NaCl 溶液,混匀,30 min 后观察现象。

1.4.3.2 NC 膜包被抗体浓度优化 预包被抗体 NC 膜制备:10 mM PB 稀释的抗-A 单抗按喷量 1.0 μL/cm 包被到 NC

膜上作为 T_A 线,10 mM PB 稀释的抗-B 单抗按喷量 1.0 μL/cm 包被到 NC 膜上作为 T_B 线,同时将羊抗兔 IgG 稀释成 1.2 mg/mL 按喷量 1.0 μL/cm 包被到 NC 膜上作为 C 线,然后将 NC 膜置于 45℃ 干燥箱烘干 2 h,即得到预包被抗体 NC 膜,再与血型抗体胶体金结合垫组装成试条。

抗体包被浓度考察:用 10 mM PB 稀释的不同浓度血型抗体包被 NC 膜,与金垫组装成试条,检测已知血型 10%(v/v) 红细胞悬液,观察显色强度,确定血型抗体包被浓度。

1.4.3.3 样本添加量与反应时间确定 吸取一定量待检全血标本滴加到试剂条加样区,再滴加 2 滴(100 μL)冲洗液到试剂条冲洗区,反应一段时间后判读结果。

1.4.4 试剂条灵敏度、特异性和精密度和临床检测 灵敏度检测:通过检测血型灵敏度质控盘判断试剂灵敏度,血型灵敏度质控盘为不同浓度的 AB 型红细胞悬液,其组成及要求见表 1。特异性检测:通过检测血型特异性质控盘判断试剂条特异性,血型特异性质控盘为 10%(v/v) 红细胞悬液,要求 100% 准确鉴定,其组成见表 2。精密度检测:重复检测 10 次 10%(v/v) AB 型红细胞悬液,观察检测线显色强度,要求最终检测线显色均一。临床准确率检测:用 ABO 血型抗原检测胶体金试剂条检测已知 500 例全血标本,以凝胶法为对照,评判结果符合率。微柱凝胶法 ABO/RhD 血型鉴定:检测 500 例全血标本的血型,具体操作步骤详见达亚美产品说明书。

1.4.5 试剂条稳定性考察 试剂条和干燥剂一起用铝箔袋密闭包装,室温保存,每隔 4~6 个月抽样,对 5%(v/v) 红细胞悬液的特异性质控盘进行检测,要求特异性 100% 且检测线的显色强度不低于 L5。

表 1 ABO 血型抗原检测金标条灵敏度质控盘

| 红细胞浓度%(v/v) | 编号 | | | | |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 |
| 5 | | | | | |
| T 线显色强度要求 | ≥L3 | ≥L4 | ≥L5 | ≥L6 | ≥L7 |

表 2 ABO 血型抗原检测金标条特异性质控盘

| 血型 | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 | T11 | T12 | T13 | T14 |
|----|----------------|----------------|----------------|----|----|----|----------------|------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | A ₁ | A ₁ | A ₁ | B | B | B | A ₂ | A ₂ B | AB | AB | AB | O | O | O |

2 结果

2.1 试剂条标记抗体量优化 抗-A 单克隆抗体标记量测定过程及结果如表 3、图 3 所示。1 号管加入 NaCl 后胶体金溶液的颜色立即由酒红色变成蓝色,最后甚至成为无色透明液体,这是因为电解质破坏胶体金颗粒的外周水化层,打破了胶体的稳定状态,使分散的单一金颗粒凝聚成大颗粒,进而沉聚下来,9 号管中未加入 NaCl,颜色不发生变化,2~4 号管

颜色也有变化,从 5 号管开始胶体金溶液的颜色基本不变,这是因为蛋白质大分子有保护胶体金、加强其稳定性的作用,且从 5 号管开始所加入的抗体量已达到稳定胶体金的合适蛋白量,因此稳定胶体金所需的抗-A 单抗量是 20 μg/mL,通常情况下,需要多加 20% 作为最适蛋白标记量^[8],即 24 μg/mL。同样的方法测得抗-B 单克隆抗体最佳标记也是 24 μg/mL。

表 3 抗-A 单克隆抗体最佳标记量测定

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| 抗-A 单抗(ug) | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 |
| 胶体金(mL) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 10% NaCl(mL) | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0 |

注:第 1 管为不加抗体对照管,第 9 管为不加 NaCl 对照管,其内加入 0.1 mL 超纯水

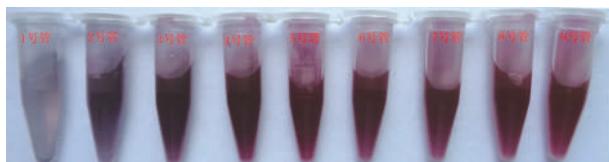


图 3 抗-A 单克隆抗体不同标记量的结果

2.2 NC 膜包被抗体浓度优化 抗-A 单抗按 0.8、1.0、1.2、1.4 mg/mL 质量浓度包被 NC 膜,与金垫组装成试条,然后重复检测 3 次 10% (v/v) A 型红细胞悬液,观察显色强度,结果如图 4 所示,发现抗-A 包被浓度越高,检测线越宽,包被浓度为 1.2 mg/mL 时,检测线宽度适当,显色均匀且最强,因此确定抗-A 包被浓度是 1.2 mg/mL。抗-B 单抗也分别按 0.8、1.0、1.2、1.4 mg/mL 质量浓度包被 NC 膜,组装的试条重复检测 3 次 10% (v/v) B 型红细胞悬液,从结果图可知,抗-B 包被浓度为 1.0 mg/mL 时,检测线宽度适当,显色较强且均匀,包被 0.8 mg/mL 的 T_B 检测线显色最深,但其不均匀,边缘深中间淡,因此选择 1.0 mg/mL 为最佳抗-B 包被浓度。

2.3 样本添加量与反应时间确定 对添加量进行考察,抗凝全血添加量分别为 2、5、10、15、20、25 μL,同时考察了反应时间的影响,反应时间为 5、10、15、20、30、60 min。结果

如图 5 所示,加样量 < 10 μL 时,检测线出线慢且显色强度弱,加样量 ≥ 10 μL,检测结果基本一致,检测线出线快且显色强,显色也不会随加样量的增加而不同,反而加样量过多容易造成样本侧溢,综合考虑到以下几点:避免样本浪费;避免样本侧溢而交叉污染;使用方便,确定检测样本添加量为 10–20 μL 范围;对反应时间进行考察的结果见图,反应时间越长,检测线的显色会更强,但是显色变化不明显,特别是当检测样本添加量为 10–20 μL 时,检测线出线结果从反应 5 min 开始基本就已稳定了,综合考虑:加样量偏差;时间成本,确定反应时间为 5–15 min 范围,最佳反应时间 10 min。

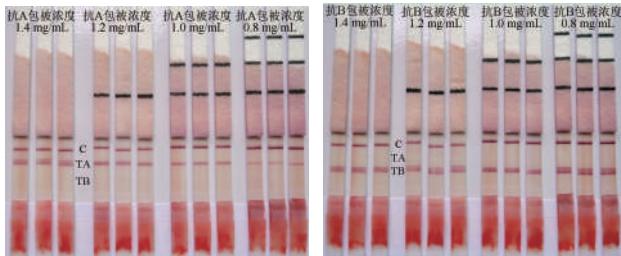


图 4 不同浓度抗体包被 NC 膜检测结果

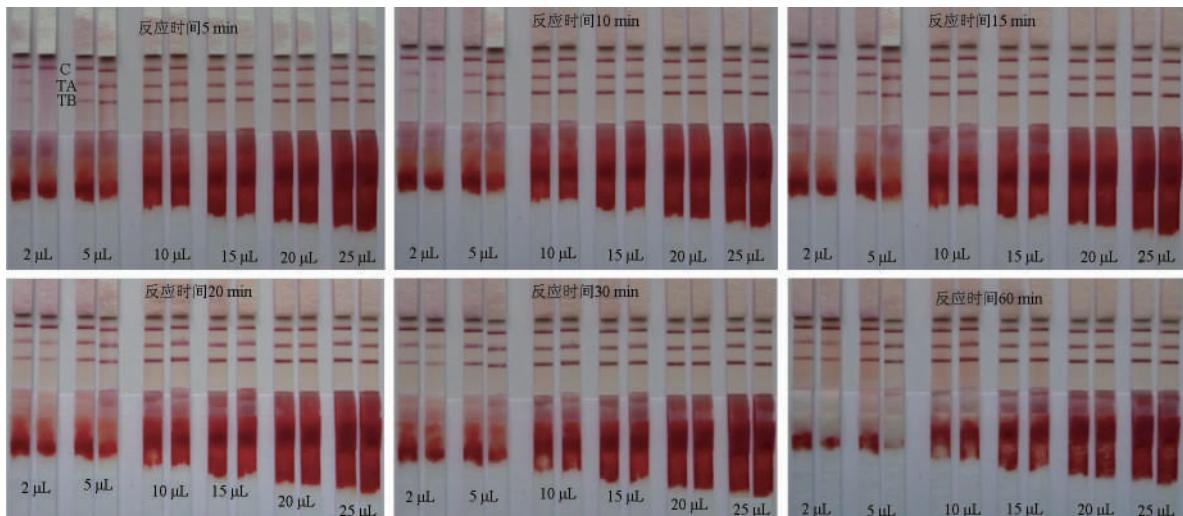


图 5 不同样本添加量与反应时间检测结果

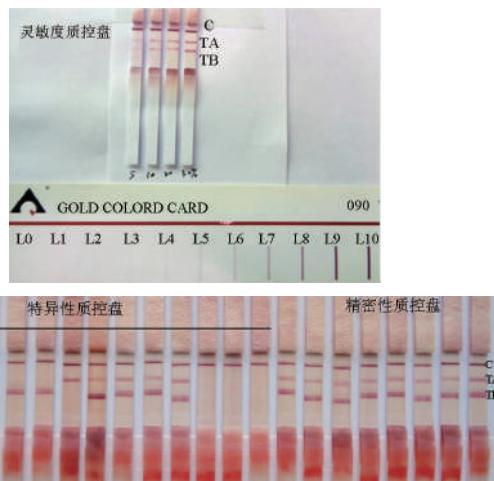


图 6 质控盘考核结果

2.4 试剂条特异性检测、精密性检测和临床检测 试剂条

对灵敏度、特异性和精密性质控盘进行检测,结果见图 6,灵敏度达到显色强度要求,特异性 100%,精密性也合要求,即检测线色度均一。同时对 500 例临床常规标本进行血型鉴定,与凝胶法鉴定比较,结果显示各型符合率 100%,见表 4。

表 4 金标条法与凝胶法鉴定 500 份全血样本血型结果比较

| | 金标条法(n) | 凝胶法(n) | 符合率(%) |
|----|---------|--------|--------|
| A | 118 | 118 | 100 |
| B | 129 | 129 | 100 |
| O | 201 | 201 | 100 |
| AB | 52 | 52 | 100 |
| 总计 | 500 | 500 | 100 |

2.5 试剂条稳定性考察 试剂条室温保存(2–30°C),分别在 4、8、12、18、24 个月时取样检测,每次取样的试剂条进行特异性质控盘检测,结果见表 5。由表 4 可知,试剂条室温保存 12 个月内性能不会减弱,特异性 100% 且检测线显色强度始终保持在 L6–L7,保存时间超过 12 个月时,检测线显色强度

会下降大约 1 个梯度至 L5-L6, 但仍然 $\geq L5$, 且特异性 100%。保险起见, 确定试剂条室温条件下可保存至少 12 个月。

表 5 稳定性考察结果

| | 时间(月) | | | | | |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 | 18 | 24 |
| T _B 线卡值 | L6-L7 | L6-L7 | L6-L7 | L6-L7 | L5-L6 | L5-L6 |
| T _A 线卡值 | L6-L7 | L6-L7 | L6-L7 | L6-L7 | L5-L6 | L5-L6 |
| 特异性(%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

3 讨论

正确的血型鉴定, 是保证临床输血安全和抢救生命的重要工作。我们旨在研制 1 种新型血型定型试剂条, 通过对产品制备各工艺进行优化, 如: 抗体筛选, 金标记工艺优化, 包被 NC 膜抗体优化, 加样量及反应时间确定等, 最终研制出了 1 种 ABO 血型抗原检测胶体金试剂条, 这是第 1 次报道成功将免疫层析技术应用到血型鉴定的实践当中。本研究也对试剂条进行了各性能指标的检测, 结果显示试条的特异性、灵敏度、准确率和稳定性高, 达到常规血型正定型试剂的要求, 此外, 其还有许多独特的优势: 1) 储存方便, 室温保存 (2~30℃); 2) 样本要求低, 溶血、凝块血、冷凝集血、高纤维蛋白原标本都能检测, 因为检测的是经冲洗液(含裂解剂)裂解的红细胞血型抗原, 同时还能降低由此类标本造成的正反定型不符率; 3) 操作简单, 一孔加样, 一孔加冲洗液, 无需辅助设备; 4) 既适合少量样本, 也适合大量样本检测; 5) 固相试剂条, 携带方便, 不易液体飞溅而造成污染; 6) 加样量范围广, 10~20 μL, 甚至 5~30 μL; 7) 能检出常见血型亚型, 如 A₂、A₂B、AB₈, 无需专业人员即可操作, 结果容易判读, 客观可靠。

另外, 我们知道 ABO 血型是组织血型, 它的抗原表位为糖分子, 不仅分布在人红细胞和其他血细胞表面, 而且更广泛地分布于人体内除中枢神经细胞外的各种组织细胞、体液、分泌液中^[9], 目前, 市面上通用的 ABO 血型正定型试剂都只能检测红细胞上的 ABO 血型抗原, 以红细胞为指示探针, 若红细胞凝集, 则是阳性反应, 若无红细胞凝集, 则是阴性反应, 这对标本要求相当苛刻, 必须是完整红细胞, 而且要求标本尽量新鲜、无溶血、无凝块等现象, 本公司研制的 ABO 血型抗原检测胶体金试剂条则无此要求, 不仅可以检测抗凝全血, 还可以检测非抗凝血、指尖血、血渍, 极大地方便客户使用; 初步的唾液、尿液试验后, 发现试条也可以检测口水和尿液中的血型物质, 但是灵敏度不高, 会漏检, 针对非红细胞血型抗原的检测试条工艺有待研究改进, 因此, 甚至将来可以通过检测唾液、尿液等来正确鉴定 ABO 血型, 从而实现无

痛血型鉴定, 避免了采血造成的创伤、疼痛以及其它交叉污染事件^[10~11]。

我们对试剂条检测红细胞 ABO 血型抗原进行了系统研究, 性能达到了常规血型正定型试剂的要求, 且实用性更好更广, 现阶段试条的预期用途有: 1) 采血现场 ABO 血型的快速检测, 以及血型的家庭自检; 2) 适合血站及医院检验科血型的批量检测; 3) 公安部物证中心现场血渍血型检测。此外, 本试剂仍有待改进之处: 1) 加样方式或许可以改进成虹吸加样; 2) 不能正反向同时定型, 缺乏配套反定型试剂条, 有待开发; 3) 可与传统血筛四项 TP、HIV、HBsAg、HCV 组合成为多联卡, 用于采血初筛; 4) 还不具备正确检测唾液、尿液等非红细胞血型抗原的 ABO 血型功能; 5) 有待开发其它血型系统的金标检测试剂条, 形成系列血型鉴定产品。

总之, ABO 血型抗原检测胶体金试剂条是对血型鉴定方法的 1 次创新, 产品除性能指标满足要求外, 尚且具有多方面的优势, 实用性强, 具有很强的推广价值。

参 考 文 献

- [1] 栾建凤, 邵小宝, 胡晶高, 等. ABO 反定型免疫胶体金试剂的初步研制与评估. 医学研究生学报, 2013, 26(8): 798~800.
- [2] 任伟, 陈惠欣, 韩杰, 等. ABO 血型正反定型不一致的原因分析及解决策略. 临床血液学杂志, 2016, 29(4): 289~291.
- [3] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程(第 4 版). 北京: 人民卫生出版社, 2015: 118~124.
- [4] 徐新蓉, 龚国富. 微柱凝胶法检测 ABO 血型正反定型不符的原因分析与处理. 检验医学与临床, 2012, 9(2): 226~228.
- [5] 周小玉, 许进明, 华嵒, 等. 微柱凝胶法鉴定 ABO 血型正反定型不一致原因分析. 临床输血与检验, 2007, 9(4): 366~367.
- [6] 侯涛, 范许洲, 邵小宝, 等. 固相法血型定型试剂在极端气候条件下使用的可行性评估. 中国输血杂志, 2011, 24(12): 1019~1021.
- [7] 侯涛, 朱培元, 胡晶高, 等. 固相法血型定型试剂的研制及准确性评估. 临床误诊误治, 2013, 26(10): 96~98.
- [8] 马寅生, 万宇平, 刘清瑕, 等. 一种快速检测氟喹诺酮类药物的胶体金试纸卡. 生物技术通报, 2013, 6: 226~231.
- [9] 胡丽华. 临床输血学检验(第 3 版). 北京: 人民卫生出版社, 2013.6~8.
- [10] 杨晨曦, 赵秀平. 控制街头采血细菌污染的几点经验. 中国输血杂志, 2003, 16(1): 27.
- [11] 黄远, 李以贵, 颜平, 等. 微针采血与离子浓度检测一体化装置的研制. 纳米技术与精密工程, 2015, 13(6): 458~462.

(2016-05-25 收稿, 12-09 修回)

本文编辑: 李宜蔓

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www. cjbt. cn

bloo. cbpt. cnki. net

· 临床研究 ·

· 论著 ·

手术患者红细胞输注计划与实施符合性评价研究与应用

孙福廷 冀宝军 王立萍(潍坊市人民医院 输血科,山东 潍坊 261041)

摘要:目的 分析手术患者术前用血计划与术中实际输血量符合率,为术前制订科学合理有效的用血计划提供理论依据。**方法** 通过对 2011 年 1 月 1 日~2013 年 12 月 30 日本院手术患者围手术期输血情况进行回顾性调查,统计 3 年间用血量比较大的手术用血情况,以全髋关节置换术为例统计计划量与实际用血量的差异,采用 *t* 检验方法分析评价其符合性。**结果** 1) 手术输血患者占手术患者比例逐年降低,手术患者人均红细胞输注量逐年降低。2) 用血比例较大的几类手术 3 年间手术中红细胞输注量差异不具统计学意义($P>0.05$)。3) 超计划输血占总手术用血人次的 16.3%,超计划用血患者计划血量与实际用血量差异具统计学意义($P<0.05$)。4) 股骨头缺血性坏死、股骨颈骨折、其他髋关节病变所致全髋关节置换术患者红细胞术前计划量与术中实际用血量分别为: 2.97 ± 1.01 U, 4.77 ± 2.33 U; 3.26 ± 0.99 U, 5.42 ± 3.91 U; 3.16 ± 1.07 U, 6.08 ± 4.80 U,计划量与实际输注量差异均具统计学意义($P<0.05$)。**结论** 术前制订有效的用血计划非常必要,对保障输血安全、手术安全意义重大,应尽量避免超计划用血,杜绝无计划用血,在综合评估患者个体情况下,术前红细胞用血计划可参考该类手术最近 3 年平均用血量。

关键词:用血计划;实际用血量;手术患者;符合性;评价

中图分类号:R457.1 文献标识码:A 文章编号:1004-549X(2017)1-0038-03

Research and application of conformity assessment on red blood cell transfusion in surgical patients in planning and implementation SUN Futing, JI Baojun, WANG Liping. Weifang Peoples Hospital, Weifang 261041, China

Abstract: **Objective** To analyze the coincidence rate of surgical patients' preoperative planned blood use and actual amount of intraoperative blood transfusion, and to provide scientific and reasonable theoretical basis for implementation of preoperative blood use plans. **Methods** Retrospective investigation was carried out on perioperative blood transfusion in surgical patients in our hospital between January 1, 2011 and December 30, 2013. The differences of amounts of blood between preoperative planning and intraoperative actual transfusion in patients with total hip replacement were analyzed by *t*-test using SPSS17.0. **Results** 1). The proportion of surgical blood transfusion in surgical patients showed a decreasing trend, so did the average volume of red blood cell transfusions in surgery patients. 2). There were no significant differences in perioperative blood transfusions between several blood-consuming-operation in three years ($P>0.05$). 3). Excess blood use accounted for 16.3% of the total number of surgery. There were significant differences between planned and actual blood transfusion in patients with over use of blood transfusion($P<0.05$). 4). There were significant differences between planned and intraoperative red blood cell transfusion in patients with total hip arthroplasty (2.97 ± 1.01 , 4.77 ± 2.33 ; 3.26 ± 0.99 , 5.42 ± 3.91 ; 3.16 ± 1.07 , 6.08 ± 4.80), ($P<0.05$). **Conclusion** Preoperative planning and effective use of safety are of great significance to ensure the safety of blood transfusion and surgery, avoid excessive use of blood and eliminate unplanned use. Under the comprehensive evaluation of individual patients, preoperative blood use plan may refer to the average volume used in surgery in the last three years.

Key words: blood use plan; blood transfusion; surgical patient; conformity; assessment

临床输血是治病救人的主要手段之一,科学、合理、有效输血是输血治疗的根本宗旨。制定科学用血计划、计划量与实际用血量的符合程度体现了临床医师对患者病情评估和对各血液制品适应证知识的了解与掌握程度,是体现科学合理有效输血理念、以患者为中心的重要方面。合理制定临床用血计划,并按计划实施输血治疗,是临床医师在正确评估患者病情基础上严格输血适应证落实输血计划的过程,而如何制订科学合理有效的用血计划对保障输血安全具有重要意义。《三级综合医院评审标准实施细则》2011 年版要求制定本医疗机构临床用血计划并对用血计划的实施进行考核

和计划符合性进行评价。依据标准要求对本院部分外科手术患者术前用血计划与术中实际用血量进行比较并对计划的符合性进行了分析评价,现将分析结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料 选取 2011 年 1 月 1 日~2013 年 12 月 30 日期间本院住院手术患者,计算手术前计划用血量(统计红细胞用量)和手术中实际输血量。红细胞以 200 mL 全血制备为 1 U,300 mL 全血制备为 1.5 U。

1.2 方法 对手术前计划用血量与术中实际用血量进行统计,计算符合率。选取常见的几种单病种手术对计划用血量与实际用血量进行统计,计算实际用血量,指导制订今后的

术前计划用血量。

1.3 统计学分析 采用 SPSS17.0 进行检验分析,统计方法采用配对样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果(表 1-4)

表 1 2011-2013 年本院手术红细胞输注情况统计

| 手术 | 手术输血人次 | 手术患者 | 手术期输血率(%) | 手术期输血量(U) | 手术患者人均红细胞输血量(U) |
|--------|--------|-------|-----------|-----------|-----------------|
| 2011 年 | 14 712 | 1 301 | 8.84 | 5 155 | 0.35 |
| 2012 年 | 23 829 | 1 264 | 5.30 | 7 567 | 0.32 |
| 2013 年 | 25 765 | 1 148 | 4.46 | 6 264 | 0.24 |

表 2 2011-2013 年手术中输血量较大的几类手术患者红细胞输注情况统计比较

| 二尖瓣瓣膜置换术 | 主动脉冠脉搭桥术 | 全髋关节置换术 | 全膝关节置换术 | 脾切除术 |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 红细胞用量(U) | 细胞用量(U) | 细胞用量(U) | 细胞用量(U) | 红细胞用量(U) |
| 2011 年 | 5.97±4.70 | 5.88±5.14 | 5.22±3.01 | 4.54±1.98 |
| 2012 年 | 6.16±4.44 | 6.59±5.08 | 5.11±3.90 | 4.19±1.90 |
| 2013 年 | 6.85±5.07 | 5.72±4.50 | 5.00±3.80 | 5.14±3.27 |
| | | | | 7.36±7.10 |

注: *F* 值分别为 0.38、0.44、0.04、1.15、1.62, 均为 $P > 0.05$

表 3 2013 年手术患者红细胞计划量与实际用量统计比较

| | 与计划用血相符(U) | 超计划用血(U) |
|-----------|------------|----------|
| 人次 | 961 | 187 |
| 计划量(U) | 5 107 | 425 |
| 实际量(U) | 5 107 | 1 043 * |
| 计划人均(U/人) | 5.31 | 2.27 |
| 实际人均(U/人) | 5.31 | 6.19 |

* *t* = -18.95, $P < 0.05$

表 4 2011-2013 年几类疾病行全髋关节置换术患者红细胞计划量与实际输注量统计比较

| | 病种 | 计划用血量(U) | 实际用血量(U) |
|--------|----------|-----------|-----------|
| 2011 年 | 股骨头缺血性坏死 | 2.97±1.01 | 4.77±2.33 |
| 2012 年 | 股骨颈骨折 | 3.26±0.99 | 5.42±3.91 |
| 2013 年 | 其他髋关节病变 | 3.16±1.07 | 6.08±4.80 |

注: *t* 分别为 5.33、2.6、4.2, 均为 $P < 0.05$

3 讨论

手术中输血是部分复杂手术不可缺少的重要支持手段,对保证手术安全意义重大,临幊上对手术中输血的安全性和合理性也越来越关注。2006 年美国麻醉医师协会丰富和更新了围手术期输血工作指南^[1],认为加强术前、术中输血评估,在术前应当对可能导致输血的各种危险因素进行充分的评估,并作出相应的应对方案或是计划,严格把握术中输血指征,才能够科学合理应用血液资源,达到提高输血治疗效果的目的。我国临床输血技术规范^[2],也给出了手术及创伤患者的输血指南建议。但是对手术患者术前用血计划没有明确规定。世界卫生组织(WHO)临床输血方面建议,各医疗部门应根据当地具体情况制订合理的手术备血、用血策略,充分评估患者手术用血影响因素,建立、实施患者手术备血策略(surgical blood ordering schedule, SBOS),对于科学有效使用有限血液资源意义重大^[3]。调查发现,2011 年~2013 年我院手术输血患者占手术患者比例逐年降低,手术患者人均红细胞输注量逐年降低,其原因首先是手术技术的进步以及微创手术等新技术的开展,其次是医院加强了围手术期的

血液管理,严格输血适应征,实施了限制性输血策略。符合《三级综合医院评审标准实施细则》(2011 年版)输血管理与持续改进相关要求。

术中出血是必然的,依据患者基础状况、疾病性质、手术部位、手术范围、手术方式、手术医师的经验等因素,预测术中出血量,根据出血量制定用血计划并实施,两者差距越大,手术前对出血状况的评估越不到位,手术过程的风险也就越大,对患者安全隐患就越多。本研究显示 2013 年 2 269 人次手术患者制定红细胞输注计划而术中未实施输血,这类以预防出血为目的的红细胞输注计划,对手术安全和患者安全是非常必要的。手术输血患者 1 148 例,实施输血的患者中 961 例患者实际输血量与计划输血量相符,187 例实际输血量超出计划量,计划血量与实际用血量差异具有统计学意义($P < 0.05$),更严重的是 187 例中有 26 例患者术前未做用血计划,但术中实施了紧急输血。计划输血与实际输血相符是最完美的用血计划,超出计划用血表明术前的用血评估不充分,术中临时追加血液,在库存不足情况下对手术和患者安全带来隐患。本研究显示,由股骨头坏死、股骨颈骨折以及其他髋关节病变导致的行全髋关节置换术患者,手术术中实际用血量明显高于术前计划量;而术前没有用血计划术中紧急输血,这样的情况隐患更大,如果患者存在不规则抗体导致配血困难,或者没有相合血液,都会延长血液准备时间,耽误术中输血。以上 2 种情况轻者影响手术顺利进行,重者可危及患者生命,需引起临床医师和输血管理者的高度重视。当前国内术中输血大多凭术者个人经验,存在不合理用血现象^[4],另外手术医师对评估术前的用血计划不重视,随机现象严重。建议要不断完善术中输血的规范化程度^[5],加强术中输血规范化管理,为输血安全、手术安全保驾护航,应尽量避免超计划用血,杜绝无计划用血,确保患者安全。

既然术中出血是必然的,发生意外情况的大出血也是难免的,那么制订科学有效的术前用血计划就显得非常重要。Canan 等^[6] 和 Weiss 等^[7] 的研究表明,在腰椎减压融合术及侧凸术中,自体血回收-回输术不能减少异体血的需求。苗玉良等^[8] 的研究显示,自体血回收-回输技术可减少术中异体红细胞输注量,但无法减少围术期异体输血量,因此在考虑自体血回输的情况下,做好术前异体血用血计划也非常必要。如何评估术中出血,制定有效的用血计划却是一个难题。手术医师应根据患者的总体状况,充分考虑可能导致出血的各种因素,做好术前的用血计划,做到有的放矢,保证输血和患者安全。本研究通过对术中用血量比较大的几类手术 3 年间用血情况统计表明,输注量差异不具统计学意义, $P > 0.05$,因此本院该类疾病的 SBOS 可以用最近 3 年同类手术平均用血量作为标准。

输血无小事,责任重如山。建议卫生主管部门加强围手术期临床用血管理,出台相应指南,规范围手术期临床用血,为围手术期合理有效输血、确保输血安全手术安全提供保障。

参 考 文 献

- [1] American Society of Anesthesiologists Task Force .Practice guide-

- lines for perioperative blood transfusion and adjuvant therapies; An updated report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Transfusion and Adjuvant Therapies. *Anesthesiology*, 2006, 105: 198-208.
- [2] 中华人民共和国卫生部.临床输血技术规范.2000.
- [3] 李喜莹,赵国华,刘敏,等.肿瘤患者手术备血策略的建立及其手术用血影响因素分析.中华医学杂志,2013,93(32):2562-2566.
- [4] 王良华,熊文,周丹.766 例创伤外科临床输血的调查分析.中国输血杂志,2009,22(6):484-486.
- [5] 徐宏伟,张兰,薛静.华西医院手术室内规范化输血的初步调查.中国输血杂志,2010,23(7):543-544.
- [6] Canan CE, Myers JA, Owens RK, et al. Blood salvage produces higher total blood product costs in single-level lumbar spine surgery. *Spine*, 2013, 38(8): 703-708.
- [7] Weiss JM, Skaggs D, Tanner J, et al. Cell Saver; is it beneficial in scoliosis surgery. *J Child Orthop*, 2007, 1(4): 221-227.
- [8] 苗玉良,刘艳,任冬云.自体血回收一回输术用于脊柱侧凸术效能的分析:基于倾向值匹配法的回顾性研究.中华麻醉学杂志,2014,34(6):733-735.

(2016-10-10 收稿, 2017-01-20 修回)

本文编辑:闻欣

• 论著 •

恶性血液病患者化疗后出血与血小板计数和白细胞计数的关系

徐金格 陈令松 张秋荣 张桂华 刘凯歌 吴进燕(徐州医学院第二附属医院,江苏 徐州 221006)

摘要:目的 探讨恶性血液病患者化疗后出血的与白细胞和血小板计数的关系。**方法** 观察 96 例恶性血液病化疗后的临床出血情况,监测出血时血小板计数、化疗前白细胞计数。比较不同年龄组、性别、疾病缓解状态的出血发生率;分析出血程度与血小板减少程度、白细胞计数的关系。**结果** 96 例恶性血液病患者化疗后出血 28 例(ALL4 例, AML(非 M3 型)16 例, NHL1 例, MM2 例, HL1 例, MDS4 例), 出血发生率为 29.2%;≥55 岁组出血发生率为 44.2%(23/52), 明显高于<55 岁组(11.4%, 5/44)($\chi^2 = 12.462, P < 0.05$), 而不同性别患者化疗后出血发生率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。缓解组患者化疗后出血发生率为 15.21%;未缓解组患者出血发生率为 42.0%, 较缓解组患者出血发生率高($\chi^2 = 8.318, P < 0.05$)。出血患者均有血小板减少, 1-2 级出血组和 3-4 级出血组患者的血小板减少程度的差异有统计学意义($\chi^2 = 13.38, P < 0.01$)。白细胞计数 $\geq 50 \times 10^9/L$ 的急性白血病患者出血患者 3-4 级的出血发生率高于白细胞计数 $< 50 \times 10^9/L$ 的患者, 差异有统计学意义($\chi^2 = 6.806, P < 0.05$)。**结论** 年龄 ≥ 55 岁、恶性血液病未缓解可能为出血的危险因素;白细胞计数 $\geq 50 \times 10^9/L$ 可能为急性白血病患者 3-4 级出血的危险因素;血小板减少与恶性血液病患者出血相关, 血小板 $< 20 \times 10^9/L$ 时出血发生率明显增加。

关键词:恶性血液病;出血;危险因素

中图分类号:R457.1 文献标识码:A 文章编号:1004-549X(2017)1-0040-03

White blood cell and platelet count of post-chemotherapy hemorrhage in patients with hematologic malignancies

XU Jing, CHEN Lingsong, ZHANG Qiurong, ZHANG Guihua, LIU Kaige, WU Jinyan. Department of Hematology, the Second Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221006, China.

Abstract: Objective To investigate the relationship of post-chemotherapy bleeding and white blood cell and platelet count in patients with hematologic malignancies.**Methods** The post-chemotherapy bleeding events were observed in 96 patients with hematologic malignancies. Their platelet count was monitored when bleeding event occurred and white blood cell count before chemotherapy. Then, the incidence of bleeding were compared among groups of different age, gender, disease remission states. The severity of thrombocytopenia and leukocytosis were compared in correlation with the different bleeding states.

Results Among 96 patients with hematologic malignancies, post-chemotherapy hemorrhage occurred in 28 cases (ALL 4 cases, non-M3-AML 16 cases, NHL 1 case, MM 2 cases, HL 1 case, MDS 4 cases), with an incidence of 29.2%. The bleeding incidence was 44.2% (23/52) in the group consisting of patients over 55 year old, which was higher than the group less than 55 year old (11.4%, 5/44) ($\chi^2 = 12.462, P < 0.05$). The incidence in different gender groups had no statistically significant difference ($P > 0.05$). The post-chemotherapy bleeding incidence in the remission group was 15.21%, but it was 42.0% in the group without remission. The difference hemorrhage in non-remission and remission groups was statistically significant ($\chi^2 = 8.318, P < 0.05$). All cases of patients with post-chemotherapy hemorrhage experienced thrombocytopenia. The different degree of thrombocytopenia between the group of bleeding grade 1-2 and the group of bleeding grade 3-4 in patients

of post-chemotherapy hemorrhage were statistically significant ($\chi^2 = 13.38, P < 0.01$). In patients with a bleeding grade of 3-

4, the incidence of acute leukemia with white blood cell count more than $50 \times 10^9 / L$ was higher than that with white blood cell count less than $50 \times 10^9 / L$, hence the difference was statistically significant ($\chi^2 = 6.806, P < 0.05$). **Conclusion** Old age and non-remission stage may be potential risk factors for post-chemotherapy hemorrhage in patients with hematologic malignancies. White blood cell count more than $50 \times 10^9 / L$ is an indicative risk factor among patients with a bleeding grade 3–4 and acute leukemia. Post-chemotherapy hemorrhage in patients with hematologic malignancies is associated with the degree of thrombocytopenia.

Key words: hematologic malignancies; bleeding; risk factors

恶性血液病患者接受化疗后常出现重度骨髓抑制,引起血小板计数下降,止血功能降低,进而发生出血,严重可危及生命。恶性血液病的出血与疾病状态、年龄、感染、大量化疗引起的血管壁损伤及凝血因子缺乏等均有关系。通过分析本院近年来恶性血液病患者临床出血情况,探讨出血与年龄、疾病缓解程度、白细胞、血小板下降程度等因素的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料 病例来自 2009–2015 年徐州医学院第二附属医院血液科住院的 96 例接收化疗的恶性血液病患者,男,50 例,女 46 例,中位年龄 58(10–87)岁,诊断符合《血液病诊断及疗效标准》^[1]。其中急性淋巴细胞白血病(ALL)10 例,非 M3 型急性髓细胞白血病(AML)30 例,多发性骨髓瘤(MM)17,非霍奇金淋巴瘤(NHL)20 例,骨髓增生异常综合征(MDS)15 例,霍奇金淋巴瘤(HL)4 例。所有入选患者化疗前均没有明显出血征象,凝血功能检查在化疗前后基本正常。按年龄分为<55 岁组(44 例)和≥55 岁组(62 例);按疾病缓解状态分为未缓解组(50 例)与缓解组(46 例)。按出血与否分为出血组和未出血组。

1.2 出血分级 按照 WHO 关于出血的分级标准^[2]分为:1 级,皮肤或黏膜出血,排泄物/分泌物潜血检查呈阳性;2 级,有出血表现(如鼻出血、血尿等)但不需要红细胞输注;3 级,有出血表现,需要输注红细胞≥1 U/d;4 级,大量出血,伴有血液动力学改变或重要脏器出血(如脑出血)。

1.3 观察指标 发生出血时的出血分级、血小板计数,根据血小板减少的程度分< $20 \times 10^9 / L$ 组和≥ $20 \times 10^9 / L$ 组;白血病患者发生出血时是否合并高白细胞(白细胞计数≥ $50 \times 10^9 / L$)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS16.0 统计软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验或秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组出血发生率及例数比较 出血总发生率为 29.2%(表 1)。<55 岁组患者出血发生率为 11.4% (5/44),≥55 岁组患者的 44.2% (23/52), $\chi^2 = 12.462, P < 0.05$,而不同性别间出血发生率 $P > 0.05$ (表 2)。缓解组患者 46 例,出血 7 例,出血发生率为 15.21%;未缓解组患者 50 例,出血 21 例,出血发生率为 42.0%,两组出血发生率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.318, P < 0.05$,见表 2)。

2.2 不同出血级别与血小板减少程度的差异比较 血小板计数< $20 \times 10^9 / L$ 组共 58 例,未出血 33 例,1–2 级出血 17 例,3–4 级出血 8 例;血小板计数≥ $20 \times 10^9 / L$ 组共 38 例,1–2 级

出血 2 例,3–4 级出血 1 例,两组血小板减少程度的频数分布差异有统计学意义($\chi^2 = 13.38, P < 0.01$)。(表 3)

2.3 急性白血病患者出血发生情况 40 例非 M3 型急性白血病化疗后出血患者,出血 20 例,出血发生率 50%。白细胞计数≥ $50 \times 10^9 / L$ 患者共 11 例,发生 1–2 级出血 2 例;3–4 级出血患者 6 例,高白细胞的患者 3–4 级的出血发生率 54.5%;29 例白细胞计数< $50 \times 10^9 / L$ 的患者 3–4 级出血的发生率为 6.9%;3–4 级出血发生率在白细胞计数≥ $50 \times 10^9 / L$ 的发生率高于白细胞计数< $50 \times 10^9 / L$ 的患者,差异有统计学意义($\chi^2 = 6.806, P < 0.05$,见表 4)。

表 1 恶性血液病患者化疗后出血情况的病种分布比较(例)

| 例数 | 诊断 | | | | | |
|------|-----|-----|-----|----|----|-----|
| | ALL | AML | NHL | MM | HL | MDS |
| 出血组 | 28 | 4 | 16 | 1 | 2 | 1 |
| 未出血组 | 68 | 6 | 14 | 19 | 15 | 3 |

表 2 不同年龄、性别、疾病状态的恶性血液病化疗后出血情况比较

| 例数 | 年龄 | | 性别 | | 疾病状态 | |
|------|-------|-------|----|----|------|------|
| | <55 岁 | ≥55 岁 | 男 | 女 | 缓解组 | 未缓解组 |
| 出血组 | 28 | 5 | 23 | 15 | 13 | 7 |
| 未出血组 | 68 | 39 | 29 | 35 | 33 | 39 |

注:出血组年龄差别比较 $\chi^2 = 12.462, P < 0.05$;出血组中缓解组与非缓解组出血比较 $\chi^2 = 8.318, P < 0.05$

表 3 出血级别与血小板减少程度的例数比较(例)

| 例数 | 未出血 | 1–2 级出血 | 3–4 级出血 |
|------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | < $20 \times 10^9 / L$ | ≥ $20 \times 10^9 / L$ | ≥ $20 \times 10^9 / L$ |
| 出血组 | 33 | 17 | 8 |
| 未出血组 | 35 | 2 | 1 |

注:血小板减少程度与出血级别差异比较, $\chi^2 = 13.38, P < 0.01$

表 4 化疗前不同白细胞计数的急性白血病患者化疗后出血程度比较(例)

| 例数 | 1–2 级出血 | 3–4 级出血 |
|------|------------------------|------------------------|
| | < $50 \times 10^9 / L$ | ≥ $50 \times 10^9 / L$ |
| 出血组 | 10 | 2 |
| 未出血组 | 2 | 6 |

注:白细胞计数与出血级别差异的比较, $\chi^2 = 6.806, P < 0.05$

3 讨论

恶性血液病患者的临床特征个体差异很大,主要治疗方法为化疗,出血为化疗后常见并发症,是常见致死原因之一,化疗后出血主要有以下原因^[3–4]:1) 骨髓抑制或恶性肿瘤血小板数量减少;2) 凝血功能障碍;3) 血液肿瘤细胞浸润及化疗对小血管、微血管壁产生的破坏。回顾分析本院近年来恶性血液病患者临床出血情况,总出血发生率 29.2%,急性白血病患者化疗后出血发生率高达 50%。<55 岁患者出血

发生率明显低于≥55岁患者,提示随着年龄增长出血风险增大,不同性别出血发生率没有差异,这与韩悦等^[5]研究的恶性血液病患者化疗后出血的临床分析结果一致。另外未缓解组恶性血液病患者出血发生率明显高于缓解组,提示疾病缓解状态为出血危险因素之一。我们认为未缓解组多为初诊或复发进展期患者,体内常存在大量白血病细胞或肿瘤细胞,这些细胞或其产物对血管壁的浸润易导致血管损伤而发生出血。

化疗后出血与血小板减少密切相关,观察血小板≥20×10⁹/L组的38例患者中,有3例(7.9%)出血,1~2级出血2例(5.3%),3~4级出血1例(2.6%);血小板小于20×10⁹/L组58例,有25例(43.1%)出血,1~2级出血17例(29.3%),3~4级出血8例(13.8%),说明血液病化疗出血以1~2级为多;血小板计数小于20×10⁹/L组的出血发生率明显升高。本研究还观察了排除化疗前后凝血功能障碍的40例急性白血病患者,其中白细胞计数≥50×10⁹/L发生3~4级出血的比例明显高于白细胞计数<50×10⁹/L的患者,这更加提示高白细胞是出血的高危因素之一。除此之外发热、感染及凝血功能紊乱可以影响血小板功能并导致血小板消耗增加而加重出血,当合并上述高危因素时,血小板预防性输注阈值应提高至20×10⁹/L^[7]。

综上所述,年龄≥55岁、疾病未缓解可能为恶性血液病患者出血的高危因素,白细胞计数≥50×10⁹/L可能为白血病患者严重出血的高危因素,血小板减少与恶性血液病患者出血相关,尤其是血小板<20×10⁹/L时,临床医师应综合患

者的年龄、疾病缓解、是否存在高白细胞等因素评估出血风险,及时输注血小板悬液补充血小板。

参 考 文 献

- [1] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准.第二版.北京:科学出版社,1998: 168-199.
- [2] Fogarty PF, Tarantino MD, Bransky A, et al. Selective validation of the WHO Bleeding Scale in patients with chronic immune thrombocytopenia. Curr Med Res Opin, 2012, 28-87.
- [3] Weldesadik AT. Clinical characteristics of patients with hematological malignancies at gondar university hospital, North West Ethiopia. Ethiop Med J, 2013, 51 (1) : 25-31.
- [4] Antun AG, Gleason S, Arellano M. Epsilon aminocaproic acid prevents bleeding in severely thrombocytopenic patients with hemato logical malignancies. Cancer, 2013, 119 (21) : 3784-3787.
- [5] 韩悦,吴德沛,张日.恶性血液病患者化疗后出血的临床分析.苏州大学学报:医学版,2005,25(5): 860-862.
- [6] Estcourt LJ, Stanworth SJ, Murphy MF. Platelet transfusions for patients with haematological malignancies: who needs them. Br J Haematol, 2011, 154(4) : 425-440.
- [7] Heddle NM, Cook RJ, Timmuth A. A randomized controlled trial comparing standard and low-dose strategies for transfusion of platelets (SToP) to patients with thrombocytopenia. Blood, 2009, 113 (7) : 1564-1573.

(2016-06-28 收稿,2017-01-10 修回)

本文编辑:李宜蔓

中国输血协会第七届理事会

理 事 长:朱永明

副理事长:孙绍忠 付涌水 郭永建 戴苏娜 杨文玲 叶世辉 胡丽华 杨江川 王东根

秘 书 长:戴苏娜(兼)

理 事(以下按姓氏笔划排序):

| | | | | | | | | |
|------|------|------|------|------|------|-------|------|-------|
| 丁彦杰 | 丁 恒 | 丁增桥 | 刁爱仁 | 于志静 | 于保田 | 马现君 | 王双林* | 王东根* |
| 王兆强* | 王兆福* | 王丽虹 | 王 明* | 王学锋 | 王宝燕 | 王 荣 | 王相荣* | 王秋锁 |
| 王 艳 | 王 健 | 王锦才* | 王 震* | 王露楠 | 车嘉琳 | 昆 昆 | 方奎明 | 尹 文 |
| 孔冬冬 | 石仲仁 | 卢 伟 | 卢 岑* | 叶世辉* | 史文君 | 付涌水* | 付道兴 | 白旭华* |
| 白连军* | 白 林* | 冯书礼* | 冯 凌* | 宁玉梅* | 毕星秀 | 吕运来 | 吕 豪 | 朱为刚 |
| 朱永明* | 刘永生 | 刘亚欣 | 刘 忠 | 刘建岭 | 刘绍辉* | 刘荣敏 | 刘嘉馨* | 闫晓鹏 |
| 许建荣* | 许 萍 | 孙 光* | 孙绍忠* | 孙 俊* | 孙常翔* | 纪宏文 | 杜 晓* | 李云龙* |
| 李少冬* | 李代红 | 李 刚* | 李莎燕* | 李海林 | 李 鸿 | 李碧娟* | 杨文玲* | 杨江川* |
| 杨向萍 | 杨 茂 | 杨征宇 | 杨金本 | 杨 勇 | 杨联昌* | 吴佳佳* | 吴晓晖 | 吴敦武 |
| 吴 婷 | 邱 艳 | 邱 峰* | 何广文 | 何秉洪 | 何 涛* | 何路军 | 余明权 | 余晋林 |
| 余 梅 | 邹峰嵘* | 汪 华 | 沃德勒 | 沈 军 | 宋秀宇* | 张天弼 | 张太江 | 张传国* |
| 张国强 | 张金磊 | 张 波 | 张建伟 | 张香兰 | 张洪斌* | 张海林 | 张循善 | 张陆韬宏* |
| 陈火玲 | 陈安心 | 林毅胜 | 欧阳熊妍 | 明 钰 | 易 峰 | 金秀国 | 周小玉* | 周俊* |
| 周雪丽 | 周道平* | 周德军 | 庞广礼* | 郑慧丽 | 赵生银* | 赵志坚* | 赵 楠 | 胡伟* |
| 胡克义 | 胡丽华* | 钟磊石 | 逢淑涛 | 宫济武* | 骆 群 | 秦 莉* | 秦 梅 | 秦敬民* |
| 贾 婧* | 夏 卫 | 夏 荣* | 原先根 | 钱宝华 | 徐 军 | 徐 红 | 徐笑红 | 李建凤* |
| 郭永建* | 郭兆富 | 郭艳丽 | 郭铭华 | 郭喜彪 | 郭豫学* | 唐 蓉群* | 黄丽平* | 黄国永 |
| 黄循伟 | 黄 聰 | 曹汝安 | 戚 海* | 崔 欣* | 符策瑛* | 梁 睽 | 梁晓华* | 彭继红 |
| 葛健民 | 董艳虹* | 蒋天伦 | 蒋绪亮 | 蒋德席* | 喻学华* | 喻 琼 | 程世东 | 傅雪梅* |
| 鲁国勇 | 曾 敏* | 谢 军 | 蔡旭兵 | 谭 敏 | 黎诚耀 | 伟 潘 | 潘若文 | 潘 健 |
| 穆士杰 | 戴苏娜* | | | | | | | |

(* 常务理事)

中国输血协会第七届监事会

监 事 长:刘 江

副监 事 长:安万新

监 事:吕杭军 李 芳

· 论著 ·

临床用血电子评估监控系统对临床用血的影响*

蒋璐茜 张伟慧 谢一唯 梅梦寒 陈秉宇[△](杭州医学院附属人民医院 浙江省人民医院 输血科,浙江 杭州 310014)

摘要:目的 评估临床用血电子评估监控系统对规范临床合理用血的功效。**方法** 本院自 2013 年 1 月推行用血前后电子评估监控系统,2015 年 1 月推行输血过程监控系统。统计分析 2012—2015 年手术量,围手术期用血情况,2013—2015 年输血不良反应发生情况。**结果** 2012—2015 年手术量持续增长,但围手术期平均用血量却呈下降趋势,2013—2015 年血液出库至输血开始间隔平均时间分别为 34.38 ± 11.15 , 35.35 ± 10.56 和 28.21 ± 5.262 min;2015 年间隔时间较前 2 年显著缩短, $P < 0.05$;2013—2015 年 2 h 内输血反馈率分别为 41.2%, 43.5% 和 72.3%, 2015 年较前 2 年反馈及时率明显升高, $P < 0.05$;2013—2015 年不良反应发生率分别为 1.48%, 1.21% 及 0.81%, 2015 年输血不良反应发生率显著下降, $P < 0.05$ 。**结论** 建立信息化输血管理系统,促进临床合理用血,提高用血安全。

关键词: 信息化系统; 监控; 评估; 用血安全**中图分类号:** R457.1 R857.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)1-0043-03

Effects of electronic assessment monitoring system on blood transfusion JIANG Luxi, ZHANG Weihui, XIE Yimei, MEI Menghan, CHEN Bingyu. Department of Blood Transfusion, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China
Corresponding author: CHEN Bingyu

Abstract: Objective To evaluate the efficiency of electronic assessment monitoring system on standardizing the reasonable use of transfusion. **Methods** Before-and-after electronic evaluation monitoring system was introduced in January 2013 while the process monitoring system of blood transfusion was introduced in January 2015. Data on peri-operative blood transfusion during 2012 to 2015 and the cases of adverse transfusion reactions during 2013—2015 were collected and analyzed. **Result** During 2012—2015, the operative quantity continued to grow, but the average amount of blood transfusion in the peri-operative has declined. The starting interval time of transfusion from 2013 to 2015 was 34.38 ± 11.15 , 35.35 ± 10.56 and 28.21 ± 5.262 min, respectively. The time of starting interval was significantly reduced ($P < 0.05$). Within 2 hours, the reported rates during 2013—2015 were 41.2%, 43.5% and 72.3% respectively. The rates of 2015 was significantly higher than those of the last two years ($P < 0.05$). The incidence of adverse reactions was 1.48%, 1.21% and 0.81% during 2013—2015. The incidence of 2015 was also significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** The electronic assessment monitoring system was highly efficacious in promoting the rational use of blood and improving blood safety.

Key words: reasonable use of blood; information-based system; monitoring evaluation

血液资源日趋紧缺,因手术用血无法保障而停刀的现象常有发生,医生患者深受困扰,另外异体血的输注存在很多风险,如输血相关感染、循环超负荷、输血相关急性肺损伤、移植植物抗宿主病等不良反应。如何将有限的血液资源用在刀刃上势在必行。健全的用血评估体系建立有利于临床用血的合理分配,全院范围临床用血全程电子监控评估系统的推行是否对临床用血产生影响,我们对近年外科围手术期用血情况进行分析以测成效。

1 资料和方法**1.1 一般资料** 自 2013 年 1 月,全院推行临床用血前后电子评估系统,统计全院 2012—2015 年围手术期用血情况,包

括手术量及各血液成分使用量等,评估系统在规范围手术期合理用血的功效。2015 年 1 月全院推行输血过程监控系统。统计分析 2013—2015 年全院输血不良反应病例,包括输血开始间隔时间、2 h 内反馈率等。

1.2 方法 依据《临床输血技术规范》中手术及创伤输血指南,我们设定 $Hb > 100$ g/L 及输血前未进行实验室检测为不合理用血。 Hb 在 70—100 g/L 之间,根据血液供应紧缺状况,积极联系临床医生,根据患者的贫血程度、心肺代偿功能、有无代谢率增高及年龄等因素决定是否用血。

1.2.1 输血前电子评估系统 临床医生申请手术备血或输血医嘱时,软件自动接合 LIS 系统,提取患者最新血常规、生化及凝血功能等相应指标,如红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积、血小板计数、凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原、白蛋白等,软件自动生成评估模式,提示医生进行输血前评估。输血科工作人员在接到输血申请时,依据患者近期相应指标进行二次审核,如认为申请要求欠合理,积极与申请医生沟通建议。

1.2.2 输血后电子评估系统 软件自动生成用血后评估模

doi: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.013

* 基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目资助(2016KYB012);△ 通讯作者:陈秉宇(1968.11-),男,副主任技师,主要从事输血管理信息化、血栓弹力图仪指导临床成分输血、血小板抗体的检测和高配合性输注、出凝血功能与成分输血的关系等研究。电话:0571-85893269,Email:woshilucy@126.com

式,提醒临床医生及时检测相应指标,予以输血后疗效评估。

1.2.3 输血过程监控系统 软件提示医护人员取回血液后尽早输注,并记录输血时间,监控输血开始间隔时间,观察输血开始时、输血 15 min 及输血结束各时间点患者的心率、呼吸、血压、体温以及是否发生过敏、发热、溶血等输血反应,自动生成输血反馈表,严密监测输血过程,及时上报输血不良反应,便于临床医生及输血科医生分析原因调整方案。

1.2.4 用血统计报表评估系统 软件有数据整合和预警功能,可提取整合当日检测血常规结果,提示血红蛋白值、血小板计数值偏低患者信息,通过预警告知,提示输血科相应血液入库计划的变更,也可根据病种、医生、科别、病区统计用血量和成分使用量的信息,便于反馈合理用血方案实施情况,提出改进意见。

表 1 2012–2015 年手术量及围手术期用血量

| 手术量 (人次) | 总用血量(mL) | | 红细胞(U) | | 血浆(mL) | | 血小板(U) | | |
|-------------|----------|-----------|--------|---------|--------|-----------|--------|-------|------|
| | 总量 | 平均量 | 总量 | 平均量 | 总量 | 平均量 | 总量 | 平均量 | |
| 2012 年 | 26 278 | 3 178 174 | 120.94 | 6 604 | 0.25 | 1 129 474 | 42.98 | 3 633 | 0.14 |
| 2013 年 | 28 315 | 3 423 786 | 120.92 | 7 243.5 | 0.26 | 966 286 | 34.13 | 5 044 | 0.18 |
| 2014 年 | 29 657 | 3 092 209 | 104.27 | 6 549 | 0.22 | 921 109 | 31.06 | 4 301 | 0.15 |
| 2015 年 | 31 414 | 2 879 040 | 91.65 | 6 321.5 | 0.20 | 865 740 | 27.56 | 3 745 | 0.12 |

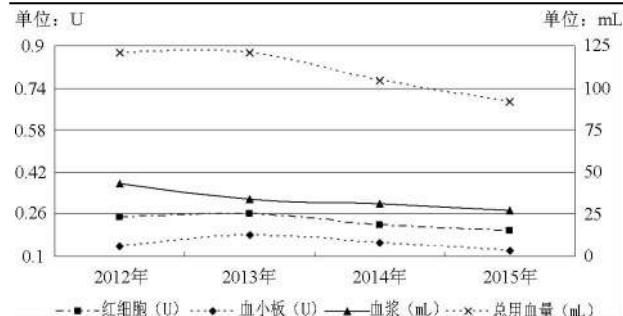


图 1 2012–2015 年平均用血量呈下降趋势

2.2 2013–2015 年输血不良反应事件发生情况 (表 2)

表 2 2013–2015 年输血不良反应汇总表

| 平均输血间隔 时间(min) | 不良反应发生 例数(人次) | 输血总例数 (人次) | 发生率 (%) | 2 h 内反馈 率(%) |
|-------------------|------------------|---------------|------------|-----------------|
| | | | | 2 h 内反馈 率(%) |
| 2013 年 | 34.38±11.15 | 85 | 5 713 | 1.48 |
| 2014 年 | 35.35±10.56 | 68 | 5 636 | 1.21 |
| 2015 年 | 28.21±5.262 | 47 | 5 780 | 0.81 |

注: 血液出库后至输血开始间隔时间发现,2013 年与 2014 年比较 $F = 1.115, P > 0.05$, 而 2015 年较前 2 年比较 F 值分别为 4.493, 4.030, $P < 0.05$; 2 h 内输血反馈率,2015 年较前 2 年比率, t 分别为 1131, 970.6, $P < 0.05$, 而 2015 年输血不良反应发生率也较前 2 年相比, t 分别为 10.93, 4.042, $P < 0.05$

3 讨论

临床输血治疗是对急、危、重患者有效的抢救措施,但同时又是 1 把双刃剑,存在潜在的风险,Murphy 和 Napolitano 等^[1-2]曾指出围术期输血的收益数据缺乏证实,却与术后感染、术后复发,乃至死亡密切相关。当前临床用血持续紧张,医疗机构通过临床用血评估指标的把控,加强合理用血管理,已成为新办法^[3]。但目前国内医务工作者输血理念陈旧,贫血纠正仍过多依赖于异体血输注^[4],因此利用基于大数据的信息化管理系统加强血液管理^[5-6],推动临床合理用血工作是 1 项重要而艰巨的任务。本院已全面实现输血的信息化管理,传递和整合各科室数据信息。自 2013 年以来,

1.3 数据分析 依据《全国无偿献血表彰奖励办法(2014 年修订)》计算患者总用血量:1 U 红细胞按 200 mL 血量计算,1 U 血小板按 200 mL 血量计算,血浆按实际血量计算。采用 GraphPad Prism 5 统计软件,输血不良反应发生率、反馈率采用 Chi-square 检验。随机选取当年 100 人次开始输血间隔时间采用 t 检验进行统计分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2012–2015 年围手术期用血情况 推行临床用血电子评估系统后,虽然每年总手术量持续增长,但是平均用血量却呈下降趋势(表 1、图 1)。

全院推行临床用血前后电子评估系统,该系统已作为医院临床信息系统的重要组成部分,接入医院数据库,实时共享信息,通过用血评估,拒绝明显不合理用血申请,及时进行输血疗效评估,加强临床用血管理,提高临床用血合理性和安全性。我们分析外科围手术期用血情况以评估软件成效,数据显示,2012–2015 年全院手术量大幅上涨,但围手术期用血情况却明显好转,手术患者平均用血量呈下降趋势。这应归结于多方面的努力,如临床医生合理用血意识加强、微创手术技术引入,手术出血减少等,但临床用血电子评估系统的成效,尤其是用血管理及数据分析方面功不可没。我们已在原软件基础上加入患者手术前后血红蛋白值自动提取分析的功能,并努力与手术麻醉软件系统接合,数据整合分析,这将更有益于后期合理用血的评价管理。

输血可以引发多种不良反应,临幊上以发热反应和过敏反应最为常见,临幊医生需及时联合输血科医生对输血不良反应进行分析,并调整用血方案。因此,输血不良反应及时反馈是用血安全的保障。2015 年 1 月,全院在原用血评估系统基础上引入了输血过程监控系统,该系统对出库后的血液在临床治疗过程实施全程监控,包括记录开始输注时间,血液出库至输血开始间隔时间,输血过程中患者心率、呼吸、血压、体温及是否发生不良反应等,并实时记录数据,自动生成输血反馈单,确定后提交上报,因此,大大提高了我院输血反馈率及反馈及时率。经全院 2013–2015 年输血不良反应事件发生情况比较发现,2015 年不良反应发生率明显减少($P < 0.05$)。孙小纯和张珍丹等^[7-8]曾认为输血次数和发血至输血开始间隔时间等是患者发生输血不良反应的主要影响因素,用血评估软件和输血过程监控软件的推行加强了输血监管,减少了不合理用血次数,缩短了输血开始间隔时间,优化输血反馈上报工作,方便医生及时评估改进用血方案,因此我们认为本院输血不良反应发生减少得益于临床用血电子评估监控系统的推行。

血液作为 1 种稀缺资源,在临床治疗中发挥了不可替代的作用。如何将有限的血液资源进行合理利用,并提高输血的安全性是所有医护人员共同的目标。临床用血信息化监控评估系统的建立,提高了临床合理用血率及用血安全性,但也存在提升空间,我们应更加重视并建立职能部门监督机制和临床反馈机制等进一步优化临床用血电子评估监控系统。

参 考 文 献

- [1] Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, et al. Increased mortality, postoperative morbidity, and cost after red blood cell transfusion in patients having cardiac surgery. *Circulation*. 2007, 116 (22): 2544-2552.
- [2] Ikeda H, Fujii N, Setoguchi H. Clinical practice guideline: red blood cell transfusion In adult trauma and critical care. *J Trauma*. 2009, 67 (6): 1439-1442.
- [3] 庄健美,黄俊,谈春荣.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.
- [4] 孙启凤,马欣,张正芳,等.6 所医疗机构临床用血现状调研.中国输血杂志,2014,27(3):234-237.
- [5] 张普山,叶汉深,钟彩霞.全程管理的临床输血信息管理系统的构建.中国输血杂志,2013,26(7):677-678.
- [6] 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.
- [7] 孙小纯,欧兴义,林伟强,等.100 例输血不良反应的相关因素及对策分析.检验医学与临床,2016,13(1):66-67.
- [8] 张珍丹,郑琳,王卫华.2012-2014 年宁波地区输血不良反应调查分析.中国输血杂志,2015,28(11):1394-1396.

(2016-06-01 收稿,2017-01-15 修回)

本文编辑:李宜蔓

· 论著 ·

自身免疫性溶血性贫血患者输血治疗的回顾性分析

王立新 陈春霞 魏曾珍 谭金哲 吴秋月 秦莉[△](四川大学 华西医院 实验医学科,四川 成都 610041)

摘要:目的 了解自身免疫性溶血性贫血(AIHA)患者住院期间输血情况,评估不同血液制品输注疗效及安全性。**方法** 回顾性分析 2011–2014 年入院的 72 名 AIHA 患者的血清学特征,按照接受交叉配血相合或者最小不相合的血制品、输注的血制品种类评估输注的疗效及输血不良反应情况。**结果** 72 名患者中 46 名患者接受共计 131 次输血治疗,无 1 例发生输血不良反应,其中输血疗效可评估的 89 次,总有效率 56.2%,部分有效率 37.1%,无效率 6.7%。按照交叉配血结果分为相合输注组与最小不相合输注组,其中相合输注组有效率 54.5%,部分有效率 41%,无效率 4.5%,最小不相合输注组有效率 56.7%,部分有效率 35.8%,无效率 7.5%,2 组的疗效差异没有统计学意义。按输注的红细胞成分分为洗涤与非洗涤组,洗涤组有效率 62.5%,部分有效率 31.3%,无效率 6.2%,非洗涤组有效率 54.8%,部分有效率 38.4%,无效率 6.8%,2 组的疗效差异没有统计学意义。**结论** AIHA 患者出现严重贫血症状,在临床药物起效前,应及时进行输血治疗。采用同型非洗涤红细胞或同型洗涤细胞输注都是相对安全的,不需等待洗涤红细胞悬液耽误抢救。另外,在无法鉴定同种抗体但需要紧急输血的情况下,输注最小不相合的血制品也是相对安全的。

关键词: 自身免疫性溶血性贫血; 输血; 回顾分析

中图分类号:R457.1 R556.6⁺² **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0045-04

Retrospective analysis on transfusion efficiency in patients with autoimmune hemolytic anemia WANG Lixin, CHEN Chunxia, WEI Zengzhen, TAN Jinzhen, WU Qiuyue, QIN Li. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University 610041, China. Corresponding author: QIN Li

Abstract: Objective To analyze the transfusion efficiency of autoimmune hemolytic anemia patients (AIHA) and to provide evidence for clinical blood transfusion. **Methods** The serological characteristics and the incidence of adverse transfusion reactions of 72 patients with idiopathic or secondary AIHA from 2011 to 2014 were analyzed retrospectively. The efficiency and safety of RBC transfusion were evaluated based on the different kinds of infused blood components and the compatibility of blood products. **Results** Forty six patients were transfused 131 times without any adverse transfusion reactions. There were 89 transfusions that can be analyzed. The total efficiency rate, total partial efficiency rate and total inefficiency rate were 56.2%, 37.1% and 6.7%, respectively. According to the results from the crossmatch, the patients were divided into either compatible group or minimal mismatched group. The efficiency rate, the partial efficiency rate and the inefficiency rate in compatible group was 54.5%, 41% and 4.5%, respec-

tively, while in the minimal mismatched group, the rates were 56.7%, 35.8% and 7.5%, respectively. There were no significant differences of transfusion efficacy ($P>0.05$) in two groups. According to the different kinds of infused blood products, the patients were divided into washed RBC group and non-washed RBC group. The efficiency rate, partial efficiency rate and inefficiency rate in washed group (62.5%, 31.3% and 6.2%) were not significantly different from the non-washed group (54.8%, 38.4% and 6.8%). **Conclusion** Transfusion is efficient for the AIHA patients with severe anemia. Transfusion with the non-washed and washed RBC of the same ABO types is relatively safe for patients with severe anemia. Minimally mismatched blood product is comparatively safe when antibody cannot be identified in an emergency.

Key words: autoimmune hemolytic anemia; transfusion efficiency; retrospective analysis

自身免疫性溶血性贫血(AIHA)是由于患者体内B淋巴细胞免疫调节紊乱,产生自身抗体和(或)活化的补体,并结合于红细胞膜上,致红细胞破坏加速而引起的1组溶血性贫血,其发病率约为1~3/100 000^[1~3]。AIHA患者中相当一部分患者在发病时有重度甚至极重度的贫血,需要及时进行输血治疗,然而由于自身抗体会干扰血型鉴定和抗体筛选,短时间内无法鉴定自身抗体和同种抗体以获得相合的血制品,输血科常会通知临床医务人员血型鉴定困难或者配血困难,另外考虑到输血后的溶血风险,很多医务人员不敢给患者进行输血,延误了患者的治疗。我们回顾了四川大学华西医院2011~2014年收治入院的72名AIHA患者临床资料,对该疾病患者的输血风险和输血效果进行了评估。

1 对象与方法

1.1 对象 2011~2014年四川大学华西医院收治入院的AIHA患者共72名,其中男性34名,女性38名,年龄15~85岁,中位年龄(53.1±17.6)岁。诊断标准按照文献[1]进行。

1.2 方法

1.2.1 血型鉴定、抗体筛选和直接抗球蛋白试验 戴安娜血型卡(西班牙Grifols,批号:201107,201109等)、抗球蛋白卡(西班牙Grifols公司,批号:201107,201110等)、戴安娜抗体筛选细胞和LISS液(西班牙Grifols公司,批号:20110207,201109等),自配反定型红细胞。

1.2.2 交叉配血和输血 使用戴安娜抗球蛋白卡进行抗球蛋白法配血,BASO试剂盒进行凝聚胺法配血,选用相合或者最小不相合的血制品进行输注。

1.2.3 输血效果评估 客观评估输注红细胞成分后24 h内Hb增长水平来评估红细胞输注疗效。具体方法是按照输注每U红细胞后Hb水平增量(g/L)×60/患者体重(kg)为计算标准,每U输血后Hb增加量≥5 g/L为红细胞输注有效,(0~5)g/L为红细胞输注部分有效,≤0 g/L为红细胞输注无效^[4]。

1.2.4 红细胞输注安全性评价 查阅病历,根据红细胞成分输注后是否发生溶血性输血反应进行判定。

1.2.5 统计学方法 采用SPSS 19.0软件进行RXC卡方检验数据分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的基本情况

2.1.1 疾病特征及临床转归 患者的基本情况见表1,输血患者中有2名死亡,1名患者入院即全身情况差,器官功能

衰竭,抢救无效死亡。另1名直接死因为误吸抢救无效死亡。未输血的1名患者死亡,死亡原因为高龄患者合并肺部感染,胸腔积液,肾功不全,高血压。

表1 2011~2014年本院72名AIHA患者的基本情况

| | 输血组 | 未输血组 |
|-------------|-----------|-----------|
| 男性(n) | 17 | 17 |
| 女性(n) | 29 | 9 |
| 年龄(岁) | 50±16.7 | 58.5±18.1 |
| 初治(n) | 30 | 10 |
| 复发(n) | 16 | 16 |
| 入院平均Hb(g/L) | 47.5±14.6 | 95.7±35.5 |
| 抗体类型 | | |
| 温抗体型(n) | 40 | 26 |
| 冷抗体型(n) | 5 | 0 |
| 混合型(n) | 1 | 0 |
| 直接抗球蛋白试验 | | |
| 阳性(n) | 41 | 15 |
| 阴性(n) | 5 | 4 |
| 未检测(n) | 0 | 7 |
| 临床结局 | | |
| 好转(n) | 39 | 24 |
| 自动离院(n) | 5 | 1 |
| 死亡(n) | 2 | 1 |

2.2 患者输血情况

2.2.1 输血指征 未输血的患者中Hb最低为47 g/L,经过糖皮质激素治疗,Hb逐渐上升。输血的患者入院时为重度甚至极重度的贫血,最低Hb为18 g/L。

2.2.2 输血前检查 抗体筛选结果中如3组筛选细胞结果阳性格局一致,患者既往无输血史妊娠史,考虑为自身抗体;结果不一致其中有阴性结果,考虑为同种抗体;结果阳性强度不一致且患者有输血史或妊娠史,则不排除合并同种抗体。输血前抗体筛选结果见表2。

表2 AIHA患者的输血前检查

| | 抗体筛选(n) | 百分比(%) |
|----------|---------|--------|
| 阳性 | 111 | 84.73 |
| 自身抗体 | 26 | 19.85 |
| 同种抗体 | 12 | 9.16 |
| 不能排除同种抗体 | 73 | 55.73 |
| 阴性 | 20 | 15.27 |
| 合计 | 131 | 100 |

2.2.3 输血效果评估

2.2.3.1 交叉配血方式选择与血制品选择 根据抗筛选结果,抗筛选阴性以及有明确同种抗体的患者使用抗球法交叉配血,选择相合血液制品输注;对于有自身抗体以及无法排除同种抗体的患者,使用抗球法或凝聚胺交叉配血选择最小不相合的血液制品输注。血液制品种类由临床医师决定。

2.2.3.2 效果评估 131次输血中有89次在输血前后有Hb记录,根据输注血液制品的不同以及交叉配血结果的差

异,对患者输血效果进行比较。另外,考虑到患者由于基础疾病的不同会影响输血效果,对 2 组患者基本疾病构成比进行了比较。结果输洗涤与非洗涤组,以及交叉配血相合与最小不相合组之间的基础疾病构成没有差别,输血效果也没有差异($P>0.05$),见表 3 和 4。

表 3 不同配血方式的输血有效性

| 分组 | 配血相合(n) | 配血最小不相合(n) |
|----------|---------|------------|
| 基础疾病* | | |
| 血液系统肿瘤 | 3 | 6 |
| 自身免疫性疾病 | 1 | 10 |
| 感染 | 11 | 40 |
| 合并其他系统疾病 | 7 | 11 |
| 输血效果** | | |
| 有效 | 12 | 38 |
| 部分有效 | 9 | 24 |
| 无效 | 1 | 5 |

注: * $\chi^2 = 4.017, P=0.260$, ** $\chi^2 = 0.002, P=0.961$

表 4 不同血制品成分的输血有效性

| | 洗涤红细胞(n) | 非洗涤红细胞(n) |
|----------|----------|-----------|
| 基础疾病* | | |
| 血液系统肿瘤 | 2 | 7 |
| 自身免疫性疾病 | 3 | 8 |
| 感染 | 6 | 45 |
| 合并其他系统疾病 | 5 | 13 |
| 输血效果** | | |
| 有效 | 40 | 10 |
| 部分有效 | 28 | 5 |
| 无效 | 5 | 1 |

注: * $\chi^2 = 3.262, P=0.353$, ** $\chi^2 = 0.233, P=0.630$

2.2.4 输血安全性评价 46 名患者住院期间共计输血 131 次,输注血液成分 313.5 U。除 1 名患者血型鉴定困难,病情紧急输注 O 型红细胞悬液以外,其他均为同型相合或最小不相合红细胞悬液。经查阅病历,无 1 例发生溶血性输血反应。

2 讨论

绝大多数的 AIHA 患者属于温抗体型,治疗首选肾上腺皮质激素,对肾上腺皮质激素治疗无效时,使用脾切除。肾上腺皮质激素和脾切除无效的难治性 AIHA,使用 CD20 单克隆抗体以及免疫抑制剂(硫唑嘌呤、环孢菌素、环磷酰胺)等可能有效。冷凝集综合征的患者激素治疗效果差,也不主张脾切除,主要是治疗原发病以及注意保暖^[5, 6]。由于妊娠或多次输血,约 12%~40% 的 AIHA 患者血清中合并同种抗体,并且有的自身抗体具有同种抗体特性^[7, 8],因此对于药物治疗有效且临床症状稳定的患者,应尽量减少成分血输注避免输血反应,加重溶血。对于发病即为极重度贫血的患者(本文输血组最低为 18 g/L),或者合并有心血管疾病的患者,由于缺氧导致组织供氧不足,出现嗜睡昏迷等精神症状,则需要立即进行输血治疗^[9]。本文回顾的患者,未输血组 Hb 最低为 47 g/L,经过糖皮质激素治疗,Hb 逐渐上升。输血组的

患者确定为同种抗体的有 9.16%,不能排除的为 55.73%,这些患者输注了交叉配血相合或者最小不相合的血制品后,输血效果较好并未出现输血不良反应。

一直以来,AIHA 患者的输血对输血科工作人员和临床医护人员都是相当棘手的问题,一边是患者极低的 Hb 急需输血,另一边是自身抗体的干扰无法获得相合的血制品,有时甚至血型都无法鉴定,还有输血后溶血的风险。我们对华西医院 2011~2014 年所有住院 AIHA 患者的输血情况进行了分析认为,1)一直以来,对 AIHA 患者是否只能输注洗涤红细胞都有争议^[10, 11],本次研究认为输注非洗涤红细胞悬液与洗涤红细胞悬液,没有明显差异,AIHA 患者也可以输注红细胞悬液;2)AIHA 患者由于自身抗体的干扰,可能导致抗体筛选阳性,交叉配血困难,处理方法是通过自身吸收的方法来发现或鉴定同种抗体。然而当患者处于极重度贫血时,难以获得足够的红细胞进行自身吸收或者患者曾近期输血,无法进行自身吸收。有观点认为,选择最小不相合,即选择凝聚最弱的血液制品或者采用 Rh 系统(C、c、D、E、e)同型,再能够兼顾 MNSs 系统输注也相对安全^[12~14]。本文是回顾性研究,根据配血记录采用的是凝聚胺和抗球蛋白交叉配血的方法,选用最小不相合的血制品,这种输注方法目前看来有一定的安全性,能保障紧急情况的输血。另一方面,本研究 AIHA 的患者分组后例数较少是不足,接下来还需要收集更多的数据以及进行一些前瞻性的研究,为其输血提供更安全的保障。

参 考 文 献

- [1] 张之南, 郝玉书, 赵永强. 血液病学. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 423~434.
- [2] Bottiger LE, Westerholm B. Acquired haemolytic anaemia. I. Incidence and aetiology. Acta Med Scand, 1973, 193(3): 223~226.
- [3] Klein NP, Ray P, Carpenter D, et al. Rates of autoimmune diseases in Kaiser Permanente for use in vaccine adverse event safety studies. Vaccine, 2010, 28(4): 1062~1068.
- [4] 于洋, 孙晓琳, 马春姬, 等. 61 例自身免疫性溶血性贫血患者血型清学特征及输血疗效评估. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(5): 1275~1279.
- [5] Jaime-Pérez JC, Rodríguez-Martínez M, Gómez-de-León A, et al. Current Approaches for the treatment of autoimmune hemolytic anemia. Archivum Immun et Therap Experiment, 2013, 61(5): 385~395.
- [6] 邵宗鸿, 郑萌颖. 自身免疫性溶血性贫血治疗进展. 临床血液学杂志, 2016, 29(11): 1~6.
- [7] Issitt PD, Combs MR, Bumgarner DJ, et al. Studies of antibodies in the sera of patients who have made red cell autoantibodies. Transfusion, 1996, 36(6): 481~486.
- [8] 胡利亚. 自身免疫性溶血性贫血自身抗体血型特异性的鉴定及其临床意义. 中国输血杂志, 1989, 2(1): 7~9.
- [9] Packman C. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. Blood Rev, 2008, 22(1): 17~31.
- [10] 朱家宝, 自身免疫性溶血性贫血的输血治疗体会. 中国医疗前沿, 2008, 3(8): 82.
- [11] 魏中菲, 许亚茹, 李明瀚, 等. 不同输血方法治疗自身免疫性溶

- 血性贫血疗效的 Meta 分析. 中国煤炭工业医学杂志, 2015, 18(7): 1191-1196.
- [12] Leger RM, Garratty G. Evaluation of methods for detecting alloantibodies underlying warm autoantibodies. Transfusion, 1999, 39(1): 11-16.
- [13] 汪传喜, 田兆嵩. AIHA 病人的输血前检查和成分输血. 中国输血杂志, 2000, 13(1): 61-65.
- [14] Barros MM, Blajchman MA, Bordin JO. Warm autoimmune hemolytic anemia: recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. Transfus Med Rev, 2010, 24(3): 195-210.

(2016-07-16 收稿, 2017-01-08 修回)

本文编辑:夏玲

• 论著 •

膝关节手术患者临床用血分析

罗圆圆 陈麟凤 马春娅 张晓娟 付丽辉 王可 封彦楠 汪德清[△](解放军总医院输血科, 北京 100853)

摘要: 目的 了解本院骨科膝关节手术用血情况, 为临床合理用血提供依据。**方法** 回顾性分析 2015 年上半年在本院行膝关节手术接受输血的 181 例患者的临床资料。分析成分血及自体血使用情况, 及对输血相关因素如性别、血型、年龄、凝血指标和住院天数等进行统计学分析。**结果** 181 例患者女性较多为 141 例, AB 型患者最少, 不同性别和血型与平均输血量比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。平均输血量与手术类型和年龄有显著相关性($P<0.05$), 双膝置换较单膝手术用血量大, 50~70 岁年龄段平均输血量最大。备自体血患者输血后 RBC、Hb 和 Hct 值较输血前有所下降但均在正常值范围内。未输血浆患者术后凝血指标均正常, 随着输血总量的增加, 平均住院天数增多。**结论** 年龄和手术类型与平均输血量有明显的相关性, 我们应严格把握输血适应症, 选择安全节约的用血方式。

关键词: 膝关节手术; 输血; 合理用血; 自体输血**中图分类号:** R457.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)1-0048-03

Investigation and analysis of blood transfusion for clinical patients with knee surgery LUO Yuanyuan, CHEN Linfeng, MA Chunya, ZHANG Xiaojuan, FU Lihui, WANG Ke, FENG Yannan, WANG Deqing. Department of Transfusion, PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Abstract: Objective To understand the situation on blood transfusion during orthopedic knee surgery and to provide a reasonable basis for the clinical use of blood. **Methods** In the first half of 2015 in our hospital, 181 cases of knee surgical patients who received blood transfusion screening were retrospectively analyzed. An analysis was conducted on the usage of blood components and autologous blood. Related factors, such as gender, blood type, age, length of hospital stay and coagulation indices, were statistically analyzed. **Results** Among 181 cases of patients, women accounted for 141. AB patients constituted the least numbers. Gender and blood group played no statistically significant difference on blood use ($P>0.05$). The average amount of blood transfusion significantly correlated with the type of surgery and age ($P<0.05$). Blood transfusion mostly involved more than the knee during knee surgeries. The 50~70 age group used the largest average amount of blood transfusion. After autologous blood transfusion in patients with RBC, Hb and Hct value, these values decreased compared with that before transfusion, but were within normal range. Coagulation indices were normal after surgery, with a notable increase in the total amount of blood transfusion and an increase in the number of average days of hospitalization. **Conclusion** Age and type of surgery are correlated with the average amount of blood transfusion. Blood transfusion indications should be strictly monitored, in order to choose a safe way to save blood resources.

Key words: knee surgery; transfusion; rational use of blood; autologous blood transfusion

近年来, 随着医疗水平的提高及经济能力的提升, 膝关节置换术的例数不断增加, 然而用血量也在快速的上升。随着输血技术的不断成熟, 输血已经成为术中出血及术后康复的一种常用治疗方法。然而输血并非绝对安全, 临床中也会

有不合理用血情况, 并且近年来血液资源非常紧缺, 现对本院 181 例膝关节手术患者进行回顾性统计分析, 了解其用血情况, 掌握膝关节手术患者血液成分使用的特点及规律, 为临床用血提供依据, 合理用血, 减少不必要的输血, 节约血液资源。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年上半年在本院行膝关节(包括单膝和双膝置换术)手术患者,在各项记录完整的病例中筛选 181 例,男性 40 例,女性 141 例,平均年龄(64.37 ± 8.62)岁。

1.2 方法 应用数据库导出 2015 年 1~6 月行膝关节手术的数据,对 Excel 表中数据进行筛选。

1.2.1 纳入标准 1)性别、年龄、血型、术前、术后检测、凝血指标、住院时间等记录齐全。2)输血记录完整。3)入住骨科,行择期手术。4)初步诊断是膝关节炎。5)血液来源均为自采。6)术前血红蛋白及凝血指标均正常。

1.2.2 排除标准 1)患者手术记录(仅包括文中相关统计数据)有任何一条不全者。2)不用手术的膝关节炎。3)多种疾病诊断,膝关节炎不是主要的。4)中途停止输血,如过敏等原因。

1.3 血液来源 所筛选患者所用异体血来源均为自采成分制备,所输血液成分以 U 为计量单位(1 U 红细胞悬液:150 mL, 1 U 血浆:100 mL, 1 U 机采血小板:250 mL, 1 U 全血:200 mL)。

1.4 统计学分析 数据用 CHESS 统计软件分析,数据用($\bar{x} \pm s$)表示,表 2、表 5 和表 7 采用 F 检验,其余均用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 性别与输血量的关系 见表 1。

表 1 性别与平均输血量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| | n | 平均输血量(U) |
|----|-----|-------------|
| 男 | 40 | 6.46 ± 3.46 |
| 女 | 141 | 6.75 ± 2.78 |
| 合计 | 181 | 6.69 ± 2.93 |

注: $t = -0.550$, $P > 0.05$

2.2 血型与输血量的关系 见表 2。

表 2 不同血型间平均输血量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| | n | 平均输血量(U) |
|------|----|-------------|
| O 型 | 54 | 6.39 ± 2.85 |
| A 型 | 50 | 6.48 ± 2.44 |
| B 型 | 59 | 6.93 ± 3.33 |
| AB 型 | 18 | 7.34 ± 3.10 |

注: $F = 0.6972$, $P > 0.05$

2.3 单膝和双膝手术间不同血液成分输血量的比较 见表 3。

表 3 单膝与双膝置换不同血液成分平均输血量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| | n | 悬浮红细胞(U) | 血浆(U) | 机采血小板(U) | 自体血(U) |
|------|-----|---------------|---------------|---------------|----------------|
| 单膝手术 | 58 | 2.77 ± 1.27 | 2.51 ± 1.01 | 0 | 0.40 ± 0.58 |
| 双膝手术 | 123 | 3.31 ± 1.54 * | 3.19 ± 1.61 * | 0.06 ± 0.11 * | 0.37 ± 0.54 ** |

* t 分别为 -2.323、-2.952、-4.148, 均为 $P < 0.05$; ** t = 0.341, $P > 0.05$

2.4 备自体血患者输血前后血常规相关指标比较 见表 4。

表 4 备自体血患者输血前后血常规相关指标的比较 ($n=48$, $\bar{x} \pm s$)

| | 输血前 | 输血后 |
|---------------------------|---------------|---------------|
| RBC($\times 10^{12}/L$) | 4.40 ± 0.25 | 3.94 ± 0.32 |
| Hb(g/L) | 132.04 ± 8.25 | 118.02 ± 9.73 |
| Hct(L/L) | 0.39 ± 0.02 | 0.34 ± 0.03 |

注:t 分别为 7.848、7.614、9.608, 均为 $P < 0.05$

2.5 年龄与输血量的关系 见表 5。

表 5 不同年龄组间平均输血量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| | n | 平均输血量(U) |
|---------|-----|---------------|
| <50 岁 | 9 | 6.07 ± 3.19 |
| 50~70 岁 | 127 | 7.20 ± 3.29 * |
| >70 岁 | 45 | 5.37 ± 1.42 |

注: $F = 6.6664$, $P = 0.0016$, 与 >70 岁组比较, * $P < 0.01$, 其余两两比较均为 $P > 0.05$

2.6 输血后相关凝血指标的比较 见表 6。

表 6 输血后相关凝血指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| | 输血浆 | 未输血浆 | 输血浆≤5 U | 输血浆>5 U |
|---------|--------------|----------------|--------------|-----------------|
| PT(s) | 14.94 ± 1.31 | 13.3 ± 0.1 * | 17.2 ± 4.03 | 14.56 ± 0.92 ** |
| APTT(s) | 42.0 ± 6.08 | 33.85 ± 1.75 * | 48.63 ± 8.81 | 40.89 ± 5.29 ** |

* t 分别为 5.442、5.802, 均为 $P < 0.05$; ** t 分别为 3.252、4.248, $P < 0.05$

2.7 住院天数与输血量的关系 见表 7。

表 7 不同输血总量与住院天数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| | n | 平均住院天数(d) |
|--------|----|--------------|
| <5 U | 64 | 9.41 ± 2.46 |
| 5~10 U | 81 | 10.62 ± 2.85 |
| >10 U | 36 | 12.86 ± 3.96 |

注: $F = 15.45$, $P < 0.01$

3 讨论

在血液资源稀缺的情况下,外科手术用血量仍占首位,尤其是骨科手术,输血仍为目前临床不可替代的治疗方法之一,输血虽能解决贫血、纠正凝血,但输血存在很大的风险,近年来仍不断有输血相关传染病的报导,在 2005~2007 年间,多市报导无偿献血的 HIV 感染率接近为 0.01%^[1~2],因此在我们血液紧张的环境中提倡零输血或自体输血。我们需要加强临床输血管理,指导临床医务人员合理安全用血^[3],据报道,我国外科系统的不合理用血>50%^[4],趋于临床不合理用血情况的存在,现统计膝关节手术相关患者资料,分析其手术输血相关因素,为日后指导临床用血提供依据。

众所周知,影响临床输注量的因素很多,本文中比较了性别、血型、手术类型和年龄与平均输血量的关系,统计结果显示平均输血量与性别和血型无关,与手术类型和年龄有明显的相关性。有研究表明在大量输血的患者中,女性患者、AB 血型患者明显低于男性患者和其他血型患者用量,原因是女性患者对贫血的耐受较男性强^[5],AB 型患者在人群中占有数少,本数据中女性人数较多,而 AB 型用血人数最少,但其平均输血量差异无统计学意义。双膝置换在悬浮红细胞、血浆和血小板的用量上均比单膝要多,因双膝置换手术时间长,患者失血量大,多数病例需要大量输血更要配合血

小板的输注,但两者术前自体血的储备几乎没有差异,骨科患者一般无多发性疾病,术前检测各项指标多为正常,因此术中用血可能性较大的多选择备自体血。随着年龄的增大,尤其是老年人对失血的耐受较弱,本统计将年龄分为三个阶段,50~70 岁年龄段平均输血量最多,可能与这个年龄段双膝置换人数多有关,70 岁以上老人患双膝关节炎,考虑其年龄、体质及创伤耐受性多会分 2 次手术进行膝关节置换,因此出现单次手术备血量少,也可能与本文数据量小有关。

自体输血治疗技术是目前国家卫生部倡导的一项重要举措,其对缓解当前全国各大医院用血紧张出现“血慌”的局面起到一定作用^[6],储存式自身输血不仅可以避免同种异体输血引起的输血传播性疾病,血型抗体不良反应、移植物抗宿主病及抑制免疫功能等不良结果,并且对稀有血型血源困难或因输同种血产生异性抗体者、特殊疾病导致的配血困难等不失为一种解决方法^[7]。本数据中共有 48 例患者备自体血,输血后 RBC、Hb 和 Hct 较输血前均有所下降,但仍在正常值范围内,未达到再次输血的指标,由于术中失血及大量液体的补给,术后会出现短暂性贫血,但很快会恢复到正常状态。因此,对于膝关节手术患者,只要患者条件允许,术前评估输血量适合,储存式自体输血是最安全、便捷的输血方式,既能缩短家属互助的等待时间又能降低输血风险。

虽然血浆的禁忌症是扩容和补蛋白,但在临幊上仍有使用不规范者,有些医生认为血浆比晶体或胶体液扩容更好。本文统计了膝关节手术未用血浆的患者,其术后凝血指标仍在正常值范围内。本文对输血浆≤5 U 和输血浆>5 U 做了比较,输血浆≤5 U 稍显凝血功能异常,而输血浆>5 U 凝血指标均在正常值范围内,可能与本科严格把握输血适应症有关,也可能因为数据量小,有待统计大量数据进行考证。血浆的主要功能是治疗凝血障碍,因此只要我们严格把握适应症会节约很多血浆资源。本文筛选病例用血量稍多且多数

患者输了血浆,主要由于所筛选的患者年龄较大,并且 68% 的患者是双膝置换还有部分是翻修患者,术中出血量和术后引流较多,并有部分患者在术中及术后出现凝血功能异常。本文统计了输血总量与平均住院天数的关系,随着输血总量的增加,平均住院天数增多,输注总量>10 U, 多为老年患者或手术创伤大、术中出血量大,因此会增加其住院周期。

通过本文的数据分析,我们在日常工作中应掌握膝关节手术的输注特征,指导临床医生科学合理的选择血液成分输注,对于手术患者,贫血是一种常见的临床症状^[8],因此我们要有效利用血液资源,减少不必要的输血。

参 考 文 献

- [1] 李秋凤. 安顺市无偿献血人群艾滋病感染情况的分析. 重庆医学, 2007, 36(2): 65- 66.
- [2] 刘运保. 1999-2006 年清远市无偿献血者血液传染病标志物感染状况分析. 中华临床防治医学杂志, 2007, 2(1): 44-45.
- [3] 姚锁良, 刘玮, 贺晓婵, 等. 138 例大量输血临床分析. 临床血液学杂志, 2012, 25(6): 350-351.
- [4] 张素芬, 唐利民. 临床输血现状分析. 中国临床医生, 2003, 31(11): 33-35.
- [5] 周慧盈, 赵玮, 罗蔓琳. 2005 年与 2010 年大量输血患者临床用血对比分析. 国际检验医学杂志, 2012, 33(9): 1075-1077.
- [6] 贾福苏, 陈进凡, 李萍. 自体输血技术在骨科手术中的应用. 西部中医药, 2014, 27(7): 96-98.
- [7] 黎劲, 覃玉荣, 韦柳红. 自体输血在 RhD 阴性患者手术中的应用. 中国输血杂志, 2005, 18(1): 49.
- [8] 王英东, 梁苗苗. 骨科择期手术患者术前贫血的评估与管理. 山东医药, 2015, 55(20): 95-97.

(2016-10-10 收稿, 2017-01-22 修回)

本文编辑:闻欣

本刊编委评选的 2016 年“中国输血 10 大热点”、 “国际输血 10 大潮流(趋势)”

中国输血 10 大热点

- 自体输血的进一步普及(1)
- 临床血液供应依然短缺(2)
- 血液管理信息化的建设与应用(3)
- 血站实现核酸检测全覆盖(4)
- 临床用血规范化质量管理(5)
- 输血不良反应的监测和预防(6)
- 血型基因检测与基因分型研究(7)
- 无偿献血管理模式与无偿献血长效机制的探寻(8)
- 输血医学成为二级学科国家推荐标准(8)
- 患者血液管理(8)

(括号内数字为得票数排序)

2017 年国际输血 10 大潮流(趋势)

- 精准化 个体化输血(1)
- 新的输血相关传染病病原体的筛查(2)
- 血液代用品及人工血液研究(3)
- 细胞治疗的临床应用(4)
- 输血医学大数据:献血者和患者数据库的建立和应用(5)
- 患者血液管理(6)
- 新媒体用于献血者招募和献血服务(6)
- 干细胞的基础研究和临床应用(7)
- 无血医疗(无血手术)(8)
- 输血不良反应的监测与血液预警(9)

· 论著 ·

· 调查研究 ·

广西造血干细胞骨髓库 HLA-A、B、DRB1 高分辨等位基因多态性研究*

黄惠妮 裴永峰 李恒聪 申卫东(南宁中心血站 南宁输血医学研究所,广西南宁 530003)

摘要:目的 研究广西地区人群造血干细胞捐献志愿者的 HLA-A、B、DRB1 位点在高分辨水平上的等位基因多态性、基因频率及单体型分布特征。**方法** 应用 PCR-直接测序法(PCR-SBT)对中国造血干细胞捐献者资料库(CMDP)广西分库,3 431 名无个体血缘关系健康供者的 HLA-A、B、DRB1 等位基因进行高分辨分型。**结果** 共检出 HLA-A 等位基因 43 个,B 等位基因 80 个和 DRB1 等位基因 42 个,HLA-A-B-DRB1 单体型检测到 1507 种。其中频率>0.05 的常见等位基因,包括 5 种 HLA-A: A^{*}11:01, A^{*}24:02, A^{*}02:03, A^{*}02:07, A^{*}33:03;6 种 HLA-B:B^{*}46:01, B^{*}40:01, B^{*}15:02, B^{*}58:01, B^{*}13:01, B^{*}38:02;7 种 HLA-DRB1:DRB1^{*}15:01, DRB1^{*}16:02, DRB1^{*}09:01, DRB1^{*}03:01, DRB1^{*}12:02, DRB1^{*}14:54, DRB1^{*}15:02。487 种 HLA-A-B 单体型中,79 种单体型呈现显著的正连锁不平衡(ALD>0, HF≥1.09×10⁻⁴, χ²>3.84),5 种表现为强连锁不平衡(RLD>0.40),18 种单体型的频率>0.01;597 种 HLA-B-DRB1 单体型中,68 种单体型呈现显著的正连锁不平衡(ALD>0, HF≥1.09×10⁻⁴, χ²>3.84),8 种表现为强连锁不平衡(RLD>0.40),16 种单体型的频率高于 0.01;1 507 种 HLA-A-B-DRB1 单体型中,统计分析三座位单体型最常见的是 A^{*}33:03-B^{*}58:01-DRB1^{*}03:01(0.058 8)。**结论** 广西地区人群 HLA-A、B、DRB1 位点在高分辨水平上获得等位基因频率、单体型分布数据及相关遗传参数,为今后开展临床造血干细胞移植、中国人群 CWD 表的制订和骨髓库最适库容的评估等研究及相关疾病研究提供本地区信息。

关键词:HLA-A/B/DRB1; 高分辨基因分型; 基因/单体型频率; 广西

中图分类号:R457.1¹ R446.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0051-05

Polymorphism analysis of HLA-A, -B, -DRB1 alleles and haplotypes at high-resolution level in donors from marrow donor program registry of Guangxi HUANG Huini, PEI Yongfeng, LI Hengcong, SHEN Weidong. Nanning Blood Center, Nanning Institute of Transfusion Medicine, Nanning 530003, China.

Abstract: Objective To analyze the genetic polymorphism, allele frequencies and the distribution of haplotypes of HLA-A, B and DRB1 alleles by analyzing the hematopoietic stem cell donors (HSC) in native population of Guangxi. **Methods** Polymerase chain reaction-sequence-based typing method (PCR-SBT) was conducted for HLA-A, B and DRB1 high-resolution genotyping on 3 431 unrelated healthy hematopoietic stem cell donors from Guangxi sub-registry of Chinese National Marrow Donor Program (CMDP). **Results** A total of 43 HLA-A alleles, 80 B alleles, and 42 DRB1 alleles were detected, and 1 507 A-B-DRB1 haplotypes were statistically inferred. Of these, high frequency alleles found at a frequency of ≥5% were 5 HLA-A (A^{*}11:01, A^{*}24:02, A^{*}02:03, A^{*}02:07, A^{*}33:03), 6 HLA-B (B^{*}46:01, B^{*}40:01, B^{*}15:02, B^{*}58:01, B^{*}13:01, B^{*}38:02), 7 HLA-DRB1 (DRB1^{*}15:01, DRB1^{*}16:02, DRB1^{*}09:01, DRB1^{*}03:01, DRB1^{*}12:02, DRB1^{*}14:54, DRB1^{*}15:02). Among 487 kinds of HLA-A-B haplotypes, there were 18 kinds of frequencies that were higher than 0.01, and 79 kinds with statistically significant and positive linkage disequilibrium (ALD > 0, HF acuity 1.09 × 10⁻⁴, χ²>3.84). Moreover, among 597 kinds of the HLA-B-DR haplotypes, there were 16 kinds of frequencies higher than 0.01, and 68 kinds with statistically significant and positive linkage disequilibrium. Statistical analysis of the three-locus haplotypes showed that A^{*}33:03-B^{*}58:01-DRB1^{*}03:01(0.058 8) was the most predominant. **Conclusion** Gene frequencies and haplotypic associations within HLA-A, -B, and -DRB1 loci were determined at a high-resolution allelic level in native population of Guangxi and should provide useful native information on the correlation of HLA with bone marrow donor registry, composition of the CWD alleles in the Chinese Han population, and estimation of optimal bone marrow registry size and disease association studies.

Key words: HLA-A/B/DRB1; high resolution genotyping; gene/haplotype frequency; Guangxi

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)基因复合体长度>4 Mb,位于人类第 6 染色体短臂上(6p21.3),并包含超过 220 个基因座位^[1]。HLA 是人体多态性最丰富的基

因系统,故被称为“人类体内的化学指纹”。截止 2016 年 7 月份在 IMGT/HLA 最新发布数据库已确定的 HLA 等位基因已达 15 020 个,其中 HLA-A 位点为 3 492 个、HLA-B 位点为 4 358 个、HLA-DRB1 位点为 1 929 个。2016 年 2 月公布的中国人群 CWD 2.2 表中 HLA-A 位点 153 个,HLA-B 位点 216 个,HLA-DRB1 位点 132 个,由于 HLA 的高度多态性显示了遗传

背景的多样性,不同种族、地域的人群中,HLA 基因型和频率分布具有明显的差异,而且由于连锁不平衡使得 HLA 单体型的分布也存在显著的种族和地域差异^[2,3]。本研究应用 PCR-直接测序法(polymerase chain reaction-sequence-based typing, PCR-SBT)对 3 431 名无个体血缘关系健康的中国造血干细胞捐献者资料库(CMDP)广西分库志愿者的 HLA-A、B、DRB1 等位基因进行高分辨分型,研究广西地区人群的 HLA-A、B、DRB1 等位基因及单体型分布特征,为进一步造血干细胞移植的患者寻找到健康相配的造血干细胞供者、疾病相关性及人类遗传学等研究提供基础资料。

1 资料与方法

1.1 研究对象 3 431 名无关供者造血干细胞标本均由中 国造血干细胞捐献者资料库(CMDP)广西分库,于 2012~2015 年采集自广西地区的造血干细胞志愿者人群,相互间无 血缘关系,符合捐献者健康征询表的要求,年龄在 18~45 岁(3431 名供者是仅含测序及补充 SSSP 试验后能够出高分 的标本)

1.2 标本 为统一采集的静脉血 3~5 mL。用 EDTA 抗凝并 -80°C 冷冻保存。主要仪器与试剂:DNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN,批号:142327927 等),TaqDNA 聚合酶(Promega 公司,批号:CK5401 等),SeCore HLA-A、B、DRB1 高分辨基因分型试剂盒(美国 Invitrogen,批号:HLA-A 156897,HLA-B 156890,HLA-DRB1 1584441 等),Thermol NanoDrop-1000 微量分光光度计,ABI-9700 型 PCR 扩增仪,电泳仪(Bio-rad,美国),ABI-3730 基因测序仪(美国)。

1.3 实验方法 采用 DNA 提取试剂盒提取标本血液中基 因组 DNA,并测定 DNA 浓度纯度,保证 DNA 浓度(40~100) ng/μL,OD_{260/280} 为 1.6~1.9。严格按照 SeCore 测序试剂盒说 明书进行 HLA-A、B、DRB1 点的 PCR 扩增及测序反应产物, 应用 ABI-3730 基因测序仪进行 SBT 检测,获得高分辨基因 分型。对无法确定高分辨 HLA 分型结果的标本,则选择序 特异性测序引物(sequence specific sequencing primer,SSSP) 对该标本再次测序,获得相应的高分辨结果。

1.4 数据质控 在已知分型结果标本中随机抽取 12% 进行 室内质控,错误率<0.1%;同时参加中华骨髓库(CMDP)的 每年室间质控,错误率<0.1%。

1.5 数据分析 3 431 例标本 HLA-A、B、DRB1 等位基因频 率、Hardy-Weinberg 平衡检验、单体型频率采用最大数学预 期值算法(expectation-maximization, EM)和两座位 HLA 单体型 连锁不平衡参数的计算应用 Arlequin 3.5 软件进行计算, Hardy-Weinberg(HW)平衡检验检测水准为 0.05。本研究不 计算负连锁不平衡单体型和三座位单体型连锁不平衡参数 值。

2 结果

2.1 HLA-A、B、DRB1 位点基因频率和特征 共检出 A、B、 DRB1 位点等位基因分别为 43,80 和 42 个,总共 165 种等位 基因,高分辨等位基因频率见表 1。其中频率>0.05 的常见 等位基因,包括 5 种 HLA-A: A*11:01, A*24:02, A*02:03,

A*02:07, A*33:03;6 种 HLA-B:B*46:01, B*40:01, B*15: 02, B*58:01, B*13:01, B*38:02;7 种 HLA-DRB1:DRB1*15:01, DRB1*16:02, DRB1*09:01, DRB1*03:01, DRB1*12:02, DRB1*14:54, DRB1*15:02。其累积频率分别为 0.759 0, 0.626 8 和 0.658 8。

表 1 广西地区人群 HLA-A、B、DRB1

| 高分辨等位基因频率 (n=2×3 431) | | | | | | | |
|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------|---------|
| A 等位 基因 | 频率 | B 等位 基因 | 频率 | B 等位 基因 | 频率 | DRB1 等位基因 | 频率 |
| 01:01 | 0.010 9 | 07:02 | 0.007 0 | 40:02 | 0.014 6 | 01:01 | 0.005 7 |
| 01:03 | 0.000 1 | 07:05 | 0.011 5 | 40:03 | 0.001 5 | 01:02 | 0.000 4 |
| 02:01 | 0.048 2 | 08:01 | 0.004 2 | 40:06 | 0.007 7 | 03:01 | 0.088 8 |
| 02:03 | 0.117 9 | 13:01 | 0.093 6 | 40:40 | 0.000 1 | 04:01 | 0.002 0 |
| 02:05 | 0.000 6 | 13:02 | 0.023 9 | 40:55 | 0.000 1 | 04:02 | 0.001 6 |
| 02:06 | 0.030 6 | 14:01 | 0.000 1 | 41:02 | 0.000 1 | 04:03 | 0.013 3 |
| 02:07 | 0.113 4 | 14:02 | 0.000 6 | 44:02 | 0.002 6 | 04:04 | 0.003 6 |
| 02:09 | 0.000 3 | 15:01 | 0.013 6 | 44:03 | 0.008 5 | 04:05 | 0.044 7 |
| 02:10 | 0.000 6 | 15:02 | 0.107 4 | 45:01 | 0.000 4 | 04:06 | 0.010 2 |
| 02:11 | 0.000 1 | 15:03 | 0.000 3 | 46:01 | 0.141 1 | 04:07 | 0.000 7 |
| 03:01 | 0.012 5 | 15:05 | 0.000 4 | 48:01 | 0.011 7 | 04:08 | 0.000 3 |
| 03:02 | 0.000 9 | 15:07 | 0.001 0 | 48:03 | 0.007 0 | 04:10 | 0.000 7 |
| 11:01 | 0.291 9 | 15:10 | 0.000 1 | 49:01 | 0.000 3 | 07:01 | 0.037 5 |
| 11:02 | 0.045 5 | 15:11 | 0.004 4 | 50:01 | 0.001 6 | 08:01 | 0.000 1 |
| 11:04 | 0.000 1 | 15:12 | 0.006 4 | 51:01 | 0.044 7 | 08:02 | 0.003 2 |
| 23:01 | 0.000 7 | 15:17 | 0.000 4 | 51:02 | 0.007 3 | 08:03 | 0.031 9 |
| 24:02 | 0.137 4 | 15:18 | 0.003 4 | 51:06 | 0.000 4 | 08:09 | 0.002 9 |
| 24:03 | 0.001 5 | 15:19 | 0.002 0 | 51:07 | 0.000 1 | 09:01 | 0.101 1 |
| 24:07 | 0.004 4 | 15:21 | 0.000 7 | 51:08 | 0.000 1 | 10:01 | 0.015 7 |
| 24:08 | 0.000 3 | 15:25 | 0.016 2 | 51:59 | 0.000 1 | 11:01 | 0.048 8 |
| 24:10 | 0.001 0 | 15:27 | 0.001 9 | 52:01 | 0.011 5 | 11:04 | 0.001 2 |
| 24:20 | 0.001 6 | 15:32 | 0.000 3 | 54:01 | 0.016 6 | 11:06 | 0.003 9 |
| 24:68 | 0.000 1 | 15:58 | 0.000 1 | 55:01 | 0.000 3 | 11:39 | 0.000 1 |
| 25:01 | 0.000 1 | 18:01 | 0.001 3 | 55:02 | 0.044 4 | 12:01 | 0.015 7 |
| 26:01 | 0.023 9 | 18:02 | 0.000 4 | 55:04 | 0.000 3 | 12:02 | 0.083 8 |
| 29:01 | 0.009 6 | 27:02 | 0.000 1 | 55:07 | 0.000 1 | 13:01 | 0.004 7 |
| 29:02 | 0.000 3 | 27:04 | 0.013 1 | 55:12 | 0.000 3 | 13:02 | 0.015 9 |
| 30:01 | 0.023 0 | 27:05 | 0.002 2 | 56:01 | 0.012 7 | 13:07 | 0.000 1 |
| 30:04 | 0.000 3 | 27:06 | 0.000 6 | 56:03 | 0.000 1 | 13:12 | 0.035 6 |
| 31:01 | 0.011 8 | 27:07 | 0.000 4 | 56:04 | 0.006 1 | 14:54 | 0.081 5 |
| 32:01 | 0.003 9 | 35:01 | 0.010 5 | 56:10 | 0.000 3 | 14:03 | 0.001 5 |
| 33:01 | 0.000 3 | 35:02 | 0.000 7 | 57:01 | 0.004 4 | 14:04 | 0.013 7 |
| 33:03 | 0.098 4 | 35:03 | 0.003 6 | 58:01 | 0.099 4 | 14:05 | 0.021 1 |
| 34:01 | 0.000 6 | 35:05 | 0.005 8 | 59:01 | 0.000 3 | 14:07 | 0.000 6 |
| 66:01 | 0.000 1 | 35:08 | 0.000 3 | 67:01 | 0.002 6 | 14:12 | 0.000 1 |
| 68:01 | 0.002 2 | 37:01 | 0.003 8 | 81:01 | 0.000 1 | 14:18 | 0.002 5 |
| 68:02 | 0.000 3 | 38:01 | 0.005 4 | 81:02 | 0.000 1 | 14:25 | 0.000 1 |
| 68:38 | 0.000 1 | 38:02 | 0.064 0 | | | 15:01 | 0.133 9 |
| 69:01 | 0.000 1 | 39:01 | 0.012 4 | | | 15:02 | 0.061 2 |
| 74:01 | 0.003 6 | 39:05 | 0.001 5 | | | 15:04 | 0.000 6 |
| 74:03 | 0.000 1 | 39:09 | 0.001 2 | | | 16:01 | 0.000 1 |
| 74:05 | 0.000 1 | 39:15 | 0.001 6 | | | 16:02 | 0.108 6 |
| 74:13 | 0.000 1 | 40:01 | 0.121 4 | | | | |

2.2 HLA-A、B、DRB1 基因座 Hardy-Weinberg 平衡检验 研究广西地区群体的 HLA-A、B、DRB1 座位基因,以高分辨结果判断,结果 P 值均<0.05,差异有统计学意义,表明本研究对象各位点基因型分布偏离 Hardy-Weinberg 平衡(表 2)。

2.3 HLA-A、B、DRB1 位点 3 座位单体型频率和特征 通过计算实际检测到 487 条 HLA-A-B,597 条 HLA-B-DRB1,1 507 条 HLA-A-B-DRB1 单体型,分别占单体型理论总数的 55.78%

(487/873), 54.99% (597/1 053), 28.54% (1 507/5 281), 单体型的频率>0.01 分别是 HLA-A-B 18 条、HLA-B-DRB1 16 条和 HLA-A-B-DRB1 10 条。其中频率最高的前 30 条 HLA-A-B、HLA-B-DRB1、HLA-A-B-DRB1 单体型及其频率见表 3。广西地区人群三座位单体型频率分布特征见表 4。最常见的 HLA-A-B-DRB1 单体型为 A^{*} 33:03-B^{*} 58:01-DRB1^{*} 03:01 (0.054 6)。

表 3 30 种常见的 HLA-A、B、DRB1 单体型频率

| 单体型 | 频率 | 单体型 | 频率 | 单体型 | 频率 |
|---|--------|--|--------|---|--------|
| A [*] 02:07-B [*] 46:01 | 0.0801 | B [*] 58:01-DR [*] 03:01 | 0.0753 | A [*] 33:03-B [*] 58:01-DR [*] 03:01 | 0.0588 |
| A [*] 33:03-B [*] 58:01 | 0.0779 | B [*] 46:01-DR [*] 09:01 | 0.0519 | A [*] 11:01-B [*] 15:02 | 0.0294 |
| A [*] 11:01-B [*] 15:02 | 0.0699 | B [*] 15:02-DR [*] 15:01 | 0.0375 | A [*] 02:07-B [*] 46:01-DR [*] 09:01 | 0.0268 |
| A [*] 11:01-B [*] 13:01 | 0.0486 | B [*] 15:02-DR [*] 12:02 | 0.0372 | A [*] 11:01-B [*] 15:02-DR [*] 12:02 | 0.0244 |
| A [*] 11:01-B [*] 40:01 | 0.0449 | B [*] 46:01-DR [*] 14:54 | 0.0349 | A [*] 02:07-B [*] 46:01-DR [*] 14:54 | 0.0203 |
| A [*] 02:03-B [*] 38:02 | 0.0393 | B [*] 13:01-DR [*] 15:01 | 0.0306 | A [*] 30:01-B [*] 13:02-DR [*] 07:01 | 0.0175 |
| A [*] 24:02-B [*] 40:01 | 0.0290 | B [*] 13:01-DR [*] 16:02 | 0.0237 | A [*] 11:01-B [*] 13:01-DR [*] 15:01 | 0.0167 |
| A [*] 11:01-B [*] 46:01 | 0.0235 | B [*] 38:02-DR [*] 16:02 | 0.0209 | A [*] 02:03-B [*] 38:02-DR [*] 16:02 | 0.0167 |
| A [*] 30:01-B [*] 13:02 | 0.0200 | B [*] 13:02-DR [*] 07:01 | 0.0207 | A [*] 11:01-B [*] 13:01-DR [*] 16:02 | 0.0131 |
| A [*] 24:02-B [*] 13:01 | 0.0170 | B [*] 40:01-DR [*] 15:01 | 0.0176 | A [*] 11:01-B [*] 46:01-DR [*] 09:01 | 0.0106 |
| A [*] 02:03-B [*] 40:01 | 0.0158 | B [*] 40:01-DR [*] 16:02 | 0.0172 | A [*] 29:01-B [*] 07:05-DR [*] 10:01 | 0.0083 |
| A [*] 02:03-B [*] 55:02 | 0.0152 | B [*] 38:02-DR [*] 15:02 | 0.0143 | A [*] 33:03-B [*] 58:01-DR [*] 13:02 | 0.0082 |
| A [*] 11:01-B [*] 51:01 | 0.0137 | B [*] 40:01-DR [*] 09:01 | 0.0122 | A [*] 11:01-B [*] 40:01-DR [*] 15:01 | 0.0081 |
| A [*] 11:01-B [*] 55:02 | 0.0133 | B [*] 55:02-DR [*] 16:02 | 0.0104 | A [*] 02:03-B [*] 55:02-DR [*] 16:02 | 0.0070 |
| A [*] 11:01-B [*] 38:02 | 0.0124 | B [*] 40:01-DR [*] 11:01 | 0.0102 | A [*] 24:02-B [*] 13:01-DR [*] 15:01 | 0.0066 |
| A [*] 24:02-B [*] 46:01 | 0.0114 | B [*] 15:02-DR [*] 16:02 | 0.0100 | A [*] 11:01-B [*] 15:02-DR [*] 16:02 | 0.0063 |
| A [*] 02:03-B [*] 13:01 | 0.0107 | B [*] 58:01-DR [*] 13:02 | 0.0099 | A [*] 11:01-B [*] 58:01-DR [*] 03:01 | 0.0061 |
| A [*] 02:03-B [*] 46:01 | 0.0102 | B [*] 51:01-DR [*] 14:04 | 0.0099 | A [*] 02:03-B [*] 38:02-DR [*] 15:02 | 0.0061 |
| A [*] 24:02-B [*] 51:01 | 0.0094 | B [*] 07:05-DR [*] 10:01 | 0.0098 | A [*] 02:07-B [*] 46:01-DR [*] 16:02 | 0.0060 |
| A [*] 24:02-B [*] 15:02 | 0.0093 | B [*] 46:01-DR [*] 16:02 | 0.0091 | A [*] 24:02-B [*] 40:01-DR [*] 15:01 | 0.0056 |
| A [*] 02:01-B [*] 40:01 | 0.0091 | B [*] 40:01-DR [*] 04:05 | 0.0088 | A [*] 11:01-B [*] 38:02-DR [*] 15:02 | 0.0054 |
| A [*] 29:01-B [*] 07:05 | 0.0089 | B [*] 40:01-DR [*] 15:02 | 0.0085 | A [*] 11:01-B [*] 55:02-DR [*] 13:12 | 0.0054 |
| A [*] 11:01-B [*] 58:01 | 0.0080 | B [*] 40:01-DR [*] 12:02 | 0.0084 | A [*] 11:01-B [*] 40:01-DR [*] 16:02 | 0.0054 |
| A [*] 24:02-B [*] 55:02 | 0.0074 | B [*] 13:01-DR [*] 12:02 | 0.0083 | A [*] 24:02-B [*] 13:01-DR [*] 16:02 | 0.0054 |
| A [*] 11:02-B [*] 15:02 | 0.0067 | B [*] 40:01-DR [*] 08:03 | 0.0079 | A [*] 02:03-B [*] 38:02-DR [*] 15:01 | 0.0047 |
| A [*] 11:01-B [*] 15:25 | 0.0066 | B [*] 55:02-DR [*] 13:12 | 0.0079 | A [*] 02:07-B [*] 46:01-DR [*] 08:03 | 0.0046 |
| A [*] 11:02-B [*] 27:04 | 0.0064 | B [*] 38:02-DR [*] 15:01 | 0.0075 | A [*] 24:02-B [*] 40:01-DR [*] 13:12 | 0.0046 |
| A [*] 11:02-B [*] 40:01 | 0.0064 | B [*] 54:01-DR [*] 04:05 | 0.0072 | A [*] 11:01-B [*] 40:01-DR [*] 14:54 | 0.0045 |
| A [*] 02:03-B [*] 15:02 | 0.0064 | B [*] 46:01-DR [*] 08:03 | 0.0071 | A [*] 11:01-B [*] 51:01-DR [*] 14:04 | 0.0044 |
| A [*] 24:02-B [*] 54:01 | 0.0057 | B [*] 15:02-DR [*] 14:54 | 0.0069 | A [*] 02:03-B [*] 46:01-DR [*] 14:54 | 0.0044 |

表 4 广西人群 HLA-A、B、DRB1 单体型频率分布

(n=2×3 431)

| 频率范围 | HLA-A-B | | HLA-B-DR | | HLA-A-B-DR | |
|--------------|---------|---------|----------|---------|------------|---------|
| | n | 累积频率(%) | n | 累积频率(%) | n | 累积频率(%) |
| > 0.01 | 18 | 55.28 | 10 | 42.45 | 10 | 23.43 |
| 0.01–0.001 | 115 | 33.7 | 139 | 43.92 | 181 | 42.66 |
| 0.001–0.0001 | 343 | 10.96 | 437 | 13.56 | 1266 | 33.56 |
| < 0.0001 | 11 | 0.07 | 11 | 0.07 | 50 | 0.36 |
| 总和 | 487 | 100 | 597 | 100 | 1507 | 100 |

2.4 连锁不平衡参数 本组资料仅选取频率 $\geq 1.09 \times 10^{-4}$ 的有意义单体型计算连锁不平衡参数。结果显示, 分别有 79 条 HLA-A-B 单体型和 68 条 HLA-B-DRB1 单体型呈现显著的正连锁不平衡 (ALD>0, HF $\geq 1.09 \times 10^{-4}$, $\chi^2 > 3.84$) ; 其中 A^{*} 33:03-B^{*} 58:01、A^{*} 02:01-B^{*} 15:11 等 5 条 HLA-A-B 单体型和 B^{*} 38:01-DR^{*} 07:01、B^{*} 39:15-DR^{*} 15:01 等 8 条 HLA-B-DRB1 单体型表现为强连锁不平衡 (RLD>0.40) (表 5)。

3 讨论

表 2 广西地区人群 HLA-A、B、DRB1 高分辨等位基因多态性的 HW 平衡检验

| | 观察值 | 期望值 | P |
|----------|----------|----------|----------|
| HLA-A | 0.821 33 | 0.852 60 | 0.007 7 |
| HLA-B | 0.912 56 | 0.924 20 | 0.000 00 |
| HLA-DRB1 | 0.907 90 | 0.925 05 | 0.000 00 |

HLA 基因复合体在不同地域和种族基因多态性差异比

较大, 作为人体组织细胞的遗传标志, 在抗原识别、免疫反应与调控起着非常重要的作用。HLA-A、B、DRB1 已被大量的临床研究公认是目前与造血干细胞及器官移植成活率密切相关的 3 个功能基因^[4-6]。目前有关中国人群 HLA-A、B、DRB1 在陕西^[7]、辽宁^[8] 等不同地区、不同种族的高分辨等位基因频率分布已有众多报道, 然而尚未见广西地区人群 HLA 等位基因和单体型频率相关参数, 本研究首次报道了广西地区的 HLA-A、B、DRB1 高分辨分型数据及相关遗传参数, 对广西地区 HLA 多态性分布情况及移植供受对的选择提供了数据参考, 也是对中国人群高分辨等位基因频率数据的 1

个补充。

表 5 高度连锁不平衡的 HLA-A-B、HLA-B-DRB1 单体型

| HLA-A-B、B-DRB1 | 频率($\times 10^{-6}$) | ALD | RLD | r^2 | χ^2 | P |
|------------------|------------------------|-------|-------|-------|-----------|-------|
| A*74:01-B*51:01 | 3038 | 0.002 | 0.707 | 0.039 | 267.706 | <0.01 |
| A*02:01-B*15:11 | 7 804 | 0.002 | 0.580 | 0.029 | 199.813 | <0.01 |
| A*33:03-B*58:01 | 77 877 | 0.068 | 0.763 | 0.576 | 3 950.652 | <0.01 |
| A*24:02-B*56:04 | 3229 | 0.002 | 0.448 | 0.008 | 53.223 | <0.01 |
| A*02:03-B*15:19 | 1 581 | 0.001 | 0.514 | 0.004 | 27.747 | <0.01 |
| B*39:15-DR*15:01 | 638 | 0.001 | 0.475 | 0.002 | 16.087 | <0.01 |
| B*38:01-DR*07:01 | 3 775 | 0.003 | 0.495 | 0.034 | 233.868 | <0.01 |
| B*13:02-DR*07:01 | 20 679 | 0.014 | 0.620 | 0.242 | 1 659.387 | <0.01 |
| B*67:01-DR*16:02 | 1 723 | 0.001 | 0.626 | 0.008 | 58.082 | <0.01 |
| B*07:05-DR*10:01 | 9 762 | 0.006 | 0.524 | 0.200 | 1 373.140 | <0.01 |
| B*15:27-DR*04:06 | 1 311 | 0.001 | 0.456 | 0.038 | 262.770 | <0.01 |
| B*51:01-DR*14:04 | 9 891 | 0.006 | 0.477 | 0.067 | 462.199 | <0.01 |
| B*51:01-DR*14:03 | 726 | 0.001 | 0.477 | 0.067 | 48.567 | <0.01 |

本研究采用 PCR-SBT 方法对 2012~2015 年广西地区 3431 名健康中国造血干细胞捐献者资料库 (CMDP) 广西分库志愿者人群, 进行 HLA-A、B、DRB1 高分辨等位基因分型检测, 检测出新等位基因有 6 个, 已提交 (WHO) HLA 因子命名委员会, 等待确认和命名, 未纳入此次统计中, 其中有 3 个新等位基因的论文, 已经发表在相应的刊物上^[9~11]。结果检出 HLA-A、B、DRB1 等位基因分别为 43, 80 和 42 种, 各个座位中多态性最高的 A*02 组, B*15 组和 DR*04 组, 分别有 8, 16 和 9 种等位基因。3 个位点频率>0.05 的常见等位基因累计频率分别为 0.7590, 0.6268 和 0.6588, 表明本群体中 HLA 基因多态性较为丰富, 但常见等位基因的分布仍比较集中。本次研究得到的广西地区人群 5 种常见的 HLA-A 基因(频率>0.05, 下同)有 A*11:01, A*24:02, A*02:07, A*02:03, A*33:03(频率从高到低, 下同), 其分布与南方汉族^[12]、北方汉族^[13]人群的高分辨基因频率的研究结果相一致, A*11:01 是本次研究的最常见型, 同时也是南方^[12]、北方^[13]、江苏-浙江-上海^[14]汉族人群的最常见型, 而不同于韩国^[15]的 A*24:02 和利比亚^[16]及台湾人群^[17]和西班牙人^[18]的 A*02:01。HLA-B 是 3 个座位中基因多态性最强的位点, 6 种常见的 HLA-B 基因为 B*46:01, 40:01, B*15:02, B*13:01, B*58:01, B*38:02。除了 B*38:02 在广西人群中频率>0.05, HLA-B 基因其他常见型与中国南方和北方汉族人群相一致。B*46:01 为最常见型, 同时 B*46:01 和 B*40:01 是南方人群和北方人群的 2 个常见基因型。7 种常见的 HLA-DRB1 等位基因为 DRB1*15:01, DRB1*16:02, DRB1*09:01, DRB1*12:02, DRB1*03:01, DRB1*14:54, DRB1*15:02。与中国南方汉族常见型^[12](DRB1*09:01, DRB1*15:01, DRB1*12:02, DRB1*08:03, DRB1*11:01, DRB1*04:05, DRB1*03:01)相比, 广西地区 HLA-DRB1 常见型中增加了 DRB1*16:02, DRB1*14:54, DRB1*15:02, 而 DRB1*08:03 和 DRB1*04:05 频率较低(<0.05)。本次研究 HLA-DRB1 最常见型是 DRB1*15:01, 而在中国南方和北方人群中的最常见型 DRB1*09:01 仅排在本次研究常见型的第 3 位。说明广西地区人群 HLA 等位基因存在明显的地区人群特征。

3431 例 CMDP 广西分库志愿者个体中 HLA-A、B、DRB1 基因分布均偏离 Hardy-Weinberg 平衡($P<0.05$), 类似现象

在一些研究中亦有报道^[19], 可能与标本量、罕见基因的干扰、标本选择压力和高分辨细化实验结果等有关, 有望随着样本量的扩大以及更多的 HLA 数据支持而得以纠正。孙继丽等^[20]以 12 000 例骨髓库标本进行统计学分析, 提出在单体型频率<0.000123 时结果不一定可靠, 唯一的解决方法是继续增加样本量, 本研究偏离 Hardy-Weinberg 平衡的主要原因是仅对 3 431 例标本的高分辨试验结果进行 Hardy-Weinberg 平衡检验, 样本量较低。

本研究检测到 43 个 A 位点等位基因、80 个 B 位点等位基因和 42 个 DRB1 位点等位基因, 理论上可组成 3 483 种 A-B、3 402 种 B-DRB1 和 146 286 种 A-B-DRB1 单体型, 但其中有 86.02%(2 996/3 483) 的 A-B、82.45%(2 805/3 402) 的 B-DRB1 和 98.97%(144 779/146 286) 的 A-B-DRB1 单体型未观察到或单体型频率< 10^{-6} , 提示广西地区人群中 HLA-A、B、DRB1 等位基因存在显著的连锁不平衡。HLA-A-B-DRB1 单体型在无关供者造血干细胞移植的匹配中提供重要信息, 本研究中单体型多态性较多并且大多数频率<0.1%, 说明无关供者与接受者在 6 个位点的匹配很低。广西地区人群 HLA-A、B、DRB1 位点 3 座位单体型中频率高于 0.005 的单体型有 22 种。最常见的 HLA-A-B-DRB1 单体型为 A*33:03-B*58:01-DRB1*03:01(0.0588), 与浙江汉族人群相同^[21], 而我国南方^[12, 22]、北方汉族^[13]和毛南族^[23]人群最常见的单体型 A*02:07-B*46:01-DRB1*09:01 在广西地区人群中频率为 0.0268, 仅排在常见单体型的第 3 位。广西地区人群中呈现强连锁不平衡的 5 条 A-B 和 8 条 B-DRB1 单体型中, 属于常见型的单体型仅为 A*33:03-B*58:01 和 B*13:02-DR*07:01、B*07:05-DR*10:01、B*51:01-DR*14:04(表 3)。由此可见, 高频率的单体型不一定连锁不平衡, 频率较低的等位基因也存在显著的连锁不平衡, 如 B*39:15-DR*15:01、B*51:01-DR*14:03 等单体型, 频率都<0.0001, 但在统计学角度上表现为强连锁不平衡。这表明广西地区 HLA 基因座的基因型和等位基因具有较高的遗传多态性和地域差异性, 而且具有其自身特点。

HLA 系统基因的高度多态性及其在不同种族、地域中的差异性分布, 也为器官移植寻找合适的供体带来了巨大的免疫遗传学障碍。本研究通过对 3431 例广西地区造血干细胞

捐献者人群 HLA-A、B、DRB1 基因高分辨率分型检测,分析其等位基因多态性及单体型分布比较结果显示,不同群体 HLA 基因在不同群体中的分布各具特色。本次研究获得了广西地区人群 HLA 高分辨率水平的多态性数据,为今后开展临床造血干细胞移植、中国人群 CWD 表的制订和骨髓库最适库容的评估等研究及相关疾病研究提供本地区信息。

参 考 文 献

- [1] Horton R, Wilming L, Rand V, et al. Gene map of the extended human MHC . Nature reviews Genetics, 2004, 5(12) : 889-899.
- [2] Parham P, Ohta T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules . Science, 1996, 272(5258) : 67-74.
- [3] Shi L, Shi L, Yao YF, et al. Genetic link among Hani, Bulang and other Southeast Asian populations: evidence from HLA -A, -B, -C, -DRB1 genes and haplotypes distribution. Int J Immunogenetics, 2010, 37(6) : 467-475.
- [4] Lee SJ, Klein J, Haagenson M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation . Blood, 2007, 110(13) : 4576-4583.
- [5] Fuji S, Kanda J, Kato S, et al. Impact of HLA allele mismatch on the clinical outcome in serologically matched related hematopoietic SCT . Bone Marrow Transplantation, 2014, 49(9) : 1187-1192.
- [6] Dehn J, Arora M, Spellman S, et al. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: factors associated with a better HLA match. Biol of Blood and Marrow Transplantation : J American Society for Blood and Marrow Transplantation, 2008, 14(12) : 1334-1340.
- [7] Liu M L, Qi J, Wang XF, et al. Identification and analysis of the rare HLA-A/B/DRB1 allele genes of 10165 bone marrow registry donors in Shaanxi region. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi , 2013, 21(6) : 1602-1605.
- [8] Li XF, Zhang X, Chen Y, et al. An analysis of HLA-A, -B, and -DRB1 allele and haplotype frequencies of 21 918 residents living in Liaoning, China . PloS one, 2014, 9(4) : e93082.
- [9] Pei YF, Huang HN, Li HC, et al. HLA-A * 02 : 513, a novel HLA-A * 02 allele. HLA, 2016, 87(5) : 382-383.
- [10] Pei YF, Huang HN, Li HC, et al. Identification of a novel HLA-DRB1 * 14 allele, HLA-DRB1 * 14 : 150, in a Chinese individual. HLA, 2016, 87(5) : 407-408.
- [11] Pei YF, Huang HN, Li HC, et al. A novel HLA-B * 40 allele, B * 40:01:40, identified in a Chinese individual. Int J Immunogenetics, 2016, 43(4) : 249-250.
- [12] 朱为刚. 中国南方汉族人群 HLA-A、B、DRB1 基因的序列分析和单体型分布. 中国输血杂志, 2009, 11(22) : 893-897.
- [13] Yang G, Deng YJ, Hu S N, et al. HLA-A, -B, and -DRB1 polymorphism defined by sequence-based typing of the Han population in Northern China . Tissue Antigens, 2006, 67(2) : 146-152.
- [14] Feng ML, Ji Y, Lu Q, et al. Study on HLA haplotypes in Jiangsu-Zhejiang-Shanghai Han population. Acta genetica Sinica, 2003, 30 (6) : 584-588.
- [15] Huh Jy, Yi DY, Eo SH, et al. HLA-A, -B and -DRB1 polymorphism in Koreans defined by sequence-based typing of 4128 cord blood units. Int J Immunogenetics, 2013, 40(6) : 515-523.
- [16] Galgani A, Mancino G, Martinez-labarga C, et al. HLA-A, -B and -DRB1 allele frequencies in Cyrenaica population (Libya) and genetic relationships with other populations . Human Immunol, 2013, 74(1) : 52-59.
- [17] Lai MJ, Wen SH, Lin YH, et al. Distributions of human leukocyte antigen-A, -B, and -DRB1 alleles and haplotypes based on 46,915 Taiwanese donors . Human Immunol, 2010, 71(8) : 777-782.
- [18] Maiers M, Gragert L, Klitz W. High-resolution HLA alleles and haplotypes in the United States population . Human Immunol, 2007, 68(9) : 779-788.
- [19] Trachtenberg E, Vinson M, Hayes E, et al. HLA class I (A, B, C) and class II (DRB1, DQA1, DQB1, DPB1) alleles and haplotypes in the Han from southern China . Tissue Antigens, 2007, 70(6) : 455-463.
- [20] 孙继丽. HLA-A,B,DRB1 单体型频率计算及其在骨髓库中的应用. 中国输血杂志, 2005, 04(18) : 397-384.
- [21] He Y, Zhang W, Chen N, et al. HLA-A, -B and -DRB1 allele and haplotype frequencies of 8333 Chinese Han from the Zhejiang province, China . Int J Immunogenetics, 2016, 43(2) : 86-95.
- [22] Wang F, He J, Chen S, et al. HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 allele and haplotype frequencies in 6384 umbilical cord blood units and transplantation matching and engraftment statistics in the Zhejiang cord blood bank of China. Int J Immunogenetics, 2014, 41 (1) : 13-19.
- [23] Ogata S, Shi L, Matsushita M, et al. Polymorphisms of human leukocyte antigen genes in Maonan people in China . Tissue Antigens, 2007, 69(2) : 154-160.

(2016-08-19 收稿, 2017-01-11 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 ·

北京地区 RhD 阴性献血人群 Rh 血型研究

闫芳 张磊 张烨 刘素芳 刘亚庆 苗天红(北京市红十字血液中心,北京 100088)

摘要:目的 研究北京地区 RhD 阴性献血人群中 Rh 表型的分布情况及不同表型与 D 变异型的相关性。方法 用间接抗球蛋白试验(IAT)确认检验科初筛 RHD 阴性个体的 Rh(D)血型,用血型分型卡确定 Rh 系统表型。结果 3 795 例初筛阴性标本中 ccee 2139 例(56.36%)、Ccee 1045 例(27.54%)、ccEe 334 例(8.80%)、CCee 157 例(4.14%)、CcEe 106 例(2.79%)、ccEE 12 例(0.32%)、CCEe 2 例(0.05%);其中 D 变异型 144 例,各表型 D 变异型例数及占各自总数的比例为 ccee 6 例(0.28%)、Ccee 21 例(2.01%)、ccEe 92 例(27.54%)、CCee 14 例(8.91%)、CcEe 9 例(8.49%)、ccEE 2 例(16.67%),CCEe 0 例。结论 北京市 RhD 阴性献血者以 ccee 为主,含有 E 抗原的初筛 Rh 阴性个体为 D 变异型的可能性高于其他表型的个体。

关键词:RhD 阴性; D 变异型; 表型

中图分类号:R457.1¹1 R446.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0056-02

Investigation of Rh phenotypes in Rh-negative individuals in Beijing YAN Fang, ZHANG Lei, ZHANG Ye, LIU Sufang, LIU Yaqing, MIAO Tianhong. Beijing Red Cross Blood Center, Beijing 100088, China.

Abstract: Objective To study the phenotype of Rh-negative individuals and to analyze the relationship between phenotype and RhD variants. Methods Routine serologic tests were used for Rh phenotype. RhD variants were detected by indirect anti-globulin test (IAT). Results The phenotype of the 3 795 samples were ccee 2139 cases (56.36%), Ccee 1045 cases (27.54%), ccEe 334 cases (8.80%), CCee 157 cases (4.14%), CcEe 106 cases (2.79%), ccEE 12 cases (0.32%), and CCEe 2 cases (0.05%). Among them, 145 cases was RhD variants, out of whom, 6 cases were ccee, 21 Ccee, 92 ccEe, 14 CCee, 9 CcEe, 2 ccEE, and 0 case of CCEe. Conclusion The predominant phenotypes of Rh-negative individuals were ccee and Ccee in Beijing. The possibility of having E antigen in RhD negative individuals is higher than other phenotypes.

Key words:RhD-negative; RHD variants; phenotype

Rh 血型系统是人类红细胞血型系统中最为复杂最具多态性的系统,其临床意义仅次于 ABO 血型系统。目前已发现 51 种 Rh 血型抗原,其中 C、c、D、E、e 抗原与临床关系最为密切,其抗原性强弱依次为 D>E>C>e>c^[1]。研究表明 Rh 表型与 D 抗原强弱的表达有关,本文对北京地区检测初筛 RhD 阴性献血者的 Rh 表型进行筛查,研究其分布情况并对 Rh 表型与 D 抗原强弱表达的关系进行分析研究。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2011 年 3 月~2013 年 6 月由本站检验科从期间所有献血者中初筛 RhD 阴性献血者 3 795 名,留取 DE- TA 抗凝血样 4 mL。

1.2 试剂 IgM 抗-D(单克隆抗体,台湾贝索公司);3 种 IgG/IgM 混合型单克隆抗-D 试剂分别由加拿大 DBL,英国 Millipore,CLAS 公司,Rh 表型分型卡和 Liss/Coombs 卡由 Bio-Rad 公司提供。

1.3 方法 采用 3 个不同厂家不同克隆株的 IgM+IgG 抗-D 试剂使用间接抗球蛋白试验方法,对标本进行 RHD 阴性确认试验,实验结果阳性标本使用盐水介质方法复检血型,并加做直接抗球蛋白实验排除献血者自身干扰。将献血者样

本按说明书稀释至 0.8%~1% 浓度,加入 Rh 分型卡中离心确定 Rh 表型。

2 结果

2.1 Rh 阴性献血者表型分布 见表 1。3 795 例初筛 RhD 阴性献血者中, ccee 2 139 例(56.36%)、Ccee 1 045 例(27.54%)、ccEe 334 例(8.80%)、CCee 157 例(4.14%)、CcEe 106 例(2.79%)、ccEE 12 例(0.32%)、CCEe 2 例(0.05%)。

表 1 Rh 阴性献血者表型分布

| Rh 表型 | | n | 比例(%) |
|-------|------|-------|-------|
| | ccee | 2 139 | 56.36 |
| | Ccee | 1 045 | 27.54 |
| | ccEe | 334 | 8.80 |
| | CCee | 157 | 4.14 |
| | CcEe | 106 | 2.79 |
| | ccEE | 12 | 0.32 |
| | CCEe | 2 | 0.05 |

2.2 144 例 RhD 变异型表型分布 见表 2。3 795 例初筛 RhD 阴性献血者中经间接抗球蛋白确认试验,确定为 D 变异型共计 144 例占总数的 3.82%,其中 ccee 6 例(0.28%)、Ccee 21 例(2.01%)、ccEe 92 例(27.54%)、CCee 14 例(8.91%)、CcEe 9 例(8.49%)、ccEE 2 例(16.67%),CCEe 0 例。

表 2 144 例 RhD 变异型表型

| Rh 表型 | RhD 变异型 (n) | 总例数 (n) | 比例 (%) |
|-------|-------------|---------|--------|
| ccee | 6 | 2 139 | 0.28 |
| Ccee | 21 | 1 045 | 2.01 |
| ccEe | 92 | 334 | 27.54 |
| CCee | 14 | 157 | 8.91 |
| CcEe | 9 | 106 | 8.49 |
| ccEE | 2 | 12 | 16.67 |
| CCEe | 0 | 2 | 0 |

表 3 D 变异型与 IAT 阴性个体 E 抗原比较

| | 含 E 抗原 | 不含抗原 |
|--------|--------|-------|
| D 变异型 | 103 | 41 |
| IAT 阴性 | 351 | 3 300 |

注: $\chi^2 = 498, P < 0.01$

3 讨论

Rh 血型系统所有的抗原中 D 抗原的免疫原性最强, 根据红细胞上是否有 RhD 抗原分为 Rh 阳性和 Rh 阴性。随着血清学技术和分子生物学技术的发展, 越来越多的具有 RhD 抗原, 但是抗原表位不完整或者抗原数量较少的红细胞血型被发现, 这些被称为 D 变异型。D 变异型目前按照抗原表位是否缺失分为部分 D 和弱 D, 只有 D 抗原表位缺失称为部分 D, 抗原表位完整但 D 抗原数量减少称为弱 D^[2]。还有 1 种间接抗球蛋白试验不能检出 D 抗原, 只能用吸收放散方法检出的 D 变异型, 称为 RH^{DEL} 型^[3]。

本研究共检测 3 795 例初筛阴性的献血者, 其中 ccee 表型占比例最高为 56.36%, Ccee 其次占 27.54%。与南充杨松等^[4]425 例标本中检测到 ccee 占 50%, Ccee 占 37.7%, 深圳郑春旺等^[5]在 456 例阴性标本中检测到 ccee 占 53.29%, Ccee 占 36.40% 比例相近。调查中显示的表型也与之前报道的 RhD 阴性人群中的单倍体基因型频 dce>dCe>dcE>dCE 相吻合^[6]。

本调查共检出 D 变异型 144 例占总数的 3.82%, 与其他地区报道差异较大^[6,7], 我们认为与地区差异和标本量大小导致的稳定性有关。研究中 144 例 D 变异型个体中发现含有 E 抗原的个体为 103 例, 而 IAT 确证试验的 3 300 例个体中, 含有 E 抗原的仅为 351 例, 2 组数据有显著差异提示含有 E 抗原的 Rh 阴性个体, 是 D 变异型的可能性远高于不含 E 抗原的 Rh 阴性个体。

此前文献报道 DEL 个体含有 C 抗原的比例远高于其他人群, 陈安心等^[8]用血清学方法检测 122 位汉族 RhD 阴性献血者, 其中 RH^{DEL} 型个体 35 例均有 C 抗原; 陈强等^[9]对 76 例血清学 RhD 阴性的献血者进行基因检测, 其中有 22 例 RH^{DEL} 型个体表型均含有 C 抗原。表明 Rh 血型系统其他抗原如 C, E 抗原对于 D 抗原的表达有一定的影响导致 D 变异型的产生, 检测 RhD 阴性人群的表型对于 RhD 个体的基因分型具有一定的意义。D 变异型的形成机理目前认为主要有基因重组和碱基替换 2 种, 基因重组是 RHD 基因与 RHCE

基因的对应片段发生重组交换形成 D-CE-D 杂交基因, 新基因的编码产物只表达一部分 D 表位, 另 1 种是 RHD 基因中发生碱基突变。四川李宏等^[10]报道 1 例基因为弱 D15RHD (G282D) 个体的献血者表型含有 E 抗原; 陕西吴大洲等^[11]在多种基因型的 D 变异型(弱 D15, 弱 D24, 弱 D25, 弱 D33, D VI-III Dva(Hus) 等) 个体中发现含有 E 抗原。

本研究样本量大, 报道了 9 种理论上可能出现的 Rh 表型中的 7 种 Rh 表型的组合, 包括了常见的 dccee、dCcee、dcEe、dCCee、dCcEe、表型, 少见的 dcEE 表型, 更发现了罕见的 CCEe 表型。且在 12 例 dcEE 表型标本中发现 2 例 D 变异型, 再次证实含有 E 抗原的初筛 Rh 阴性个体容易为 D 变异型。

为适应临床输血需要, 本血液中心将 Rh 阴性献血者的表型检测列为常规试验检测项目, 提高了阴性输血人群, 尤其是免疫后产生抗体人群输血的及时性和安全性。对血清学确认 Rh 阴性个体表型的调查, 对进一步研究 RhD 变异型与表型的关系揭示 D 抗原表达有一定意义。

参 考 文 献

- 赵桐茂. 人类血型遗传学. 北京: 科学出版社, 1987: 102-232.
- Avent ND, Martin PG, Annsrong-Fisher SS, et al. Evidence of genetic diversity underlying RHD-, weakD(Du), and partialD Phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene. Blood, 1997, 89(7): 2568-2577.
- Okuda H, Kawano M, Iwamoto S, et al. The RhD gene is highly detectable in RhD-negative Japanese donors. J Clin Invest, 1997, 100(5): 373~379.
- 杨松, 张伶, 邹韬, 等. 南充市 Rh 阴性献血者血清学表型和不规则抗体调查. 检验医学与临床, 2015, 12(8): 1040-1041.
- 郑望春, 杨转笑, 容莹, 等. 深圳地区 Rh 阴性无偿献血者血清学表型与不规则抗体调查. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1256-1257.
- 陆琼, 刘曦, 王建莲, 等. 血清学方法检测上海地区 Rh 阴性献血者 Rh 血型表现型分布. 临床输血与检验, 2008, 10(1): 73-74.
- 邵超鹏, 苏宇清, 吴国光, 等. 中国人群真实 RhD 阴性个体和 RhDel 型 RHD 基因研究. 华中科技大学同济医学院学报, 2002, 31(5): 501-504.
- 陈安心, 吴俊杰, 徐凤娟, 等. 浙江汉族 RhDEL 表型的分子机理研究. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(5): 1029-1032.
- 陈强, 陈娟, 李政, 等. 中国部分地区 RhD(-) 汉族人 RHD 基因结构分析. 中国输血杂志, 2000, 13(2): 73-77.
- 李宏, 宋宁, 邓永福, 等. 四川地区汉族人群 Rh(D) 变异体分子机制研究. 中国输血杂志, 2010, 23(5): 368-372.
- 吴大洲, 王满妮, 叶世辉, 等. 2493 例 RhD 阴性献血者的基因分析及 4 个新 RHD 等位基因的鉴定. 中国输血杂志, 2013, 26(10): 964-967.

(2016-10-10 收稿, 2017-01-09 修回)

本文编辑: 夏玲

· 论著 ·

重庆地区健康献血人群弓形虫抗体检测结果分析

徐敏¹ 毛伟² 何涛² 张春红² 卫昱燕¹ 高瞻¹ 张玉¹ 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. 重庆市血液中心)

摘要: 目的 了解重庆地区健康献血人群弓形虫(TOX)感染现状。方法 随机采集重庆市血液中心 2015 年 3—8 月半年间该地区的健康献血人群血清样本 1001(人)份, 采用 ELISA 法检测单份血清标本的 TOX 抗体, 对比分析不同性别、年龄、职业及受教育程度献血者 TOX 阳性率。结果 本组重庆健康献血人群 TOX 抗体阳性率 8.49% (85/1 001)。其中检出 TOX-IgG 抗体阳性 78 例, 阳性率 7.80% (78/1 001); TOX-IgM 抗体阳性 7 例, 阳性率为 0.7% (7/1 001)。不同职业以及受教育程度间的献血人群中 TOX 阳性率有统计学差异 ($P < 0.05$)。结论 重庆地区健康献血人群中存在一定的 TOX 感染率; 应加强对献血者弓形虫感染的监测, 对免疫缺陷等特殊受血者宜开展相应项目的血液筛查, 以降低弓形虫感染可能引起的输血风险。

关键词: 弓形虫; 献血者; ELISA; IgG 抗体; IgM 抗体; 免疫缺陷; 重庆

中图分类号: R446.62 R382.5 R457.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)1-0058-03

Investigation and research on Toxoplasma gondii infection of volunteer blood donors in Chongqing, China XU Min¹, MAO Wei², HE Tao², ZHANG Chunhong², WEI Yuyan¹, GAO Zhan¹, ZHANG Yu¹, HE Miao^{1△}. 1. Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Chengdu 610052, China; 2. Chongqing Blood Center. Corresponding author: HE Miao

Abstract: Objective To investigate Toxoplasma gondii (TOX) infection in volunteer blood donors from Chongqing.

Methods The IgG and IgM antibodies of toxoplasma in serum specimen were detected using ELISA kit. The serum of 1 001 healthy donors from March to August 2015 were detected in Chongqing Blood Center. **Results** 1 001 blood donors were screened for TOX antibody, of which 85 were tested positive, at a rate of 8.49% (85/1 001). The positive rate of Tox-IgG was 7.8% (78/1 001); the positive rate of Tox-IgM was 0.7% (7/1 001). The differences of positive rates between profession and education were statistically and significantly different ($P < 0.05$). **Conclusion** Because some positive results were found in healthy blood donors from Chongqing, the test of toxoplasmosis in the donors should be strengthened, in order to improve blood safety.

Key words: Toxoplasma gondii; blood donation population; ELISA; IgG; IgM; immunodeficiency; Chongqing

弓形虫病是 1 种人畜共患病, 其病原体弓形虫(*Toxoplasma gondii*, TOX)寄生在人及多种动物的细胞内, 随血液流动到全身各部位, 主要侵犯眼、脑、心、肝、淋巴结等重要器官; 虽然 80% 的 TOX 感染者都是无症状潜伏感染, 亦即对免疫功能正常者而言, TOX 感染后大多为无明显症状的潜伏带虫状态, 但免疫功能低下或缺陷的人群感染 TOX 会造成其大量神经损伤, 严重者致危及生命, 甚至死亡的后果^[1]。尤其孕妇发生急性的 TOX 感染时, 可引发早产、流产及胚胎发育停止, 胎儿畸形等不良妊娠结局^[2]。由于普通人群既往感染率较高^[3], 我国现阶段并未将弓形虫检测列为献血者健康筛查项目, 如果被 TOX 感染的血液输给免疫缺陷的受血者, 其后果难料。为了解 TOX 在我国献血者中的感染情况, 我们对重庆地区的健康献血人群中 TOX 感染情况作了初步筛查和分析, 现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 从 2015 年 3 月—8 月重庆市血液中心采集的健康献血者血液标本中, 随机取 1 001(人)份[(7~8)mL/份]储存于 10 mL EDTA 抗凝采血管中, 冷链运输至本实验室后, -25℃冻库保存, 在采集齐后≤1 个月完成 TOX 抗体检测。收集检测对象的性别、民族、职业、受教育程度及献血次数等一般资料, 结合检测结果作对比分析(表 1)。

1.2 TOX-IgG 及 IgM 抗体检测方法 采用 ELSIA 法(TOX-IgG 及 IgM 抗体检测试剂盒批号 20150511, 购自北京贝尔生物工程有限公司), 严格按照试剂盒说明书操作, 以全自动酶标仪(MULTISKAN SPECTRUM 型, 美国 Thermo 公司)测定 OD 值判断检测结果。

1.3 统计学处理 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。

2 结果

2.1 重庆地区健康献血人群的 TOX 感染率 本组 1 001

(人)份健康献血人群血清中筛选出 TOX-IgM 抗体阳性 7 例, 阳性率为 0.7% (7/1 001), TOX-IgG 抗体阳性 78 例, 阳性率为 7.80% (78/1 001), 未发现 TOX-IgG、TOX-IgM 均呈阳性的标本; 故本次筛查共检出 TOX 抗体阳性 85 例, 总阳性率为 8.49% (85/1 001)。

2.2 重庆地区不同年龄、民族、职业、受教育程度及献血频次的健康献血者 TOX 感染率 见表 1。

表 1 重庆地区 1 001 名健康献血者中不同性别、民族、职业、受教育程度及献血频次的 TOX 抗体阳性率比较

| | | n | 阳性数 (%) | TOX-IgM 抗体阳性 数(%) | TOX-IgM 抗体阳性 数(%) |
|---------|-----------|-----|------------|-------------------------|-------------------------|
| 性别 | 男 | 644 | 63(9.78)* | 7(1.09) | 56(8.69) |
| | 女 | 357 | 22(6.16) | 0 | 22(6.16) |
| 民族 | 汉族 | 963 | 82(8.50) | 5(0.52) | 77(8.00)* |
| | 苗族 | 38 | 3(7.89) | 2(5.26) | 1(2.63) |
| 职业 | 学生 | 91 | 3(3.30) | 0 | 3(3.30)△ |
| | 军人 | 35 | 0 | 0 | 0 |
| 警察 | 警察 | 46 | 1(2.17) | 1(2.17) | 0 |
| | 公务员 | 70 | 2(2.86) | 0 | 2(2.86) |
| 医疗卫生从业者 | 医疗卫生从业者 | 139 | 4(2.88) | 2(1.44) | 2(1.44) |
| | 经商者 | 37 | 2(5.41) | 0 | 2(5.41) |
| 工人 | 工人 | 149 | 5(3.36) | 2(1.34) | 3(2.02) |
| | 农民 | 14 | 1(7.14) | 0 | 1(7.14) |
| 受教育程度 | 失业人员 | 98 | 13(12.24) | 2(2.04) | 11(11.22) |
| | 退休人员 | 16 | 4(31.25) | 0 | 4(25.00) |
| 献血次数 | 在家就业 | 95 | 15(15.79) | 0 | 15(15.79) |
| | 其他 | 220 | 35(15.91) | 0 | 35(15.91) |
| 受教育程度 | 高中(中专)及以下 | 691 | 77(11.14) | 7(1.01) | 70(10.13)† |
| | 大专及以上 | 310 | 8(2.58) | 0 | 8(2.58) |
| 献血次数 | 初次献血者 | 406 | 38(9.36) | 0 | 38(9.36)▲ |
| | 重复献血者 | 595 | 47(7.90) | 7(1.18) | 40(6.72) |

* 与苗族比较, $\chi^2 = 0.00, P < 0.05$; △ 与工人比较, $\chi^2 = 50.770, P < 0.05$; † 与大专及以上比较, $\chi^2 = 20.192, P < 0.05$; ▲ 与重复献血者比较, $\chi^2 = 0.662, P < 0.05$ 。

3 讨论

弓形虫的感染途径很多, 传染源主要为动物, 猫科动物为重要传染源, 人与感染动物密切接触是弓形虫感染的主要传播途径之一。目前弓形虫感染呈全球性分布, 不同国家、地区 TOX 感染率从 10%~90%^[4], 有统计分析结果显示, 全球有约 1/3 的人口可能已受到感染^[5], 其中以欧洲、东南亚地区和非洲部分地区感染率最高^[6]。据我国第 2 次人体重要寄生虫病现状调查显示, 我国人群 TOX 感染率为 7.9%, 多数为隐性感染, 为全球人群 TOX 感染率较低的国家之一^[7]。我国最早的人体弓形虫病例见于 1962 年江西 1 例先天性脑发育不全及脉络膜视网膜炎的临床病例报告。目前已知孕妇 TOX 感染可通过胎盘传染给胎儿, 也可经输血传播^[8]。TOX 感染大多为隐性感染, 孕妇感染可致胎儿畸形, 儿童感染可引起智力发育障碍; 而在免疫抑制或免疫缺陷的患者中, TOX 感染直接影响免疫功能, 特别是致细胞免疫功能降低, 患有恶性肿瘤, 行器官移植, 长期接受免疫抑制剂、放射治疗、细胞毒剂等医源性免疫受损的患者, 或先天性、后天性免疫缺陷者, 如艾滋病患者、孕期妇女等都可使隐性感染状态转为急性重症, 使原有病症恶化, 甚至导致患者死

亡^[9]。TOX 还可影响成年男性的精子质量, 是男性不育症的原因之一^[10]; 另外也是艾滋病患者重要的机会性感染之一^[11~12], 如 TOX 脑炎是导致艾滋病患者死亡的主要原因之一^[11]。据报道, 我国东部地区和河南省的艾滋病患者中, TOX-IgG 抗体阳性率分别为 9.7% 和 6.4%^[13]; 1 项对印度尼西亚的 475 名囚犯和艾滋病患者所作的 TOX 抗体的血清学调查显示, IgG 抗体阳性率为 41.6%^[14]; 泰国南部的艾滋病患者中有 76.2% 的人存在 TOX 既往感染, 23.9% 的患者为新近感染^[15]; 伊朗北部地区艾滋病患者 TOX 抗体检测的 IgG 阳性率高达 96.3%^[16]。可见在免疫力低下的艾滋病患者中感染弓形虫的几率是非常高的。另据美国疾病控制中心(CDC)的 1 项报告, 在 14 510 名艾滋病患者中并发 TOX 脑炎者有 508 例, 且大多在染病 2~8 个月死亡^[17]。人体的脑组织易感染弓形虫, 能够引起一些神经系统疾病, 国外有研究认为弓形虫病不仅与精神分裂症有关还与其他相关疾病有关^[17]。

目前大多采用血清学方法检测特异性 TOX 抗体作为诊断弓形虫疾病感染的主要指标。血清中 TOX-IgM 抗体在体内出现较早, 维持时间短, TOX-IgM 抗体阳性提示有近期感染, 多为急性感染期; 而 TOX-IgG 抗体在体内略晚于 TOX-IgM 抗体出现, 持续时间较长, 提示慢性感染或既往感染, 是隐形感染的指征。本次检测及调查分析数据显示, 在重庆地区健康献血人群中 TOX-IgG 抗体阳性率明显高于 IgM 阳性率(表 1), 因为 IgG 阳性大多属于既往感染, 故急性感染人群较少。TOX 感染率在男女之间无明显差异($P > 0.05$)(表 1), 说明男女感染弓形虫机会均等。在文化程度较高的人群中, 感染率较低($P < 0.05$)(表 1), 这可能与人的文化程度不同, 其生活、饮食及卫生习惯亦存在差异有关。本研究显示, TOX-IgM 抗体阳性的样本只在重复献血者中存在(表 1), 说明这些献血者在献血时, 很可能处于 TOX 感染的急性期, 血液中含有活性的弓形虫存在。如果这些 IgM 抗体阳性的血液输给免疫缺陷或接受器官移植的患者, 很可能致患者有严重的感染风险, 甚至造成医疗事故。因此我们建议下一步在献血者-受血者开展链接调查, 了解 TOX-IgM 抗体阳性的血液感染受血者的严重程度。

总之, 弓形虫病在重庆健康献血人群中的流行率相对较低, 但是对于特殊的受血者(免疫功能低下和缺陷的患者)而言, 一旦在输血时发生 TOX 感染将会造成严重的后果。虽然采供血机构不会(必)对献血者做 TOX 常规筛查, 然而是否应该对特殊的受血者相应的病原体检测值得探讨。我们认为有必要扩大采样区域和检测标本量, 以便为制定相关(特定)的血液筛查策略提供数据支撑。另外, 对于需要输血的孕产妇、免疫缺陷患者和器官移植患者, 其临床供血和血液制品是否应开展 TOX 检测, 值得深入研究和探讨。本研究由于标本数偏少, 标本采集时间跨度不够长, 更进一步的研究需我们扩大标本量和标本时间跨度, 才能更好地为国家相关部门提供更多的支撑数据。

参 考 文 献

- [1] Ramos JM, Milla A, Rodríguez JC, et al. Seroprevalence of Toxo-

- plasma gondii infection among immigrant and native pregnant women in Eastern Spain. Parasitology research, 2011, 109 (5): 1447-1452.
- [2] 龙书玉, 徐晓阳, 钟朝晖, 等. 重庆市渝北区育龄妇女孕前病毒感染状况调查. 中国妇幼保健, 2012, 27 (035): 5773-5775.
- [3] 李慧珠. 弓形虫与弓形虫病. 生物学通报, 2002, 37 (5): 9-12.
- [4] Montoya JG and Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet, 2004, 363 (363): 1965-1976.
- [5] Torgerson PR and Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. Bulletin of the World Health Organization, 2013, 91 (7): 501-508.
- [6] Pappas G, Roussos N and Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of Toxoplasma gondii seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. Int J Parasitol, 2009, 39 (12): 1385-1394.
- [7] Zhou P, Chen N, Zhang R-L, et al. Food-borne parasitic zoonoses in China: perspective for control. Trends Parasitol, 2008, 24 (4): 190-196.
- [8] Wang L, Chen H, Liu D, et al. Genotypes and mouse virulence of Toxoplasma gondii isolates from animals and humans in China. Plos One, 2013, 8 (1): e53483.
- [9] 李晓灵, 曹玲, 余昌秀, 等. 艾滋病患者合并弓形虫感染状况研究. 四川医学, 2012, 33 (4): 678-680.
- [10] 王佳, 徐卫民, 王衡, 等. 2012年杭州市宠物饲养者弓形虫病感染状况分析. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 34 (1): 84-86.
- [11] 章银娣, 段兴钧, 杨宏, 等. 艾滋病合并弓形虫脑炎临床探讨. 现代医药卫生, 2013, (5): 744-745.
- [12] 李松柏, 潘玉洁. 艾滋病患者如何远离弓形虫脑病. 中国社区医师: 医学专业, 2012, 14 (28): 353-353.
- [13] 白晨倩, 王东, 姚志军, 等. 河南省HIV携带者刚地弓形虫感染情况. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2016, 34 (1): 84-86.
- [14] Sari Y, Haryati S, Raharjo I, et al. Toxoplasma and viral antibodies among hiv patients and inmates in central Java, Indonesia. South Asian J Tropical Med Public Health, 2015, 46 (6): 977-985.
- [15] Chemoh W, Sawangjaroen N, Siripaitoon P, et al. Toxoplasma gondii-prevalence and risk factors in HIV-infected patients from Song klanagarind Hospital, Southern Thailand. Fronti Microbiol, 2015, 6 (213): 129-135.
- [16] Rahimi MT, Mahdavi SA, Javadian B, et al. High seroprevalence of toxoplasma gondii antibody in HIV/AIDS Individuals from north of Iran. Iran J Parasitol, 2015, 10 (4): 584-589.
- [17] Horacek J, Flegl J, Tintera J, et al. Latent toxoplasmosis reduces gray matter density in schizophrenia but not in controls: voxel-based-morphometry (VBM) study. World J Biol Psychiatry, 2012, 13 (7): 501-509.

(2016-05-27 收稿, 2017-01-17 修回)

本文编辑:蔡辉

· 论著 ·

广州地区2010-2015年无偿献血来源及合格率分析

杜荣松 王淏 黄伯泉 姜津 李仲平 梁浩坚 郑优荣[△](广州血液中心, 广东 广州 510095)

摘要: 目的 分析广州地区3种主要无偿献血来源及其合格率的变化趋势, 为优化采血来源, 提高血液采集质量提供对策。**方法** 收集广州地区2010-2015年自愿无偿献血者全部献血资料, 采用Joinpoint回归进行不同献血来源占献血总例数的比例及其检测合格率的趋势分析。**结果** 2010-2015年广州地区自愿无偿献血中, 互助献血比例呈显著上升趋势, 由2010年的0.67%上升至2015年的5.22%, 年均变化率(annual percent change, APC)为50.6% (95% CI: 0.3%-126%); 个人献血比例显著下降, 由56.53%降至46.4%, 年均变化率为-4.4% (95% CI: -5.0%--3.7%); 团体献血比例有所上升, 但年均变化率未达显著水平(APC=1.3%, P=0.441)。血液质量方面, 团体献血与个人献血的合格率呈逐年上升, 分别由2010年的95.65%、94.41%上升至2015年的97.3%和96.65%, 合格率变化差异有统计学意义; 互助献血的合格率在90.69%-98.08%之间波动, 无明显变化趋势。**结论** 近年来广州地区团体和个人献血者的检测合格率呈上升趋势, 但是献血人次增长缓慢, 特别是个人献血者逐年减少导致采供血矛盾突出, 亟需采取相应措施增加血液供应。

关键词: 无偿献血; 血液来源; 合格率; Joinpoint 回归分析**中图分类号:**R457.1 R193 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0060-03

Trend analysis of non-remunerated blood sources and quality of donated blood in Guangzhou, 2010-2015. DU Rongsong, WANG Hao, HUANG Boquan, JIANG Jin, LI Zhongping, LIANG Haojian, ZHENG Yourong. Guangzhou Blood Center, Guangzhou 510095, China. Corresponding author: ZHENG Yourong

Abstract: Objective To investigate the time trend of the three main sources of non-remunerated blood and the quality of these donated blood in Guangzhou in order to provide reference for optimizing donation sources and increasing blood donations. **Methods** All the information on blood donation

sources and results from regular laboratory tests were collected in Guangzhou, from 2010 to 2015. Joinpoint regression was conducted to analyze the time trend of percentage of blood sources and pass rate of donated blood. **Results** From 2010 to 2015, the percentage of mutual blood donation significantly increased, from 0.67% to 5.22%. The annual percent change (APC) was 50.6% (95% CI: 0.3%–126%). The percentage of individual blood donation significantly decreased, from 56.53% to 46.4%. The APC was -4.4% (95% CI: -5.0%–-3.7%). The percentage of collective blood donation increased, but the change was not significant (APC=1.3%, P=0.441). The pass rate of collective donated blood and individual donated blood all significantly increased, from 95.65% (2010) to 97.3% (2015), and 94.41% (2010) to 96.65% (2015), respectively. The pass rate of mutual donated blood ranged from 90.69% to 98.08%, with no significant change.

Conclusion The pass rate of collective and individual blood donation in Guangzhou significantly increased in the past six years, which can guarantee the safety of the blood supply. However, the number of voluntary non-remunerated blood donation increased slowly in recent years, and effective strategies should be implemented.

Key words: non-remunerated blood donation; blood source; pass rate; joinpoint regression analysis

自 1998 年《中华人民共和国献血法》颁布以来,我国逐步建立起以街头个人献血为基础,以单位团体献血为保障、以亲友互助献血为补充的自愿无偿献血体制。在“血荒”常常见诸于各类媒体,临床用血和采供血的矛盾日益突显的情况下,3 种不同来源的献血方式发展如何,血液质量怎么样?我们通过分析 2010–2015 年广州地区献血人数、检验合格情况的变化趋势及变化的原因,了解当前献血发展现状和献血人群的输血传播性疾病的流行情况,为募集更多的低危献血者提供参考。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2010 年 1 月 1 日–2015 年 12 月 31 日,广州血液中心采集的所有符合《献血者健康检查要求》(GB18467-2001)无偿献血者的全血血样 1 586 970 人份。

1.2 仪器与试剂 离心机(KUBOTA 8420,日本久保田);低温冰箱(SANYO MDF-U443 三洋)。全自动酶免加样仪(Microlab-STAR)和全自动酶免检测分析仪(FAME 24/30)(瑞士 HAMILTON 公司)。血清学 EIA 检测 HBsAg 试剂盒(分别为上海科华、生物梅里埃和北京万泰产品),抗-HCV 试剂盒(分别为上海科华、美国雅培、美国强生奥拓产品),抗-HIV 试剂盒(北京万泰及法国伯乐产品),抗-TP 试剂盒(上海科华及北京万泰);速率法检测 ALT 试剂盒(上海科华及上海亚太)。以上所有试剂均为批批检定合格且在效期内使用。

1.3 检测方法 采用 2 种不同厂家试剂检测献血者血液样本的 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP 及 ALT。任 1 检测项目 2 种试剂阳性判为不合格;1 种试剂阳性者则用 2 种试剂对原管进行双试剂双孔检测,至少 1 孔阳性者判为不合格。

1.4 统计学分析 采用 Excel 2010 建立数据库,采用美国癌症研究所推荐使用的 Joinpoint 软件(版本 4.3.1,2016)进行趋势分析^[1],计算不同献血来源、检验合格率的年度变化百分率(APC)及其 95%置信区间(95%CI)。其余统计分析采用 STATA 软件 10.0 版本进行。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 广州地区 2010–2015 年献血总体来源情况及变化趋势 在 3 种采血来源方式中,团体献血和个人献血为当前采血

的主要来源,二者合计占总献血人次的 89.56%–99.33%,互助献血比例这 6 年间在 0.67%–10.44% 波动(表 1,表 2)。

表 1 2010–2015 年广州血液中心 3 种来源无偿献血情况 (n,%)

| | 总例数 | 团体献血 | 个人献血 | 互助献血 |
|--------|-----------|----------------|----------------|---------------|
| 2010 年 | 253 525 | 108 501(42.80) | 143 316(56.53) | 1 708(0.67) |
| 2011 年 | 263 379 | 118 009(44.81) | 141 365(53.67) | 4 005(1.52) |
| 2012 年 | 263 517 | 121 824(46.23) | 136 291(51.72) | 5 402(2.05) |
| 2013 年 | 259 471 | 126 199(48.64) | 126 667(48.82) | 6 605(2.55) |
| 2014 年 | 271 447 | 114 617(42.22) | 128 487(47.33) | 28 343(10.44) |
| 2015 年 | 275 631 | 133 335(48.37) | 127 899(46.40) | 14 397(5.22) |
| 合计 | 1 586 970 | 722 485(45.52) | 804 025(50.66) | 60 460(3.80) |

表 2 2010–2015 年广州血液中心 3 种来源无偿献血比例的变化趋势 joinpoint 分析结果

| | APC | 95%CI |
|------|-------|-----------|
| 团体献血 | 1.3 | -2.8–5.5 |
| 个人献血 | -4.4* | -5.0–-3.7 |
| 互助献血 | 50.6* | 0.3–126.0 |

* Z 分别为 -17.994、2.797, 均为 $P<0.05$

2.2 广州地区 2010–2015 年无偿献血血清学检测合格率情况及变化趋势 见表 3,表 4。

表 3 2010–2015 年广州血液中心 3 种来源无偿献血合格率情况 (n,%)

| | 团体献血 | 个人献血 | 互助献血 |
|--------|----------------|----------------|---------------|
| 2010 年 | 103 783(95.65) | 135 303(94.41) | 1 670(97.78) |
| 2011 年 | 112 675(95.48) | 132 882(94.00) | 3 632(90.69) |
| 2012 年 | 117 170(96.18) | 128 961(94.62) | 5 246(97.11) |
| 2013 年 | 121 801(96.52) | 120 431(95.08) | 6 458(97.77) |
| 2014 年 | 111 362(97.16) | 123 351(96.00) | 27 017(95.32) |
| 2015 年 | 129 736(97.30) | 123 618(96.65) | 14 121(98.08) |
| 合计 | 696 527(96.40) | 764 546(95.09) | 58 144(96.17) |

表 4 2010–2015 年广州血液中心 3 种来源无偿献血合格率的变化趋势 joinpoint 分析结果

| | APC | 95%CI |
|------|------|----------|
| 团体无偿 | 0.4* | 0.2–0.6 |
| 个人无偿 | 0.6* | 0.3–0.8 |
| 互助无偿 | 0.3 | -1.3–2.0 |

* Z 分别为 7.152、5.735, 均为 $P<0.05$

3 讨论

目前国内很多城市的血液供应难以完全满足临床需

求^[2],了解当前采血来源的现状及其近期趋势是进一步完善招募对策的重要基础和前提。国内研究多采用简单的率的比较^[3-4]来说明其变化趋势,本研究针对 2010–2015 年广州地区六年间的数据,首次采用目前国际上公认用于计算各种率的时间变化趋势的 Joinpoint 软件^[5]对不同采血来源的整体情况及合格率的变化趋势进行分析,对于制定献血对策,解决献血人次增长缓慢的问题具有重要意义。

本研究发现,近年来个人献血的例数及比例均呈下降,变化有统计学意义。个人献血主要通过街头捐献血液,造成人数下降的原因可能包括:首先,个人献血主要依靠商业旺地的人流,近年来电商兴起到实体店购物的人逐渐减少,献血人数不可避免的受到影响。其次,城市周边兴建了大量新商业中心,却没有配套相应的献血设施,造成潜在的献血者流失。此外,一些献血负面信息通过微博、微信等新媒体迅速传播,如郭美美事件、深圳血站高薪事件等,造成普通民众对无偿献血的误解甚至抵触。对此,针对性的措施将有助于扭转个人献血下降的趋势。首先,通过在新的商业旺地加快建设献血屋,加派采血车等措施,积极挖掘这部分人群的献血潜力。其次,利用新媒体加大正面宣传,同时提升及时应对突变事件的能力。此外,积极推动血站工作更加公开透明,减少公众误解,也将有助于改善无偿献血形式。

互助献血近年显著增长,部分原因可能是由于其基线数据较低,增长量反应在数据上比较明显。同时,在互联网的信息时代,需血者通过微博、微信等形式面向公众进行求助变得更为便捷。广州互助献血虽然增长快速,但与北京(12.6%)长沙(12.93%)等地^[6-7]相比还有差距,提示其未来可能还会继续增长。互助献血的增加有利于缓解了临床紧急用血的困难,通过需血者的动员和宣传,有助于献血知识的普及和群众基础的扩大。但也存在一些弊端,互助献血通常发生在用血紧张之时,容易激发医患矛盾,也容易演变为“血头”牟利的手段,背离互助献血的初衷。这些需要在未来予以重视。团体献血近年来变化不大,这可能是由于团体献血的对象是大专院校、机关事业单位以及各类大型企业,这类机构的规模和数量短时间内不会发生大的改变。

自无偿献血制度确立以来,街头个人献血以其自愿性和利他性一直被认为是最理想的低危招募方式^[8]。但在实际工作中却发现并非如此。国内广西贵港市、济南地区、泰安市等曾报导街头献血者梅毒阳性率显著高于团体献血者^[9-11],深圳^[12]报导街头献血者 HIV 阳性率显著高于团体献血者,但综合分析各项目合格率的文献不多。

本研究发现,广州地区 6 年间团体献血合格率最高,个人献血最低。这可能与两者分别由不同的人群构成有关。团体献血者多为大专院校学生,正值健康状况最好的时期,或是具有较好的医疗条件和健康意识的机关事业单位、大型企业职工。个人献血者则大部分是外来流动人口,卫生健康意识较差。另外,当发生不宜献血的高危行为后,团体献血

者担心情况泄露会主动回避献血,而个人献血者则不存在这方面顾虑,甚至有人把献血当成体检。综合来看,现阶段团体献血安全性更有保障,应该大力加强团体献血的招募力度。在巩固好原有的大专院校、企事业单位的基础上进一步深入社区、郊区工厂等原来覆盖不到的地方;成立专门机构直接服务团体献血,使招募、预约、采血、献血后服务等工作一体化,提高效率和满意度。对于个人献血者则应加强献血动机咨询,严格执行健康询问和体检,筛除有高危行为的人群,更好的保障血液安全。我们发现近年来团体和个人献血合格率的逐年上升趋势,提示随着无偿献血事业的推进,献血者的素质、捐献的血液质量逐步有所提高,更多的低危、健康的人群加入献血队伍,既有利于降低输血感染的风险,也避免了试剂、耗材的浪费。

综上所述,当前广州地区的采血工作中既有检验合格率逐年提高的可喜一面,也存在献血人数增长缓慢的不利情况。必须通过认真分析工作中出现的新情况、新特点,采取更加注重团体献血服务、加快新建献血屋等针对性措施,才能更好的为临床提供充足、安全的血液。

参 考 文 献

- [1] National Cancer Institute (NCI). Joinpoint Trend Analysis Software. [OL] [2015-12-11]. <http://surveillance.cancer.gov/joinpoint/>.
- [2] 陈竺.探索建立无偿献血新机制新模式.中国卫生质量管理, 2011, 18(2): 16.
- [3] 肖鲲,周辛浩,吕运来,等. 2005-2012 年洛阳市血液供应趋势和献血人群特点.中国输血杂志, 2013, 26(11): 1073-1075.
- [4] 何亚琴,徐立,贺晨峰.2009-2011 年常州地区无偿献血者血液检测结果分析. 临床血液学杂志, 2013, 26(2): 107-108.
- [5] Coskun AS, Goktalay T, Havlucu Y, et al. Effect of smoke-free legislation on smoking cessation rates in teachers in Manisa, Turkey. J Int Med Res, 2013, 41(5): 1622-1631.
- [6] 黄晓莉,高波.2010-2012 北京地区互助献血状况调查.临床输血与检验, 2014, 16(3): 293-294.
- [7] 孙妮,张钢,郭洪波,等.长沙地区 2012 年互助献血与街头自愿无偿献血分析.实用预防医学, 2014, 21(2): 233-234.
- [8] 董建华,刘淑芳.烟台市献血人群构成与血源性传播疾病感染率的统计分析. 中国卫生统计, 2005, 22(2): 90-91.
- [9] 李新艳.广西贵港市无偿献血人群梅毒和 HIV 感染的调查分析.中华现代皮肤科学杂志, 2005, 2(3): 287-288.
- [10] 索翠萍,吕莎.济南地区献血员梅毒血清学检测分析.中国医药卫生, 2005, 6(15): 116.
- [11] 郭建光,郭红岩.泰安市无偿献血人群梅毒血清学检测分析.中国热带医学, 2006, 6(1): 104-105.
- [12] 温秀明,刘永梅,叶有玩,等. 街头献血人群与集体献血人群 HIV 感染状况分析. 中国输血杂志, 2013, 26(3): 164-166.

(2016-08-14 收稿,2017-01-11 修回)

本文编辑:闻欣

· 论著 ·

宁夏血液中心 2011—2015 年临床供血调查及分析

柳芳梅 梁社玲 段彩红 李萍艳 巫芳 崔秀(宁夏血液中心,宁夏 银川 750002)

摘要:目的 调查统计宁夏血液中心 2011—2015 年全血及成分血液供应数量、种类及逐年变化情况,为成分血制备、临床合理用血提供资料。**方法** 搜集 2011—2015 年宁夏血液中心全血及成分血供应数据,分析各年度供血总量、全血及各种成分血的用量及增长比例。**结果** 2011—2015 年供血总量逐年递增,供全血量比例明显少于成分血,且呈递减趋势,各类成分血供应量递增,5 年平均成分输血率达到了 99.83%,2015 年成分输血率达到峰值,为 99.98%。**结论** 成分输血理念深入临床,在临床应用过程中体现出的安全性、有效性、节约性日益突出,成分输血已经成为银川地区输血基本模式。

关键词:宁夏血液中心;临床供血;成分输血

中图分类号:R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0063-02

Investigation and analysis of blood supply for clinic from Ningxia Blood Center from 2011 to 2015 LIU Fangmei, LI-
ANG Sheling, DUAN Caihong, LI Pingyan, WU Fang, CUI Xiu. Department of Component Preparation, Ningxia Blood Center,
Yinchuan 750002, China.

Abstract: **Objective** To provide information for preparation of blood components and rational clinical use of blood by surveying and analyzing the supply, the types and the annual changes of whole blood and blood components in Ningxia Blood Center from 2011 to 2015. **Methods** The supply data of whole blood and blood components from 2011 to 2015 in Ningxia Blood Center were collected. The total amount of blood supply, the usage amount of whole blood and blood components in each year and their annual growth rates were analyzed. **Results** The blood supply during 2011—2015 increased year by year. The supply of whole blood was significantly less than that of blood components, and showed a decreasing trend. All kinds of blood components supply increased. The 5 year average transfusion rate for blood components reached 99.83%, and the transfusion rate in 2015 peaked at 99.98%. **Conclusion** The blood component transfusion has been popular in clinical application because of its safety, effectiveness and economical value. It has become the basic model of blood transfusion in Yinchuan area.

Key words:Ningxia Blood Center; blood supply for clinic; investigation

随着输血技术新理念的发展,成分输血已成为衡量临床合理用血的基本指标。成分输血是当前输血技术发展的总趋势,也是输血现代化的重要标志之一^[1]。近年来,宁夏卫生和计划生育委员会对银川地区医疗机构的临床用血情况加强监管,将成分血在临床的使用作为考核的一项重要指标,加上本中心积极宣传推广,成分输血在临床的使用已取得了显著成效。我们对宁夏血液中心 2011—2015 年临床供血情况进行了调查分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 2011—2015 年宁夏血液中心供应银川地区医疗机构的血液制品记录,血液制品包括全血、红细胞类(去

白细胞悬浮红细胞、悬浮红细胞、冰冻解冻去甘油红细胞、洗涤红细胞等)、血浆类(病毒灭活冰冻血浆、病毒灭活新鲜冰冻血浆、新鲜冰冻血浆、冰冻血浆、单采新鲜冰冻血浆)、血小板类(单采血小板、去白细胞单采血小板)、冷沉淀凝血因子等。

1.2 资料处理 200 mL 全血为 1 U,由此制备的各种血液成分为 1 U,400 mL 全血制备的冷沉淀凝血因子为 1 U。对 2011—2015 年各年度供血总量、供全血量、供成分血总量、成分输血所占比例进行统计、分析。成分输血率=供成分血总量/供血总量×100%。

2 结果(表 1-5)

表 1 2011—2015 年血液临床供应基本情况

| 供血总量 (U) | 供全血量 (U) | 供成分血总量 (U) | 供成分血类别 | | | | 成分输血率 (%) |
|-------------|-------------|---------------|-------------|------------|-------------|----------------|--------------|
| | | | 红细胞类 (U) | 血浆类 (U) | 血小板类 (U) | 冷沉淀凝血因子 (U) | |
| 2011 年 | 121 803.75 | 375 | 121 428.75 | 58 655.25 | 57 083.00 | 3 155.50 | 99.69 |
| 2012 年 | 152 412.00 | 615 | 151 797.00 | 67 558.50 | 75 978.50 | 3 678.00 | 99.59 |
| 2013 年 | 156 814.00 | 117 | 156 697.00 | 74 732.00 | 70 612.00 | 4 601.00 | 99.93 |
| 2014 年 | 175 019.00 | 157 | 174 862.00 | 79 692.50 | 81 788.50 | 4 912.00 | 99.91 |
| 2015 年 | 167 611.50 | 31 | 167 580.50 | 76 167.50 | 77 292.00 | 4 953.00 | 99.98 |
| 合计 | 773 660.25 | 1 295 | 772 365.25 | 356 805.75 | 362 754.00 | 21 299.50 | 99.83 |

表 2 2011—2015 年红细胞成分制剂供应情况

| | 红细胞制剂总量 (U) | 去白细胞悬浮红细胞 (U) | 悬浮红细胞 (U) | 冰冻解冻去甘油红细胞 (U) | 洗涤红细胞 (U) | 增长率 (%) |
|--------|----------------|------------------|--------------|-------------------|--------------|------------|
| 2011 年 | 58 655.25 | 57 449.25 | 642 | 152 | 412 | |
| 2012 年 | 67 558.50 | 66 877.50 | 138 | 220 | 323 | 15.18 |
| 2013 年 | 74 732.00 | 73 867.00 | 212 | 222 | 431 | 10.62 |
| 2014 年 | 79 692.50 | 78 908.50 | 110 | 238 | 436 | 6.60 |
| 2015 年 | 76 167.50 | 75 131.50 | 342 | 245 | 449 | -4.40 |
| 合计 | 356 805.75 | 352 233.75 | 1 444 | 1 077 | 2 051 | |

表 3 2011—2015 年血浆制剂供应情况

| | 总量 (U) | 病毒灭活 冰冻血浆 (U) | 病毒灭活 血浆(U) | 新鲜冰冻 血浆 (U) | 冰冻 血浆 (U) | 单采新鲜 冰冻血浆 (U) | 增长 率 (%) |
|--------|------------|---------------------|---------------|-------------------|-----------------|---------------------|----------------|
| 2011 年 | 57 083.00 | 52 585.50 | - | 1 623.50 | 370.00 | 2 504 | |
| 2012 年 | 75 978.50 | 65 506.50 | 3 659.00 | 3 057.00 | 1 190.00 | 2 566 | 33.10 |
| 2013 年 | 70 612.00 | 55 807.00 | 8 562.00 | 2 676.50 | 1 587.50 | 1 979 | -7.00 |
| 2014 年 | 81 788.50 | 60 624.00 | 8 260.00 | 9 441.50 | 1 570.00 | 1 893 | 15.80 |
| 2015 年 | 77 292.00 | 53 072.00 | 3 491.50 | 15 236.50 | 3 774.00 | 1 718 | -5.50 |
| 合计 | 362 754.00 | 287 595.00 | 23 972.50 | 32 035.00 | 8 491.50 | 10 660 | |

表 4 2011—2015 年血小板制剂供应情况

| | 总量 (U) | 单采血小板 (U) | 去白细胞单采 血小板(U) | 增长率 (%) |
|--------|-----------|--------------|------------------|------------|
| 2011 年 | 3 155.50 | 1 312.00 | 1 843.50 | |
| 2012 年 | 3 678.00 | 1 631.50 | 2 046.50 | 16.60 |
| 2013 年 | 4 601.00 | 2 581.00 | 2 020.00 | 25.10 |
| 2014 年 | 4 912.00 | 2 744.50 | 2 167.50 | 6.80 |
| 2015 年 | 4 953.00 | 2 707.50 | 2 245.50 | 0.80 |
| 合计 | 21 299.50 | 10 976.50 | 10 323.00 | |

表 5 2011—2015 年冷沉淀凝血因子供应情况

| | 冷沉淀凝血因子(U) | 增长率(%) |
|--------|------------|--------|
| 2011 年 | 2 535 | |
| 2012 年 | 4 582 | 80.75 |
| 2013 年 | 6 752 | 47.36 |
| 2014 年 | 8 469 | 25.43 |
| 2015 年 | 9 168 | 8.25 |
| 合计 | 31 506 | |

3 讨论

自《医疗机构临床用血管理办法(试行)》实施以来,本中心积极履行血站职责,向医疗机构宣传推广临床成分用血,每年举办临床合理输血培训班并对其进行业务指导。随着成分输血观念的宣传普及,银川地区临床用血更加规范化、合理化。调查总结本中心近 5 年供血变化趋势可以看出,2011—2015 年银川市医疗单位全血用量维持在较低水平,且呈逐年递减趋势;成分输血率维持在较高水平,平均值为 99.83%,基本上呈逐年递增趋势。2015 年成分输血率达到了 99.98%,与 2010 年的 99.63%^[2]相比有了进一步提高。

红细胞成分制剂的供应整体上呈现出逐年递增的趋势,其中以 2012 年的同比增长率最为突出,为 15.18%,这与献血宣传力度加大,献血人数明显增加,临床用血量增大关系密切。在红细胞的供应中,去白细胞悬浮红细胞的用量最

大,呈递增趋势,因其滤除了白细胞,安全性高为临床所广泛应用,目前,除部分单采血小板外,本中心所提供的均为去除白细胞血液制剂。悬浮红细胞为调剂外血站制剂,用量逐年递减。冰冻解冻去甘油红细胞用于 RhD(-)患者,随着保存技术的提高,用量呈逐年上升趋势。洗涤红细胞因其特有的适应症,使用率保持平稳。

血浆制剂的供应 2012 年同比增幅最大,为 33.1%,2013 年同比为负增长,其原因为 2013 年冷沉淀凝血因子制备量增多,血浆作为其制备的原料相应减少,导致血浆呈负增长,2014 年同比增幅较大,为 15.8%,2015 年整体采血量减少,加之冷沉淀凝血因子制备量大,血浆量为负增长。病毒灭活血浆制剂因其安全性高,临床用量逐年增加,新鲜冰冻血浆和冰冻血浆随采血量的增加供应量也相应增加。

血小板制剂的供应量呈现出逐年递增的趋势,尤其以 2012、2013 年的增幅最为突出,分别达到了 16.6% 和 25.1%,以后逐年稳步递增。这与工作人员对献血者的知识宣传力度密切相关,当献血者意识到血小板可迅速再生,并且对人体不会产生损害,还会治病救人时,献血积极性会大大提高。

冷沉淀凝血因子的变化最为突出,2012 年其供应量突飞猛进,同比增长 80.75%,2013 年同比增长 47.36%,以后逐年稳步递增,这些变化与临床医生对其作用的认识及疗效的可见性密切相关,如冷沉淀凝血因子对于血友病、严重创伤、烧伤等有良好的疗效。此外,在大量失血患者的治疗中,联合输注血小板及冷沉淀能显著改善凝血功能,促进止血功能,具有更显著的止血效果^[3]。

需要提出的是,因团体采血量受限及各种因素综合作用下,本中心 2015 年供血总量略有下降,导致除了血小板和冷沉淀凝血因子之外的各种成分血液供应量均下降,但能够满足本地区的临床供血。

从近 5 年本中心血液供应反映出,成分输血观念已被临床医师广泛接受并采纳,临床用血更加科学合理。另一方面,随着逐年上升的供血量,供血压力增大,需要不断加大无偿献血宣传力度,上级部门还要督促临床加强输血管理,减少不必要的输血。

参 考 文 献

- [1] 滕本秀.科学、合理、安全输血. 重庆医学, 2006, 35(11): 961-963.
- [2] 梁社玲, 张伟, 成少萍. 银川地区 2006~2010 年成分输血应用现状. 中国输血杂志, 2012, 25(7): 687-688.
- [3] 高林江, 陈瑞平, 张怡莹. 联合输注单采血小板和冷沉淀凝血因子在急性大失血患者中的治疗作用. 临床血液学杂志(输血与检验版), 2010, 10(10): 585-587.

(2016-08-01 收稿, 2017-01-24 修回)

本文编辑:闻欣

· 论著 ·

在校本科生再次献血行为及影响因素分析

王艳梅 窦东梅 李博(河南大学护理学院,河南 开封 475000)

摘要:目的 了解在校本科生无偿献血行为及其再次献血的影响因素,为建立稳定的无偿献血队伍提供参考依据。**方法** 2015年11月,在河南省开封市河南大学随机抽取参加过无偿献血的在校本科生作为研究对象,采用自行设计的问卷收集相关数据。共发放问卷236份,有效回收问卷221份,有效回收率93.6%。**结果** 参加过无偿献血的221名本科生中,首次献血者158名(71.5%),再次献血者63名(25.8%)。再次献血的影响因素有:性别、专业、年级、无偿献血知识、无偿献血动机、朋友影响、无偿献血宣传是否到位及宣传方式。多因素 logistic 回归分析表明,年级、无偿献血相关知识得分和朋友影响是本科生再次献血的主要影响因素。**结论** 积极开展形式多样的宣传活动,形成良好的无偿献血氛围,进一步提高本科生无偿献血的认知水平能对在校本科生参加无偿献血产生积极影响。

关键词:无偿献血;大学生;影响因素

中图分类号:R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0065-03

Behavior of repeated non-remunerated blood donation and its influencing factors among university students WANG Yanmei, YAN Donghai, LI Bo. Henan University Nursing School, Kaifeng 475000, China.

Abstract: **Objective** To study behavior of repeated non-remunerated blood donation and its influencing factors among university students so as to provide reference for establishing a stable team of volunteer donors. **Methods** A self-designed questionnaire was applied to collect related data on volunteer donors who were selected from Henan University by randomly sampling in Kaifeng in November 2015. A total of 236 questionnaires were provided and 221 questionnaires were collected. The collection rate was 93.6%. **Results** A total of 158 donors participated in blood donation for the first time, accounting for 71.5%, while 25.8% participated again. The related factors influencing repeated blood donation were gender, academic specialty, grade, knowledge on blood donation, motivation for blood donation, friends participated in blood donation, and appropriate message for promotion of blood donation. The analysis of logistic regression showed the relative factors were grade, blood donation knowledge scores, and friends who previously donated. **Conclusion** Some measures such as carrying out various forms of recruitment promotion can help form a benign atmosphere for non-remunerated blood donation. Further improvement on university students' cognition of non-remunerated blood donation in the future can be taken into consideration.

Key words:non-remunerated blood donation; undergraduate; influencing factor

自1998年我国实行无偿献血制度以来,公民无偿献血的意识逐步增强,无偿献血量占临床用血量的比例也逐年提升,但我国人口献血率较低,且临床用血量以每年10%~15%的速度不断攀升^[1],血液供应紧张的情况时有发生^[2]。因此,为了确保血液及时供应及用血安全,建立稳定的自愿无偿献血队伍是十分必要的。高校大学生是无偿献血的重要群体,也是中坚力量^[3]。本研究通过调查了解在校本科生无偿献血行为,分析影响其再次献血的因素,为促进在校生参与无偿献血提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 调查对象 2015年11月,在开封市某高校随机抽取参加过无偿献血的在校本科生作为研究对象,获得知情同意后,采用自填式问卷对其献血行为及影响因素进行调查。共发放调查问卷236份,收回实际有效问卷221份,有效回收

率93.6%。

1.2 调查方法 自行设计调查问卷,内容包括:参与无偿献血大学生的一般情况、献血既往史、无偿献血相关知识、无偿献血动机、他人影响及无偿献血宣传方式等。其中,无偿献血相关知识共9个条目,回答正确赋值为1,回答错误赋值为0,总和即无偿献血相关知识得分,并进行百分制处理。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18.0录入数据,并进行统计分析。定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,定性资料用n(%)表示。统计方法包括:成组设计资料的t检验、 χ^2 检验、logistic回归等,以P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 无偿献血者的基本特征 221名参加过无偿献血的在校本科生中,只参加过1次献血的首次献血者158名,占献血人群的71.5%,2次及以上的再次献血者63名,占25.8%,具体情况见表1。

表1 首次/再次献血本科生无偿献血行为的组间比较 (n/%)

| | | n | 首次献血 | 再次献血 |
|-----|-----|-----|-----------|----------|
| 性别 | 男 | 130 | 86(54.4) | 44(69.8) |
| | 女 | 91 | 72(45.6) | 19(30.2) |
| 专业 | 医学 | 102 | 63(39.9) | 39(61.9) |
| | 非医学 | 119 | 95(60.1) | 24(38.1) |
| 年级 | 一年级 | 10 | 9(5.7) | 1(1.6) |
| | 二年级 | 56 | 49(31.0) | 7(11.1) |
| | 三年级 | 93 | 61(38.6) | 32(50.8) |
| | 四年级 | 62 | 39(24.7) | 23(36.5) |
| 生源地 | 城镇 | 84 | 55(34.8) | 29(46.0) |
| | 农村 | 137 | 103(65.2) | 34(54.0) |

注:性别、专业、年级组内比较 χ^2 值分别为 4.416、8.797、12.555, $P < 0.05$

2.2 无偿献血者对无偿献血知识的认知程度 在无偿献血相关知识的 9 个条目中,再次献血者在“2 次献血的间隔时间”、“成分血的组成”,“终身免费用血的献血量”和“世界无偿献血日”4 个条目上认知正确率均高于首次献血者,差异有统计学意义,结果见表 2。对无偿献血知识 9 个条目赋值后,计算无偿献血相关知识得分,并进行百分制处理。再次献血者得分高于首次献血者,差异有统计学意义,结果见表 3。

表2 首次/再次献血本科生无偿献血认知正确率的比较(n/%)

| | 首次献血 | 再次献血 |
|--------------------|-----------|----------|
| 我国施行的献血制度 | 144(91.1) | 57(90.5) |
| 参加献血的年龄要求 | 127(80.4) | 52(82.5) |
| 2 次献血的间隔时间* | 118(74.7) | 61(96.8) |
| 每次献血量 | 113(71.5) | 49(77.8) |
| 成分血的组成* | 101(63.9) | 52(82.5) |
| 无偿献血者及直系亲属可按规定免费用血 | 145(91.8) | 57(90.5) |
| 终身免费用血的献血量* | 54(34.2) | 33(52.4) |
| 世界无偿献血日* | 44(27.8) | 28(44.4) |
| 无偿献血不会损害健康 | 147(93.0) | 61(96.8) |

* 各组内比较 χ^2 值分别为 14.345、7.327、6.253、5.648, P 均 < 0.05

表3 首次/再次献血本科生无偿献血相关知识得分的比较

| | 相关知识得分($\bar{x} \pm s$) | 百分制得分($\bar{x} \pm s$) |
|------|---------------------------|--------------------------|
| 首次献血 | 6.78 ± 1.46 | 75.39 ± 16.27 |
| 再次献血 | 7.54 ± 1.50 | 83.77 ± 16.68 |

注:组内比较 t 值为 3.435, $P < 0.05$

2.3 在校本科生参加无偿献血的动机 见表 4。由表 4 可见,首次和再次献血大学生参与无偿献血的动机中,在“有利于身体健康”、“可以享受用血优惠政策”和“想知道自己的血型”上,差异有统计学意义。

表4 首次/再次献血本科生参加无偿献血动机的比较(n/%)

| | 首次献血 | 再次献血 |
|-------------|-----------|----------|
| 无私奉献 | 137(86.7) | 55(87.3) |
| 有利于身体健康* | 77(48.7) | 40(63.5) |
| 家人、朋友的影响 | 34(21.5) | 10(15.9) |
| 献血可以获得荣誉或奖励 | 24(15.2) | 8(12.7) |
| 可以享受用血优惠政策* | 39(24.7) | 25(39.7) |
| 想知道自己的血型* | 56(35.4) | 13(20.6) |
| 集体组织 | 17(10.8) | 5(7.9) |
| 其他 | 10(6.3) | 1(1.6) |

* 各组内比较 χ^2 值分别为 3.937、4.925、4.599, P 均 < 0.05

2.4 家人、朋友的影响 由表 5 可见,家人是否参与过无偿献血对大学生再次献血的影响无统计学意义;首次/再次献

血大学生均选择了身边有朋友参加过无偿献血,再次献血者中选择“≥3 个”的比例高于首次献血者,且差异有统计学意义。

表5 家人、朋友对在校本科生无偿献血的影响 (n/%)

| | | 首次献血 | 再次献血 |
|---------------|-------|-----------|----------|
| 家人是否参与过无偿献血 | 是 | 84(53.2) | 27(42.9) |
| | 否+不清楚 | 74(46.8) | 36(57.1) |
| 参加过无偿献血朋友的数量* | ≥3 个 | 53(33.5) | 39(61.9) |
| | 1~2 个 | 105(66.5) | 24(38.1) |

* 组内比较 χ^2 值 = 14.909, $P < 0.05$

2.5 无偿献血宣传的影响 在认为无偿献血宣传到位的在校本科生中,首次献血者有 53 人(33.5%),再次献血者有 31 人(49.2%)($\chi^2 = 4.689$, $P < 0.05$),差异有统计学意义。哪种宣传方式最容易让同学们了解到无偿献血,首次/再次献血者选择情况见表 6。

表6 宣传对在校本科生无偿献血的影响 n(%)

| | 主题班会 | 海报、展板 | 网络媒体 | 讲座 | 其它 |
|------|----------|----------|----------|----------|--------|
| 首次献血 | 65(41.1) | 49(31.0) | 22(13.9) | 19(12.0) | 3(1.9) |
| 再次献血 | 4(6.3) | 20(31.7) | 24(38.1) | 9(14.3) | 6(9.5) |

注:组内比较 χ^2 值 = 36.723, $P < 0.001$

2.6 影响再次无偿献血的多因素 logistic 分析 以再次献血行为为因变量,以参与无偿献血大学生的性别、年级、专业、无偿献血相关知识得分、献血动机、朋友影响、无偿献血宣传是否到位及宣传方式为自变量,选择逐步回归,建立 logistic 回归方程,结果见表 7。

表7 影响本科生再次无偿献血的多因素 logistic 分析

| | B | SE | χ^2 | P | OR | 95%CI |
|------------|--------|-------|----------|-------|-------|-------------|
| 年级 | 0.896 | 0.229 | 15.256 | 0.000 | 2.451 | 1.563~3.843 |
| 无偿献血相关知识得分 | 0.348 | 0.118 | 8.756 | 0.003 | 1.416 | 1.125~1.783 |
| 朋友影响 | 1.344 | 0.348 | 14.880 | 0.000 | 3.833 | 1.937~7.585 |
| 常量 | -6.790 | 1.276 | 28.317 | 0.000 | | |

3 讨论

本研究中,再次献血者占无偿献血本科生总数的 25.8%,此比例略高于安徽医科大学在校大学生^[4],但低于成都大学生^[5]以及株洲市和安徽省某市居民^[6,7]的再次献血比例。结合单因素及 logistic 回归分析结果,对影响再次献血的因素进行分析。

本次调查显示男性大学生首次/再次献血所占比例均高于女性,这与其他学者的结果一致^[4,6],这可能与女性易受生理和心理因素的影响有关。医学专业、年级对再次献血行为有影响,logistic 回归分析也表明高年级再次献血比例高于低年级组,可能与高年级接受相关宣传和参加无偿献血的机会较多有关。

首次/再次献血者 3 个条目正确率均超过 90%,说明在校大学生对无偿献血知识有了一定的了解。但再次献血者部分条目正确率和无偿献血相关知识得分均高于首次献血者,logistic 回归结果也说明无偿献血知识认知程度越高,越有可能发生再次献血行为。再次献血大学生选择“有利于身体健康”的比例高于首次献血者,这说明献血者一定程度上认可了无偿献血,这对建立稳定的无偿献血队伍有重要意义。

义。再次献血者选择“可以享受用血优惠政策”的比例高于首次献血者,不同与李翠莹^[5]的结果,这可能是受到了无偿献血偿还制度的影响。

献血者均选择了身边有朋友参加过无偿献血,且再次献血者中选择参加过无偿献血的朋友“≥3 个”的比例高于首次献血者。由 logistic 回归结果可知,朋友影响的 OR 值 95% CI 为 1.937–7.585,即身边参加无偿献血的朋友越多,越可能再次献血。这说明在校大学生容易受到身边同伴的影响,与其他研究结果相符^[4,8]。

首次献血者认为宣传方式主要为主题班会和海报、展板,而再次献血者选择网络媒体的比例更高。建议在以后的宣传中,多利用微信公众平台、微博、门户网站等新兴媒体,去伪存真,传递积极、正确的无偿献血知识,提高其宣传效果。综上所述,在校大学生对于无偿献血有了一定的认知,但其再次献血行为受到多种因素的影响。在今后的工作中,要提高无偿献血宣传的时效性、科学性和有效性,积极开展形式多样的宣传,强化榜样作用,形成良好的无偿献血氛围,进一步提高大学生对无偿献血的认知能对在校大学生参加无偿献血产生积极影响。

参 考 文 献

- [1] 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):1-2.
- [2] 陆佳玲,孙牧,屠小明,等.综合性大学与医学类院校学生无偿献血的动因比较研究.南京医科大学学报(社会科学版),2015,(1):51-54.
- [3] 刘林林,邱美莲,张厉翔,等.嘉兴市大学生对无偿献血的认知_态度及行为分析.医学理论与实践,2013,26(13):1790-1792.
- [4] 梁谋红,周永彤,段敏,等.某高校大学生无偿献血行为及影响因素分析.安徽医学,2014,35(4):523-526.
- [5] 李翠莹,游协丹,练栩辉,等.大学生无偿献血认知及动机调查分析.中国输血杂志,2013,26(9):786-787.
- [6] 曾艳清,罗贤瑞,肖水源.影响株洲市居民再次献血的因素分析.中国输血杂志,2011,24(2):144-146.
- [7] 周睿,姚余有.安徽省某市再次无偿献血现状及影响因素分析.安徽医药,2015,19(3):475-478.
- [8] 屠小明,陆雅文,赵轶伦,等.自身因素及外部因素对无偿献血者再次捐献行为影响差异的研究.中国输血杂志,2014,27(12):1334-1337.

(2016-05-12 收稿, 11-23 修回)

本文编辑:夏玲

· 论著 ·

2005–2014 年江门市无偿献血者血液检测淘汰情况

廖惠容 翁远桥 古锦萍 陈日明(江门市中心血站,广东 江门 529000)

摘要:目的 统计分析 2005–2014 年江门市无偿献血者血液检测淘汰情况,并分析年龄与性别之间淘汰的差异性。以便更好地进行无偿献血者的招募工作,减少不必要的血液浪费。**方法** 对本市 10 年间无偿献血者血液的每年检测不合格情况进行分析比较,以及对不同年龄段与性别之间的血液检测项目 ALT, HBsAg, 抗-HCV, 抗-TP, 抗-HIV 淘汰的结果进行回顾性分析。**结果** 本市 2005–2014 年无偿献血者因 ALT, HBsAg, 抗-HCV, 抗-TP 淘汰的情况总体呈递减趋势,而抗-HIV 不合格呈上升趋势。血液检测 5 项项目淘汰的情况由高至低依次是 ALT(5.72%), HBsAg(0.73%), 抗-TP(0.41%), 抗-HCV(0.28%), 抗-HIV(0.01%)。从构成比看,2005–2014 年无偿献血者主力军的年龄段是 18–34 岁,而 25–34 岁男性献血者血液淘汰率明显高于其他年龄段的献血者。**结论** 从低危人群中进行无偿献血招募工作,加强献血前征询,并采取有效的措施控制血液检测淘汰率,才能减少不必要的浪费,真正做到节约有限的血液资源。

关键词:江门;无偿献血者;血液检测淘汰

中图分类号:R457.1¹ R193.3 R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0067-03

Statistical analysis on the situation of disqualifying unpaid blood donors in Jiangmen in 2005–2014 LIAO Huirong, WENG Yangqiao, GU Jingping, CHEN Rimeng. Central Blood Station of Jiangmen, Guangdong 529000, China.

Abstract: Objective To statistically analyze the situation on unpaid donors' blood tests from 2005 to 2014 in Jiangmen, and to analyze the differences between age and gender, in order to improve recruitment of unpaid blood donors and reduce unnecessary waste of blood resources. **Methods** The situation on unqualified status of unpaid donors' blood each year was analyzed and compared during a period of ten years in the city. The blood donors of different age and gender were screened for ALT, HBsAg, anti-HCV, anti-TP, anti-HIV. Additionally, a retrospective analysis was conducted on the results. **Results** The disqualified rate due to ALT, HBsAg, anti-HCV and anti-TP exhibited a decreasing trend, but the disqualified rate due to the presence of anti-HIV displayed an increasing trend in Jiangmen from 2005 to 2014. The blood disqualification rate of five test projects ranged as followed: ALT

(5.72%)，HBsAg (0.73%)，anti-TP (0.41%)，anti-HCV (0.28%)，anti-HIV (0.01%)。From the constituent ratios, males aging from 18 to 34 years old constitute the main force of unpaid blood donors in 2005–2014, and male donors aging from 25 to 34 year old had a disqualification rate significantly higher than other donors of different age groups. **Conclusion** Blood donors should be recruited from a low risk population. Consultation should be carried out before blood collection, and effective measures should be taken to control the rejection rate in blood test. This can help to reduce unnecessary waste of blood and conserve the limited resource of blood.

Key words: Jiangmen; unpaid blood donors; blood test; eliminate

对江门地区 2005–2014 年无偿献血者血液检测情况进行分析统计,以便采取有效的措施控制血液的报废,节约有限的血液资源,并为更好地进行无偿献血者的招募工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 本市 2005–2014 年无偿献血者全血标本 405 858 人次,献血者均符合《献血者健康检查要求》,体检、ALT 和 HBsAg 快速筛查均合格,献血量在 200–400 mL。

1.2 试剂与仪器 全自动加样仪 EVO150/8(瑞士帝肯),全自动酶免分析仪 FAME24/20(瑞士费米), COBAS 自动生化分析仪(瑞士罗氏),恒温培养箱 MIR-153(日本三洋),全自动生化分析仪(深圳迈瑞),340RT 酶标仪(奥地利),SUNRISE 酶标仪(奥地利),上海酶标洗板机 CB701。仪器日常试验后进行基本维护和保养,每年定期校验,确保仪器处于良好状态。HBsAg 检测试剂(北京万泰 B20090407,B20101205;珠海丽珠 20081018,2010050508;梅里埃 BIOKA,20120402)、抗-HCV 检测试剂(北京万泰 C20080710,C20100710;北京金豪 200807074,200903022;美国强生傲拓

EXE180,EXE203)、抗-TP 检测试剂(北京万泰 200907077,N20110607;厦门新创 2008077506,2011047506)、抗-HIV 检测试剂(珠海丽珠 20080628,20090628;北京金豪 200812114,201004068;法国伯乐 9G117,2E0220)、ALT 检测试剂(罗氏 604525-01,644063-01;澳斯邦 90401,101101)。所有试剂均为中国药品生物制品检定所批批检合格,在有效期内使用,严格按照说明书操作。质控品购于卫生部临检中心,北京康彻思坦公司(批号:200905002,201003001,201102002),使用前进行相应项目的确认。

1.3 检测方法 ALT 采用速率法进行检测,速率法 ≥ 40 IU 为不合格,HBsAg、抗-HCV、抗-TP、抗-HIV 均采用 ELISA 法,每个项目均由 2 种不同厂家的试剂、不同人员进行检测。抗-HIV 检测结果为有反应性的标本送至市 CDC 艾滋病确证实验室做 WB 法确认。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计学软件中 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果(表 1、2)

表 1 2005–2014 年无偿献血者 5 项血液检测结果

| | 检测人次(n) | 淘汰人次(%) | ALT(%) | HBsAg(%) | 抗-HCV(%) | 抗-TP(%) | 抗-HIV(%) |
|--------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| 2005 年 | 34 437 | 3 037 (8.82) | 2 426 (7.04) | 305 (0.89) | 133 (0.39) | 173 (0.50) | 0 |
| 2006 年 | 35 107 | 3 895 (11.09) | 3 165 (9.02) | 353 (1.01) | 145 (0.41) | 232 (0.66) | 0 |
| 2007 年 | 39 864 | 4 327 (10.85) | 3 624 (9.09) | 370 (0.93) | 127 (0.32) | 206 (0.52) | 0 |
| 2008 年 | 43 709 | 5 231 (11.97) | 4 466 (10.22) | 371 (0.85) | 153 (0.35) | 237 (0.54) | 4 (0.01) |
| 2009 年 | 42 860 | 4 527 (10.56) | 4 003 (9.34) | 275 ((0.64) | 94 (0.22) | 149 (0.35) | 6 (0.01) |
| 2010 年 | 42 744 | 2 335 (5.46) | 1 896 (4.44) | 198 (0.46) | 83 (0.19) | 151 (0.35) | 7 (0.02) |
| 2011 年 | 42 296 | 1 436 (3.40) | 916 (2.17) | 278 (0.66) | 95 (0.22) | 140 (0.33) | 7 (0.02) |
| 2012 年 | 42 235 | 1 588 (3.76) | 1 027 (2.43) | 272 (0.64) | 128 (0.30) | 151 (0.36) | 10 (0.02) |
| 2013 年 | 41 343 | 1 409 (3.41) | 913 (2.21) | 276 (0.67) | 81 (0.20) | 129 (0.31) | 10 (0.02) |
| 2014 年 | 41 263 | 1 254 (3.04) | 792 (1.92) | 259 (0.63) | 81 (0.20) | 113 (0.27) | 9 (0.02) |
| 合计 | 405 858 | 29 039 (7.15) | 23 228 (5.72) | 2 957 (0.73) | 1 120 (0.28) | 1 681 (0.41) | 53 (0.01) |

注:2005 年与 2014 年 ALT、HBsAg、抗-HCV、抗-TP 的淘汰率比较, χ^2 分别=1211.472、16.896、24.016、26.043,均为 $P<0.001$;2005 年与 2014 年抗-HIV 淘汰率比较(Fisher 精确检验) $P<0.05$

表 2 2005–2014 年无偿献血者不同年龄段及性别不合格情况分布

| | 性别 | 检测人次(%) | ALT(%) | HBsAg(%) | 抗-HCV(%) | 抗-TP(%) | 抗-HIV(%) | 淘汰率(%) | |
|----------|-----|-----------------|----------------|--------------|------------|------------|------------|----------------|--------------|
| 年龄(岁) | 18- | 男 | 91 091 (22.44) | 4 981 (5.47) | 611 (0.67) | 190 (0.21) | 81 (0.09) | 12 (0.01) | 5 875 (6.45) |
| | | 女 | 59 212 (14.59) | 1 521 (2.57) | 277 (0.47) | 94 (0.16) | 110 (0.19) | 4 (0.01) | 2 006 (3.39) |
| 25- | 男 | 101 733 (25.03) | 8 920 (8.77) | 936 (0.92) | 399 (0.40) | 389 (0.38) | 14 (0.01) | 10 658 (10.48) | |
| | | 女 | 37 089 (9.14) | 1 166 (3.14) | 215 (0.58) | 95 (0.26) | 248 (0.67) | 0 | 1 724 (4.65) |
| 35- | 男 | 63 792 (15.72) | 4 832 (7.57) | 588 (0.92) | 235 (0.37) | 427 (0.67) | 12 (0.02) | 6 094 (9.55) | |
| | | 女 | 26 259 (6.47) | 752 (2.86) | 151 (0.58) | 47 (0.18) | 216 (0.82) | 4 (0.02) | 1 170 (4.46) |
| 45- | 男 | 20 265 (4.99) | 948 (4.67) | 153 (0.75) | 48 (0.24) | 165 (0.81) | 5 (0.02) | 1 319 (6.49) | |
| | | 女 | 6 219 (1.53) | 180 (2.89) | 24 (0.39) | 11 (0.18) | 43 (0.69) | 2 (0.03) | 260 (4.18) |
| 56-60 | 男 | 187 (0.05) | 4 (2.14) | 0 | 1 (0.53) | 1 (0.53) | 0 | 6 (3.2) | |
| | | 女 | 11 (0) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| χ^2 | 男 | / | 1 005.258 | 47.741 | 62.163 | 441.700 | 2.094 | / | |
| | 女 | / | 28.219 | 9.391 | 11.687 | 205.272 | 9.600 | / | |
| P | 男 | / | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | >0.05 | / | |
| | 女 | / | <0.0001 | >0.05 | <0.05 | <0.0001 | <0.05 | / | |

3 讨论

由表 1 可见,本市 2005–2014 年无偿献血者血液检测淘汰率在年度间存在统计学差异 ($P < 0.05$), 总淘汰率为 7.15%。远远高于某些地区的文献报道,广西贵港地区 3.921%^[1],四川德阳地区 4.04%^[2]。血液检测淘汰率由高至低依次为 ALT>HBsAg>抗-TP>抗-HCV>抗-HIV。ALT 淘汰率是历年来最高的,也是血液报废的首要原因。自 2010 下半年开始增加了献血前进行 ALT 快速初筛后,ALT 的淘汰率明显下降,减少了不必要的血液浪费。ALT(2005–2009 年)平均淘汰率由 8.9% 下降到(2011–2014 年)2.18%,略低于安徽 2.76%^[3]。HBsAg、抗-HCV、抗-TP 的淘汰率从 2005–2014 年总体呈下降趋势,HBsAg 的平均感染率 0.73%,这说明胶体法进行 HBsAg 初筛也有一定的误差率:1)试剂不够灵敏而一些弱阳性漏检,毕竟金标试纸条的灵敏度为 20 ng/mL,而实验室试剂灵敏度可以达到 0.2 IU/mL (1 IU/mL = 0.5 ng/mL);2)有些献血者 HBsAg 浓度过高会造成前带现象,检测区沉淀线颜色弱不易辨认造成漏检^[4];3)反应时间不够造成误读结果。在采取献血者抗-HCV 筛查前,输血曾经是感染抗-HCV 的主要途径^[5]。随着采供血机构的质量管理日益规范,抗-HCV 检测试剂的灵敏度和特异性也不断提高,以及 1998 年《献血法》的颁布实施,输血传播 HCV 的风险也不断降低^[6]。而抗-HIV 的阳性确证例数呈上升趋势,存在由高危人群向献血人群发展的趋势^[7],不排除部分顾及个人隐私,不愿意到医院或者疾控机构进行 HIV 检测,而以献血为由进行 HIV 检测的因素,这无形当中增加了血液检测的压力。所以加强献血宣传,进行献血咨询,排除高危献血人群可进一步保障血液安全。

从表 2 可以看出,从构成比来看,男性是无偿献血者的主力军,特别是 18–34 岁的男性献血者。男性献血者的 ALT 淘汰率显著高于女性献血者,还有本站多年来街头采血大部分安排在晚上,此时间段采集的血液产生乳糜机率增高,乳糜血对检测 ALT 有不同程度的影响。不同年龄段男性无偿献血者 ALT 的淘汰率由高至低排列为 25->35->18->45->56–60 岁,不同年龄段女性无偿献血者 ALT 的淘汰率由高至低的排列为 25->45->35->18->56–60 岁。55–60 岁献血者

多是固定献血者,所以合格率较高,因而淘汰率也相对降低;18–24 岁各项目检测的淘汰率也相对较低,此年龄段的献血者多为在校大学生,也是我们献血者的主要组成部分;HBsAg、抗-TP 的淘汰率 25–44 岁高于其他,HBsAg 感染的机率高,可能是 1992 年前出生的人群还未实行国家计划免疫,部分感染者是由于胎盘垂直传播造成的感染;抗-TP 高于其他年龄段的原因可能是 25–44 岁女性通过性传播感染的机率高些,我们除了要加大这年龄段防范意识的宣传外,可在有条件情况下开展献血前 TP 筛查,降低抗-TP 的淘汰率。而 35–55 岁献血者抗-TP、抗-HIV 的淘汰率明要显高于其他年龄段的,抗-HIV 的淘汰率在 0.02%–0.03% 之间,高于全国献血人群抗-HIV 确证阳性率^[8]。

参 考 文 献

- [1] 杨坤, 黄新宝. 2005–2013 年贵港市无偿献血者血液检测不合格结果分析. 中国输血杂志, 2014, 27(6): 636–637.
- [2] 钱立琼, 蹇志伟, 谭金旭. 德阳市 2007–2011 年无偿献血者血液检测结果分析. 中国输血杂志, 2012, 25(12): 1312–1314.
- [3] 范文安, 刘丽, 洪李霞. 2007–2011 年安徽省无偿献血者血液检测结果分析. 临床输血与检验, 2013, 15(4): 369–372.
- [4] 毕承恩, 瞿文金, 杨婷. 胶体金法检测街头 HBsAg 漏检原因分析. 中国输血杂志, 2014, 27(6): 649–651.
- [5] Prati D. Transmission of hepatitis virus by blood transfusions and other medical procedures: a global review. J Hepatol, 2006, 45(4): 607–616.
- [6] Fuy, Xia W, Wang Y, et al. The seroprevalence of hepatitis virus (Hcv) among 559 890 first-time volunteer blood donors in China reflects regional heterogeneity in Hcv prevalence and changes in blood donors recruitment models. Transfusion 2010, 50(7): 1505–1511.
- [7] 严根兴, 沈翠芬, 邹伟华, 等. 临床患者输血前传染性标志物的检测意义. 中华医院感染学杂志, 2010(6): 803–804.
- [8] 宋文倩, 张丽, 高勇. 全国 357 家省市两级采供血机构检测的献血人群 HIV 检出率调查. 中国输血志, 2012, 25(12): 1244–1246.

(2016-02-29 收稿, 10-20 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,有冒名“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,对我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 ·

Lewis 血型系统抗体在备血患者中检出情况分析

吴思梦 王秋实[△] 何燕京 海亚男(中国医科大学附属盛京医院 输血科,辽宁 沈阳 110004)

摘要:目的 调查 Lewis 血型系统抗体在备血患者中的检出率及分布情况。**方法** 对抗体筛选阳性的标本做抗体鉴定。抗体筛选及交叉配血采用微柱凝胶抗球蛋白法及盐水介质试管法;抗体鉴定采用微柱凝胶抗球蛋白法;抗原鉴定采用试管法;并回顾分析本院 Lewis 血型系统抗体阳性患者的临床资料。**结果** 94 例存在 Lewis 血型系统抗体患者中,抗-Le^a89 例,抗-Le^b4 例,抗-Le^a+Le^b1 例,检出率分别是 5.69×10^{-4} 、 0.26×10^{-4} 、 0.06×10^{-4} ;Lewis 血型均为 Le(a-b-);女性患者显著多于男性患者($P < 0.01$);妊娠期患者多见,共 35 例,占 37.2%。17 例输血患者,无 1 例发生溶血反应。**结论** Lewis 血型系统抗体意义值得探讨,盐水介质试管法和微柱凝胶抗球蛋白 2 种方法同时配血,可加强输血安全。

关键词:Lewis 血型系统抗体;抗-Le^a;抗-Le^b;抗-Le^a+Le^b

中图分类号:R457.1¹⁺¹ **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0070-03

Analysis on detection of Lewis blood group system antibodies in patients with blood preparation WU Simeng, WANG Qiushi, HE Yanjing, HAI Yanan. Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China. Corresponding author: WANG Qiushi

Abstract:Objective To investigate the detection rate and distribution of Lewis antibodies in patients with blood preparation.**Methods** Antibody identification was applied for screening positive specimens. Micro column gel antiglobulin method and saline medium test tube method were adopted for antibody screening and cross matching. Micro column gel antiglobulin method was also applied for antibody identification. A retrospective analysis was conducted on the clinical data from patients who had Lewis antibodies. **Result** Lewis antibodies were detected in 94 cases. Anti-Le^a was detected in 89 cases, anti-Le^b was detected in 4 cases, anti-Le^a+ anti-Le^b co-existed in 1 case, and the detection rate were 5.69×10^{-4} , 0.26×10^{-4} , and 0.06×10^{-4} , respectively. Female patients were significantly more than male patients ($P < 0.01$). They were more common in pregnant patients, in a total of 35 cases, which accounted for 37.2%. Among 17 cases of transfusion patients, no one experienced any hemolytic reaction. **Conclusion** The significance of Lewis blood group system antibodies is worth exploring. The adoption of micro column gel antiglobulin method and saline medium test tube method for cross matching can strengthen blood transfusion safety.

Key words:Lewis blood group system antibodies; anti-Le^a; anti-Le^b; anti-Le^a+Le^b

红细胞不规则抗体是指的 ABO 血型系统以外其他血型系统抗体,主要以 Rh 血型系统抗体为主的,红细胞不规则抗体可能引起急性或者迟发性溶血性输血反应,并可能引起的新生儿溶血症。Lewis 血型系统抗体在 1946 年第 1 次被发现。多数自然发生的,一般意义不大。但有文献报道,东南亚人群的 Lewis 抗体效价强度远远高于欧洲人群,可能造成严重的溶血性输血反应^[1]。我国也有抗-Le^a和抗-Le^b引起溶血性输血反应的报道^[2-4]。故 Lewis 抗体应引起我国输血工作者的重视。我们对本院输血科 2013-2015 年检测出的 Lewis 血型系统抗体进行回顾性分析,报告如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 取自 2013-2015 年本院住院及急诊拟输血患者共 146 896 人次进行不规则抗体筛查,其中男性 37 383

名,女性 109 513 名,年龄 1d-100 岁。

1.2 主要试剂与仪器 I、II、III 3 支装红细胞不规则抗体筛选细胞均来自上海市血液生物医药有限责任公司,11 支装谱细胞、微柱抗球蛋白卡、ABO、RhD 血型检测卡、伯乐 37℃恒温孵育箱、卡式离心机来自伯乐,16 支谱细胞来自荷兰 SanQuin;所有检测卡、试剂均批检合格并在有效期内使用。抗 Lea 和抗 Leb 来自上海血液生物医药有限责任公司。

1.3 检测方法

1.3.1 红细胞血型不规则抗体筛查试验 采用微柱凝胶抗球蛋白法进行不规则抗体筛查,操作方法参考说明书。判读原则凝集的红细胞在凝胶表面形成 1 条红线,或凝集物分散在凝胶中判读为阳性;红细胞在微管底部形成致密的扣状判读为阴性。阳性标本补充进行盐水介质试管法试验,镜检观察结果,有凝集判断为阳性。

1.3.2 红细胞不规则抗体特异性鉴定 红细胞血型不规则抗体筛查为阳性的标本做抗体特异性鉴定试验,方法为微柱凝胶抗球蛋白法,判读原理同红细胞不规则抗体筛查试验。

1.3.3 Lewis 血型鉴定 对鉴定出 Lewis 血型系统抗体的患

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.023

△通信作者:王秋实(1971.12-),女,医学博士,教授,主任医师,主要从事临床输血和干细胞免疫方面的研究,电话:024-96615-75114,Email:wangqs18@vip.126.com

者红细胞做 Lewis 抗原鉴定。采用试管法,按照试剂说明书进行。

1.3.4 交叉配血试验 抗筛阳性标本采取盐水法和微柱凝胶抗球蛋白法进行交叉配血试验,设主侧、次侧和自身对照。主侧、次侧和自身对照均阴性为配血相合。

1.4 统计学方法 应用 SPSS22.0 统计软件,计数资料采用描述性统计, Lewis 血型系统抗体性别比较采用卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 则为有显著差异。

2 结果

2.1 Lewis 血型系统抗体检出率及鉴定结果(表 1)

表 1 Lewis 血型系统抗体检出率及鉴定结果

| n | 检出率 ($\times 10^{-4}$) | 抗体鉴定方法 | |
|---------------------|-----------------------------|----------|------|
| | | 微柱凝胶抗球蛋白 | 盐水介质 |
| 抗-Le ^a | 89 | 6.06 | 89 |
| 抗-Le ^b | 4 | 0.27 | 4 |
| 抗-Le ^{a+b} | 1 | 0.07 | 1 |
| 总数 | 94 | 6.40 | 94 |

2.2 Lewis 血型 94 例 Lewis 抗体阳性的患者,Lewis 血型均为 Le(a-b-)。

2.3 Lewis 血型系统抗体性别比较(表 2)

表 2 Lewis 血型系统抗体性别比较

| | 男 | 女 |
|-------------|--------|---------|
| 含有 Lewis 抗体 | 12 | 82 |
| 不含 Lewis 抗体 | 37 371 | 109 431 |

注: $\chi^2 = 7.975$, $P < 0.01$

2.4 Lewis 血型系统抗体疾病分布情况(表 3)

表 3 Lewis 血型系统抗体疾病分布情况

| | n (%) |
|---|-----------|
| 晚期妊娠 | 35 (37.2) |
| 附件疾病(包括卵巢畸胎瘤, 输卵管系膜囊肿, 卵巢粘液性囊腺瘤, 输卵管慢性炎症) | 12 (12.8) |
| 子宫疾病(包括子宫内膜息肉, 子宫内膜癌, 宫颈癌, 子宫肌瘤) | 19 (20.2) |
| 血液系统疾病(包括再障, 急性白血病、MDS、贫血、血小板减少) | 5 (5.3) |
| 实体瘤(直肠癌, 肝癌、胰腺癌) | 8 (8.5) |
| 其他良性疾病 | 15 (16.0) |

2.5 配血及输血结果 94 例检出 Lewis 血型系统抗体患者中,17 例患者输血,选择应用 2 种方法配血相合的血液,未出现急性和迟发性溶血反应。

3 讨论

Lewis 系统中最重要的 2 个抗原是 Lea 及 Leb 抗原,表型主要包括 Le(a+b-)、Le(a-b+)、Le(a-b-)、Le(a+b+),除了红细胞表面,血小板、内皮细胞、肾脏、泌尿生殖上皮、胃肠道上皮也表达 Lewis 抗原。一般认为 Lewis 抗原并非红细胞合成,而是由血浆中吸附而来^[1]。

Lewis 血型系统抗体是较为常见的抗体,多数天然产生,室温以下反应最佳。抗体性质以 IgM 为主,IgG 性质的少见。一般认为体外试验中,37 °C 没有活性的 Lewis 血型系统抗体在体内不会过多清除所输注的抗原阳性的红细胞。受者血浆中的 Lewis 抗体可以被供者血浆中的 Lewis 血型物质中

和。因此,输血原则认为有 Lewis 血型系统抗体的患者可以输注 37 °C 交叉配血相容的血液即可^[1]。目前较多应用低离子抗人球蛋白卡进行抗体筛选,可以有效的检出 37°C 有反应型的 Lewis 血型系统抗体。

但是 Lewis 血型系统抗体可以结合补体,可引起体内溶血反应^[5],一旦漏检,可能会引起严重溶血反应。Irani MS 报告了 1 例肾癌非洲裔女性,输注的了电子配血的 2 单位红细胞 9 d 后再次输血时,发生了急性溶血反应,鉴定为输入了 Leb+ 血液诱导产生抗 Le^b 引起,而该抗体的在 37°C 介质中未检出,只表现为干扰患者反定型^[6]。输血前检查漏检 37 °C 无反应性的抗体在中国人群中是否存在风险,还有待研究^[7]。我们对于 37°C 检出的 Lewis 血型系统抗体,采用盐水介质和微柱凝胶技术 2 种配血方法,应用临床后未发生急性和迟发性溶血反应。

有文献报道^[8],妊娠期间 Lewis 抗原量下降,出现一过性 Le(a-b-) 表型,孕妇可能产生 Lewis 血型系统抗体。并且有一部分孕妇即使 Lewis 抗原阳性,依然会产生 Lewis 血型系统抗体^[9]。本调查显示,在 94 例存在 Lewis 血型系统抗体的患者中,妊娠期患者占 37.2%,应该与此相关。因此妊娠患者的输血相容性检查中的,更应该重视的反应较弱的抗体,避免 Lewis 血型系统抗体漏检。

综上所述,单一医院中 37°C 有活性的 Lewis 血型系统抗体的检出率为 0.064%,为低频发生抗体。但是在妊娠女性和妇科疾病女性发生率较高。尽管偶有报道 Lewis 血型系统抗体可以引起溶血反应,但其仍然不是临床重要抗体,对于大多数患者也没有必要输注 Lewis 抗原阴性的红细胞^[10]。Lewis 血型系统抗体也不会导致新生儿溶血,因其性质主要为 IgM,不会通过胎盘,并且胎儿红细胞表面也并不表达 Lewis 抗原^[10]。因此,对于 Lewis 血型系统抗体,建议采用低离子抗人球蛋白卡和室温盐水试管法同时配血,可以有效保证输血安全。

参 考 文 献

- [1] 杰夫·丹尼尔. 人类血型. 北京: 科学出版社, 2007; 9-27, 70-72.
- [2] 叶健忠, 蔡于旭, 梁延连, 等. IgG 抗-Lea 致严重溶血性输血反应 1 例及其家系调查. 中国输血杂志, 2003, 16(4): 287-288.
- [3] 郭萍, 涂源泉, 向东, 等. 抗-Leb1 例报告. 中国输血杂志, 2004, 17(5): 362.
- [4] 毛娟, 吴大洲, 王满妮, 等. 聚凝胺漏检抗-Lea 致溶血性输血反应 1 例. 中国输血杂志, 2013, 26(2): 178-179.
- [5] 张维民, 向东, 刘达庄. 罕见的 Lewis 血型系统抗体 1 例. 中国输血杂志, 2002, 15(3): 196.
- [6] Irani MS, Figueroa D, Savage G. Acute hemolytic transfusion reaction due to anti-Le(b): 2015, 55(10): 2486-2468.
- [7] 张烨, 刘素芳, 张磊, 等. Lewis 血型系统抗体的研究. 北京医学, 2015, 37(6): 592-593.
- [8] 胡丽华. 临床输血学检验. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 22-23.
- [9] Farheen Karim, Bushra Moiz, Nausheen Kamran. Risk of maternal alloimmunization in Southern Pakistan-A study in a cohort of 1000 pregnant women. Transfusion and Apheresis Science, 2015 (52):

99-102.

(2016-05-14 收稿, 2017-01-15 修回)

- [10] The American Association of Blood Bank, AABB Technical Manual
18th Edition, chapter 12, ABO, H, and Lewis Blood Groups;306.

本文编辑:李宜蔓

· 论著 ·

输血科拒收不合格标本原因分析与持续改进

徐荣华 秦雯 熊春花 赵惠菊 邢亚萍(昆明市第一人民医院 输血科, 云南 昆明 650011)

摘要:目的 对 2013–2015 年输血科拒收的不合格标本原因分析总结, 提出方案, 不断持续改进, 为临床提供安全的血液输注。**方法** 分别列出 2013–2015 年各项拒收不合格标本原因, 计算各拒收原因占百分数比例, 统计 χ^2 值与 P 值, 对拒收不合格标本原因进行分析总结, 实施持续改进方案。**结果** 2013–2015 年不合格标本数分别为 251 例(占 2.53%)、185 例(占 1.39%)、157 例(占 0.91%), $\chi^2 = 116.3$, $P < 0.05$, 差异有统计学意义。原因分别为非医护人员送血标本、血标本采集管用错、血标本采集管无标签或填写不清、血标本量<3 mL(儿科除外)、血标本被稀释、血标本溶血(溶血疾病除外)、血标本经肝素或大分子物质治疗过、申请单血型漏填或填错、申请单输血史及妊娠史漏填或填错、申请单 Hb、Hct 及输血前 4 项漏填或填错、申请单血液品种及血量漏填或填错、申请单预定用血日期漏填或填错、申请单两级医师签字漏填或填错。总共 13 项原因, 前 11 项原因百分比都有逐年下降趋势, 只有最后两项百分比却逐年上升。**结论** 重视输血科标本接受核对问题, 增强对护理人员“输血采集血标本的管理制度”的培训, 输血科工作人员及临床送检标本人员严格执行“输血标本验收核对制度”, 从而保证临床输血的安全性。

关键词:输血标本; 持续改进; 安全**中图分类号:**R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0072-03

Cause analysis and continuous improvement of unqualified samples in blood transfusion department XU Ronghua, QIN Wen, XIONG Chunhua, ZHAO Huiju, XING Yaping. Department of Blood Transfusion of The First People's Hospital of Kunming, Kunming 650003, China.

Abstract: Objective To analyze the reasons for rejection for unqualified samples in the department of blood transfusion in the past three consecutive years, to put forward a plan on continuous improvement in order to provide safe blood transfusion.**Methods** The reasons of unqualified samples in 2013, 2014 and 2015 were summarized based on calculated percentage, statistical χ^2 value and P value. A continuous improvement program was carried out in accordance with the analysis of the unqualified samples.**Result** In 2013, 2014, 2015, the number of rejected specimens were 251 cases (2.53%), 185 cases (1.39%) and 157 cases (0.91%). The difference was statistically significant ($\chi^2 = 116.3$, $P < 0.05$). The thirteen reasons were as followed: 1) non medical personnel were assigned to send blood specimens, 2) erroneous use of blood specimen collection tube, 3) mislabeling of blood specimen collection tube, 4) inadequate amount of blood in the collecting tube (except for pediatric patients), 5) diluted blood samples, 6) hemolysis (hemolytic disease excluded), 7) blood samples by heparin or macromolecular substance treatment, 8) absence of patient blood type in label, 9) inaccurate past history of blood transfusion and pregnancy, Hb and Hct, 10) detection of infectious virus before transfusion, 11) mistaken scheduled date for blood transfusion, 12) absence of secondary level doctor signatures on the application forms, or 13) all of these items were filled inaccurately on the form. Among a total of 13 reasons, the first 11 reasons had decreased year by year in percentage, only the last two reasons had increased year by year. **Conclusion** More attention should be paid to surveillance before receiving the blood specimen. Attention should be given to enhance nurses' training on "blood transfusion blood collection management system." Blood transfusion department staff and clinical specimens staff should strictly enforce the "blood specimen acceptance inspection system", so as to ensure the safety of clinical blood transfusion.

Key words:blood transfusion; continuous improvement; safety

输血是临床救治危重病人的手段之一, 过程复杂, 涉及环节和部门较多, 需要临床医师、护士和输血科技术人员共同参与^[1]。然而标本的正确采集及验收核对是输血的第一

环节, 此环节是进行所有后续实验的基础。为了受血者得到安全、有效、准确、无误的治疗, 万万不能在此环节出现任何差错。血液标本规范化管理建议:1) 严格遵循《临床输血技术规范》, 从临床输血申请到血液输入各个环节把好核对关。

2) 临床和血库要制定血液标本标准操作规程(SOP)。血液标本采集、送检要求严格执行《临床输血技术规范》^[2]。本科 2012 年 3 月制定“输血采集标本管理制度”,“输血标本验收核对制度”及相关流程。我们对 2013~2015 年输血科拒收不合格标本出现问题原因进行分析总结。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2013~2015 年本科分别收取临床送检输血标本总数为 9 928 例、13 345 例、17 343 例。当面拒收不合格标本数分别为 251 例、185 例、157 例。

1.2 方法统计 3 年拒收不合格标本原因例数及所占总数比例,计算 χ^2 值与 P 值,对拒收不合格标本原因进行分析总结,实施持续改进方案。

2 结果

2.1 2013~2015 年拒收不合格标本原因 2013~2015 年本科拒收不合格标本数为 251 例(2.53%)、185 例(1.39%)、157 例(0.91%),差异有统计学意义($\chi^2 = 116.3, P < 0.05$)。总共 13 项原因,前 11 项原因百分比都有逐年下降趋势,后 2 项拒收不合格标本原因,申请单预定用血日期漏填或填错与申请单两级医师签字漏填或填错百分比却逐年上升。其中非医护人员送血标本、申请单 Hb、Hct 及输血前 4 项漏填或填错、申请单预定用血日期漏填或填错、申请单两级医师签字漏填或填错这几项原因中占有比例较大。如表 1 所示。

表 1 2013~2015 年拒收不合格标本原因对比

| | 2013 年 <i>n</i> (%) | 2014 年 <i>n</i> (%) | 2015 年 <i>n</i> (%) |
|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 非医护人员送血标本 | 55(21.91) | 36(19.46) | 28(17.83) |
| 血标本采集管用错 | 6(2.39) | 2(1.08) | 1(0.65) |
| 血标本采集管无标签或填写不清 | 19(7.57) | 10(5.41) | 5(3.18) |
| 血标本量<3 mL(儿科除外) | 15(5.98) | 10(5.41) | 6(3.82) |
| 血标本被稀释 | 5(1.99) | 3(1.62) | 0(0) |
| 血标本溶血(溶血疾病除外) | 6(2.39) | 4(2.16) | 2(1.27) |
| 血标本经肝素或大分子物质治疗过 | 3(1.20) | 1(0.55) | 0(0) |
| 申请单血型漏填或填错 | 8(3.19) | 5(2.70) | 1(0.65) |
| 申请单输血史及妊娠史漏填或填错 | 14(5.58) | 8(4.32) | 4(2.55) |
| 申请单 Hb、Hct 及输血前 4 项漏填或填错 | 36(14.34) | 23(12.43) | 18(11.46) |
| 申请单血液品种及血量漏填或填错 | 18(7.17) | 13(7.03) | 6(3.82) |
| 申请单预定用血日期漏填或填错 | 28(11.15) | 25(13.51) | 35(22.29) |
| 申请单两级医师签字漏填或填错 | 38(15.14) | 45(24.32) | 51(32.48) |
| 总计 | 251(100) | 185(100) | 157(100) |

3 讨论

按临床输血质量管理体系要求,制定和执行血液标本规范化管理制度,才能提高输血前试验标本质量^[3]。“输血采集标本管理制度”与“输血标本验收核对制度”是输血科四大核心制度之一,它的重要性输血科工作人员人人皆知。我科于 2012 下半年重新修订了此制度,并修订相关流程和程序。

连续 3 年统计数据中,申请单预定用血日期漏填或填错与申请单两级医师签字漏填或填错 2013~2015 年百分比逐年上升。根据分析,是由于 2014 年统一使用了电脑纸制打

印“临床输血申请单”。整个流程是由医生开具医嘱并向输血科信息系统中发出输血申请,再由护士打印条形码,并将条形码粘贴于真空采血管的管壁上进行抽血。由以前的人工填写申请单改变成电脑系统自动化打印。开单医生可能由于不熟悉和不适应程序,造成后两项原因指标升高。

非医护人员送血标本在总因素中占有的比例很大。2013~2015 年分别为 55 例(21.91%)、36 例(19.46%)、28 例(17.83%)。现今由于医务工作者工作繁忙,资质技术人员缺乏,非医护人员经常参与一些医务工作。输血科是绝对禁止。因为非医护人员送血标本过程中泄露等现象,可能造成血样交换、污染错误^[4],直接影响结果正确性。

申请单漏填 Hb、Hct 及输血前 4 项也占有大比例。2013~2015 年分别为 36 例(14.34%)、23 例(12.43%)、18 例(11.46%)。有些急诊病人抽检结果未回,临床医生因此漏填此项;而有些医生认为没必要填写此项。患者输血前的 Hb 及 Hct 水平是判断患者是否满足输血适应症的要求,以及评价输血治疗效果的重要依据^[5]。此项目漏填,我们无法了解患者的贫血状态,也无法判断患者是否符合输血适应症。输血前 4 项可以大大提高患者治疗的安全性,最大程度降低医务人员在医疗过程中发生职业暴露的风险^[6]。是输血传播疾病的有力证据。因此输血前必须抽取患者血样做 Hb、Hct 和输血前 4 项实验。

血标本采集管用错及血标本采集管无标签或填写不清这两项原因 2013 年比例也很高,2015 年时比例就很低了。属于“输血采集标本管理制度”的内容。据调查,有一半输血差错发生在床边^[7],采血护士张冠李戴。2013~2015 年每半年我们就相关知识对临床护理人员及输血科工作人员进行培训。临床采血人员遵循“一对一”,严格执行“三查十对”^[8]。1 位医护人员不得同时采集 2 位患者的血标本,保证采血和填写标签人员由同 1 人完成,遵守“一人一次一管”的原则。

血标本量<3 mL、血标本被稀释、血标本溶血、血标本经肝素或大分子物质治疗过,虽然这些因素所占比例低,但这些情况都会影响输血科技术人员交叉配血结果的准确性,很可能对我们的实验结果造成假阴性或者假阳性。

申请单中“输血史”和“妊娠史”空项填写,2013~2015 年分别为 14 例(5.58%)、8 例(4.32%)、4 例(2.55%)。如果受血者没有输血史和妊娠史,那么极少会产生具有临床意义的抗体^[9]。如果有输血史,则有必要进一步了解最后 1 次输血的日期,若受血者在过去的 3 个月内输过血,那么供血者的红细胞没有完全代谢掉,导致血型定型试验中出现混合凝集的结果。如果有妊娠史,也可能产生一些抗体导致血型定型试验正反不符或交叉配血不相合,也可能导致回忆反应的发生。

对于输血科工作人员,我们要加强输血标本接收核对问题标准化规范化管理,加强责任心,树立安全意识,严格执行程序并持续改进。1)首先对送检人员进行审核。
① 必须是有资质的医护人员。
② 送检者的送检箱是否符合要求。
③ 送检人员所带相应登记本是否正确。
2)核对输血标本采集管外观情况。
① 是否是输血科所要求的采集管。
② 采集管上

面的标签是否遮盖刻度线。③采集管上条形码或标签上的信息是否包含了患者身份信息资料^[10](姓名、性别、年龄、科别、住院号、床号、检查项目、采集时间)。3)核对输血标本血液质量情况。①标本的血量是否<3 mL(儿科病人除外)。②标本是否有溶血现象(溶血性疾病可例外)。4)核对《临床输血申请单》上的内容。①申请单上的信息(姓名、性别、年龄、科别、住院号、床号)与采集管条形码或标签上患者信息是否相符。②ABO、Rh 血型是否填写正确。③是否填写输血史及妊娠史。④是否漏填 Hb、Het 及输血前四项值,如已送检验科检测但结果未出是否已填写“结果未回”字样。⑤申请血液品种及血量是否填写正确。⑥申请用血日期或预定用血日期是否正确。⑦是否有两级医师签字。⑧用血情况是否填写正确。(如“择期手术备血”、“急诊手术备血”、“配好即输”字样)。5)核对需要申请特殊血型的血液是否按要求提前申请及加于特殊标注。6)核对申请用血量是否属于大量用血,如属于,通知需补充相关表格和程序。7)核对完毕接收后须在《输血科标本接收核对记录本》上登记签名确认。8)必须与临床送检人员当面核对标本相关信息。如有任何疑问必须当面询问或第一时间联系临床申请医生,《临床输血申请单》与标本有不合格问题,应当面拒收。

总之,输血科标本的验收核对问题直接关系到输血科能否顺利完成配血工作和发出符合要求的血液,一旦出现错误,将导致极为严重的后果。展望今后,我们将采取一些持续改进措施:1)不断加强所有医护人员及输血科全体工作人员的培训。2)可以对电脑申请单项目填写进行改良,要求完善相关内容填写,才可以开具相应申请单。3)电脑系统可以设置申请单空项 Hb、Het 的临界值,低于某个数值才可以开具申请单。对于特殊急救病人开具特殊紧急申请单。4)对于申请输注血浆的申请单设置“凝血四项”指标。5)打印出

申请单后,电脑桌面会有对话框提示必须签名信息。只有对此环节把好关,想尽办法做好第一步,才能保证了输血的质量,确保了患者的安全^[11]。

参 考 文 献

- [1] 郭永建.《医疗机构临床用管理办法》之研读.中国输血杂志,2012,25(6):613-616.
- [2] 李晓雪,吉素清,兰炯采.血液标本规范化对安全有效输血的影响.中国输血杂志,2012,25(11):1216-1218.
- [3] 关艳丽.建立临床输血质量管理体系探讨.中国医学创新,2012,9(3):147-149.
- [4] 李晓雪,赵素香,赵青.患者输血前试验血液标本拒收原因分析.临床输血与检验,2014,16(2):176-177.
- [5] 易利平.临床输血申请单及配血标本质量分析.国际检验医学杂志,2016,37(6):835-836.
- [6] 朱兴华,徐晓都.患者输血前检查结果分析及检查必要性探讨.医药前沿,2016,6(9):67-70.
- [7] 范小军,王兰萍,谢会军.血型鉴定不合格标本拒收原因分析及预防措施.甘肃医药,2016,35(1):53-54.
- [8] 赵君.系统追踪在安全输血管理中的应用.医疗装备,2016,29(8):180-181.
- [9] 杨秀华,杨惠宽,黄建云.不规则抗体筛查分布及临床意义.中国输血杂志,2014,29(9):899-902.
- [10] 吴晓燕,张叶峰,许昌林,等.临床输血过程控制及关键环节的管理和应用.中国输血杂志,2012,1(1):63-64.
- [11] 李忠发.临床输血技术规范研究.中国卫生标准管理,2015,17:179-180.

(2016-06-30 收稿,2017-01-10 修回)

本文编辑:李宜蔓

《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》出版

为庆贺《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,又颇具有保存和收藏的价值。

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)

· 短篇论著 ·

· 经验与方法 ·

对多次单采血小板献血者外周血象部分参数变化的观察

叶盛 郑珊峡[#] 傅强[△](南京红十字血液中心,江苏南京 210003)

摘要:目的 探讨多次反复捐献单采血小板对献血者外周血象部分参数的影响。**方法** 选择 2013 年 1 月–2015 年 12 月间,连续 2 年捐献机采血小板且每年捐献 16 次以上的献血者 54 例,每献血 3 次取样 1 次,共 12 次,比较其献血前的外周血象 4 项指标的变化。**结果** 比较血小板(Plt)、红细胞计数(RBC)和红细胞比容(Hct),多次献血前后差异无统计学意义($P>0.05$);血红蛋白(Hb)多次献血后和初次献血时比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 多次捐献单采血小板可以使献血者血红蛋白降低。

关键词:献血者;单采血小板;外周血象

中图分类号:R457.1 R446.61 **文献标识码:**B **文章编号:**1004-549X(2017)1-0075-02

Observation of the changes of peripheral blood parameters in frequent platelet apheresis donors ZHENG Shanzia, FU Qiang, YE Sheng. Nanjing Red Cross Blood Center, Nanjing 210003, China. Corresponding author: YE Sheng

Abstract: **Objective** To investigate the impact of frequent platelet apheresis on donors' several peripheral blood parameters. **Methods** 54 donors who donated platelet more than 16 times annually in two consecutive years from January 2013 to December 2015 were selected. Blood samples were collected every three platelet donations, in a total of 12 times. The changes of 4 indexes in pre-donation peripheral blood parameters were compared. **Results** There was no statistical difference in PLT, RBC and Hct between first and the other 11 platelet donations ($P>0.05$), but the Hb declined significantly ($P<0.05$). **Conclusion** Frequent platelet apheresis donations can reduce the hemoglobin level in donors.

Key words: donors; apheresis platelet; peripheral blood parameters

近年来,患者输注单采血小板,因其一次暴露于同种异体抗原少,同种免疫反应发生率低的优点,已经成为临床血小板使用的主要品种。2012 年 7 月 1 日开始实施的《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)规定,机采血小板献血间隔由原来的不少于 4 周缩短为不少于 2 周,每年可捐献单采血小板不多于 24 次,总量不超过 10 L。因此,献血者的捐献频次较之前大为增加,为观察缩短后的单采血小板捐献间隔是否会对献血者外周血象产生影响,我们选择 2013 年 1 月–2015 年 12 月间,连续 2 年捐献机采血小板且每年捐献 16 次以上的献血者 54 名,比较每隔 3 次共 12 次献血前的外周血象 4 项指标的变化,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 观察对象 选取 2013 年 1 月–2015 年 12 月连续捐献 2 年,且年捐献 16 次以上的无偿献血者 54 名,其中,男性 45 名,女性 9 名。年龄 27–60 岁(2015 年 12 月统计),平均 44 岁,连续 2 年总献血次数 33–46 次,平均 39 次。捐献前体检和血液初筛结果均符合《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)。

1.2 仪器、耗材与试剂 血细胞计数仪: BC-3200 全自动血细胞分析仪(深圳迈瑞);血细胞分离机: Amicus 血细胞分离机(美国百特)、Trima Accel 血细胞分离机(美国比斯特)

和 MCS Plus 血细胞分离机(美国血技)及其各自机器配套耗材,每次采集 1–2 U 的血小板。

1.3 观察方法 每次献血前抽取献血者 1 mL 静脉血,用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,用血细胞分析仪进行检测。

1.4 检测指标 对献血者连续 2 年间的第 1、4、7、10、13、16、19、22、25、28、31 次及末次总计 12 次献血前初筛的血小板计数(Plt)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)及红细胞压积(Hct)进行比较。

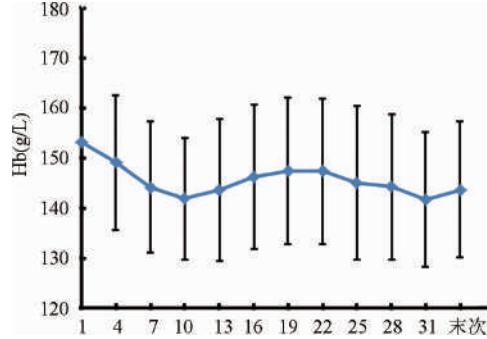
1.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,数据以($\bar{x}\pm S$)表示,采用配对 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 比较结果 将取样的后 11 次献血者献血前的 Plt、RBC、Hb 及 Hct 等外周血象 4 项指标初筛计数分别与第 1 次献血前初筛计数进行比较,见表 1。Plt、RBC 和 Hct 3 项指标中,除了取样的第 4 次献血前的 RBC 与 Hct 初筛计数、第 7 次献血前的 Plt 初筛计数和第 31 次献血前的 Hct 初筛计数分别与第 1 次献血前初筛计数相比较的差异有统计学意义外($P<0.05$),其余差异均无统计学意义($P>0.05$)。Hb 指标,取样的后 11 次献血前初筛计数分别与第 1 次献血前初筛计数比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且献血者连续 2 年间取样 12 次献血前初筛 Hb 计数呈现下降的趋势,见图 1。

表 1 取样后 11 次分别与第 1 次献血前 4 项血常规指标初筛计数比较 ($n=54$)

| | Plt($\times 10^9/L$) | RBC($\times 10^{11}/L$) | Hb(g/L) | Hct(%) |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 第 1 次献血前 | 234.59±45.05 | 4.71±0.41 | 153.12±14.21 | 43.09±3.77 |
| 第 4 次献血前 | 227.29±46.10 | 4.80±0.41 [△] | 149.00±13.51 [△] | 43.74±3.56 [△] |
| 第 7 次献血前 | 225.11±44.84 [△] | 4.72±0.39 | 144.09±13.18 [△] | 42.91±3.42 |
| 第 10 次献血前 | 226.69±47.65 | 4.70±0.40 | 141.78±12.14 [△] | 42.65±3.69 |
| 第 13 次献血前 | 228.48±53.29 | 4.73±0.41 | 143.50±14.11 [△] | 42.57±3.82 |
| 第 16 次献血前 | 237.59±46.22 | 4.75±0.41 | 146.20±14.37 [△] | 42.80±3.74 |
| 第 19 次献血前 | 243.79±50.79 | 4.74±0.38 | 147.31±14.61 [△] | 42.80±3.70 |
| 第 22 次献血前 | 240.57±55.97 | 4.74±0.38 | 147.24±14.46 [△] | 42.69±3.84 |
| 第 25 次献血前 | 238.54±47.73 | 4.72±0.43 | 144.94±15.26 [△] | 42.37±3.86 |
| 第 28 次献血前 | 234.00±52.30 | 4.73±0.39 | 144.13±14.44 [△] | 42.31±3.60 |
| 第 31 次献血前 | 236.43±48.58 | 4.68±0.35 | 141.70±13.44 [△] | 41.85±3.52 [△] |
| 末次献血前 | 241.63±58.86 | 4.73±0.35 | 143.57±13.61 [△] | 42.24±3.34 |

△与初次献血前比较有统计学差异, $P<0.05$ **图 1** 献血者连续 2 年间所选取 12 次献血前初筛血红蛋白指标变化趋势

3 讨论

国外有报道:捐献单采血小板的过程中,由于采集检验标本、部分机型耗材管道残留红细胞等,单采血小板献血者每次献血约丢失 80~100 mL 全血^[1]。本研究按此结果判断,献血者 2 年最大累计全血丢失约 2 640~4 600 mL。本研究发现末次采集前的 Hb 降低,且差异具有统计学意义 ($P<0.05$),在考虑献血者饮食起居等因素的影响外,可能与多次机采血小板采集过程中红细胞丢失有关,建议多次捐献单采血小板献血者献血时,宜选择耗材管道残留红细胞少的机型。

血小板是产板型巨核细胞产生的细胞碎片,释放入血后在体内的生存期为 8~11 d,它在止血、伤口愈合、炎性反应、血栓形成及器官移植排斥等生理和病理过程中有重要作用^[2]。人体的造血过程分为造血干细胞、定向祖细胞和形态可辨认的前体细胞 3 个阶段。其中造血干细胞具有多向分化的能力,通过多向分化可形成各系定向祖细胞如红系定向祖细胞(CFU-E)、粒-单核系祖细胞(CFU-GM)、巨核系祖细胞(CFU-MK)和 TB 淋巴系祖细胞(CFU-TB)。同时,血小板的生成又受到血小板生成素(TPO)的调节,而 TPO 能刺激造血干细胞向 CFU-MK 分化,当捐献血小板后,机体会因血小

板的减少而产生更多的 TPO,从而进一步刺激骨髓造血干细胞向 CFU-MK 分化。本研究发现多次捐献 Plt 后,献血者末次献血前 Plt 数与首次献血前计数相比有增加,但差异没有统计学意义,与大多数相关研究^[2~4]的研究结果基本一致。同时,多次捐献血小板,强化了骨髓造血干细胞向 CFU-MK 分化,是否可能减弱了向 CFU-E 等祖细胞的分化,导致红系过程生成减弱,使献血者 Hb 下降。这方面推测值得进一步研究。

捐献单采血小板的过程中,每次都有 250~500 mL 的血浆被收集,本研究 2 年中,频次较高的献血者 2 年累计被收集血浆接近 20 L,这其中的铁蛋白等同时被收集,会导致献血者体内铁等丢失,产生 Hb 原料的不足,也可能是使献血者 Hb 下降的原因。

本研究还发现末次采集前的 RBC、Hct 与首次采集前比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$),而 Hb 降低,且差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。RBC 和 Hct 与 Hb 不一致,应考虑红细胞色素降低,需要关注频繁捐献单采血小板的献血者体内是否有相对性的铁缺乏,有相关研究指出,在多次捐献单采血小板后,献血者体内血清铁和铁蛋白均有所下降^[5],长期发展有可能导致 Hb 的减少。因此,对于长期、频繁捐献机采血小板的献血者,需要注意铁的补充。本研究目前只回顾了连续 2 年来固定机采血小板献血者外周血血常规中 4 个指标的变化,发现这些指标在初次及末次献血前都在正常范围内,暂时未发现对献血者的健康有明显影响,但随着连续多次捐献血小板的年限增长,是否会使献血者血小板计数、红细胞计数及红细胞压积产生明显变化,还有待我们进一步的观察。本次研究是否提示采供血机构应该重视加强对多次机采血小板献血者铁营养等的宣传和指导。

参 考 文 献

- [1] Page EA, Coppock JE, Harrison JF, et al. Study of iron stores in regular plateletpheresis donors. *Transfusion Med*, 2010, 20(1): 22~29.
- [2] 张微,徐国美,张嘉洪,等. 单采血小板间隔期缩短对血小板质量及献血者血常规的影响. 中国输血杂志,2013,26(10): 1030~1031.
- [3] 鞠春芳,陈琳,步立强. 血小板捐献频次对献血者血常规指标的影响. 山东医药,2013,53(14):74~75.
- [4] Katz L, Palmer K, McDonnell E, et al. Frequent plateletpheresis does not clinically significantly decrease platelet counts in donors. *Transfusion*, 2007, 47(9): 1601~1606.
- [5] Li H, Condon F, Kessler D, et al. Evidence of relative iron deficiency in platelet- and plasma-apheresis donors correlates with donation frequency. *J Clin Apher*, 2016, 31(6):551~558.

(2016-07-11 收稿,2017-01-09 修回)

本文编辑:夏玲

· 短篇论著 ·

血液筛查核酸检测结果无效原因分析 *

陈少彬 何子毅 陈庆恺 余霖 王庆 邹文涛(东莞市中心血站,广东 东莞 523930)

摘要:目的 分析血液筛查 Cobas s201 核酸检测系统检测结果无效产生的原因。**方法** 统计本室 2014 年 10 月~2015 年 12 月核酸检测结果无效的次数和类型,结合扩增曲线图、报警信息和检测结果,探讨检测时间、检测系统(A、B 和 C 系统)和试剂批号(批号 1、批号 2、批号 3、批号 4、批号 5 和批号 6)与结果无效的发生的关系,以及各无效类型(内标扩增无效、阴阳对照扩增无效、扩增曲线异常和带标记的错误代码)的分布构成。**结果** 本室核酸检测总结果无效率为 0.21%(47/22 284),内标扩增无效类型所占比例最大(51.06%);各月份之间结果无效率有差异($P < 0.05$);不同检测系统($P < 0.05$)和不同批号试剂间($P < 0.05$)的结果无效率有差异,其中 C 检测系统(1.59%)和批号 2 试剂(2.11%)结果无效率较高。**结论** 核酸检测结果无效发生与不同检测系统和不同批号试剂有一定相关性,监测结果无效率有助于持续监控核酸试验性能。

关键词:核酸检测;结果无效率;Cobas s201;原因分析

中图分类号:R446.6 R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0077-03

Analysis of the result invalidation in nucleic acid amplification technology for blood screening CHEN Shaobin, HE Ziyi, CHEN Qingkai, YU Lin, WANG Qin, ZOU Wentao. Dongguan Blood Center, Dongguan 523930, China.

Abstract: Objective To analyze the cause of the result invalidation in Cobas s201 nucleic acid detection systems (NAT) for blood screening. **Methods** The number and types of invalid results in NAT from October 2014 to December 2015 were counted. When combined with the amplification graphs, alarm information and test results, the relationship among detection time, detection systems (system A, B and C) and reagent lots (Lot 1, Lot 2, Lot 3, Lot 4, Lot 5 and Lot 6) and result invalidation were analyzed. Also, the distribution and composition of various types of invalid results (interior standard amplification invalidation, negative or positive control amplification invalidation, amplification graph abnormality and error codes with flags) were analyzed. **Results** The total rate of result invalidation in the lab was 0.21% (47/22 284). Among the types of invalidation, the proportion of interior standard amplification invalidation was the most (51.06%). There were significant differences in the rates of the result invalidation in different months ($\chi^2 = 21.600$, $P < 0.05$). There were significant differences in the rates of the result invalidation among detection systems ($\chi^2 = 28.76$, $P < 0.05$) and among different reagent lots ($\chi^2 = 35.737$, $P < 0.05$). The rates of the result invalidation in the detection systems C were higher, and were the highest in reagent Lot 2. **Conclusion** There was some correlation between different detection systems, different reagent lots and result invalidation. Monitoring the result invalidation closely will help to continuously monitor the nucleic acid detection performance.

Key words:nucleic acid amplification technology; rate of the result invalidation; Cobass201; analysis

我国《血站技术操作规程(2015 版)》明确规定:在血液检测过程中,应对试验性能持续进行监控,以发现正在发生的任何性能变化,这些变化如果没有得到及时纠正,最终可能导致试验批次的失败,或者弱阳性标本的漏检。由于血液筛查核酸扩增技术(nucleic Acid amplification technology, NAT)原理多样性,各品牌的核酸检测仪器的性能也存在差异,造成各实验室在核酸试验性能监控指标的选择上缺乏标准,给工作带来困惑。本文通过对 Cobas s201 核酸检测系统的检测结果无效进行统计分析,发现其发生与检测系统或不同批号试剂等因素有一定关系,分析产生的原因,从而采取预防措施,提高检测性能,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本和数据来源 2014 年 10 月~2015 年 12 月本站无偿献血者标本经 4 项酶免和转氨酶检测为合格的,再通过 Cobas s201 核酸检测系统混检模式(pools of 6)或单检模式(pools of 1)检测共 93 586 人份,总测试数(包括阴、阳性对照和外部质控)为 22 284 次。

1.2 试剂与仪器 罗氏 Cobas TaqScreen MPX v2.0 HIV、HCV、HBV NAT 联合检测试剂(批号 1、批号 2、批号 3、批号 4、批号 5 和批号 6);罗氏 Cobas s201 全自动核酸检测系统(A 系统、B 系统和 C 系统;A 和 B 系统为常用系统,C 系统为备份系统),Hamilton STAR 加样仪(瑞士汉密尔顿公司,MICROLAB STAR IVD),Thermo 低温高速离心机(美国热电公司,Sorvall ST40)。所用试剂均在有效期内使用,仪器都经过校准并在正常状态下使用,标本的检测操作严格执行本站

质量体系文件标准操作规程。

1.3 方法 通过 Cobas s201 数据管理系统 (Data Manager System, DMS) 软件查询 2014 年 10 月–2015 年 12 月核酸检测结果中出现“Invalid”标识的检测结果无效, 记录每个结果无效的错误报警代码信息、标本信息、所在扩增单元的孔位、所用检测仪器信息、所用试剂批号和无效结果的扩增曲线特征等, 并进行归纳分析。记录不同月份、不同检测系统及不同批号试剂的测试数和结果无效数; 结果无效的分类根据“Invalid”产生的类型如 IC(内标)扩增无效、阴�性对照扩增无效、HCV 通道扩增曲线异常以及带标识的错误报警“SYS_ERROR(系统硬件错误)”、“DSLM(Double Sigmoid Levenberg Marquardt 计算模型)”、“MATH_ERROR(计算步骤错误)”等进行分类; 计算公式: 结果无效率 = 结果无效数 ÷ 总测试数 × 100%; 结果无效构成比 = 分项结果无效数 ÷ 总结果无效数 × 100%。

1.4 统计学分析 采用 Microsoft office excel 2007 软件整理数据及图表的绘制, SPSS19.0 软件进行统计学分析。不同批号试剂和仪器间结果无效率的差异分析采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本数据 本室 2014 年 10 月–2015 年 12 月核酸检测总测试数为 22 284 次, 其中出现“Invalid”标识的结果无效共 47 个, 总结果无效率为 0.21% (47/22 284); 各月份间核酸检测结果无效率有差异 ($\chi^2 = 21.600, P < 0.05$), 见图 1。

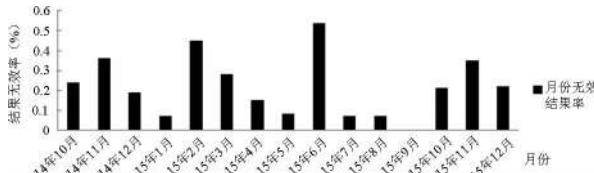


图 1 2014 年 10 月–2015 年 12 月核酸检测无效结果率分布

2.2 不同检测系统间无效结果的比较 3 套 Cobas s201 核酸检测系统结果无效率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 28.76, P < 0.05$), 其中 C 系统的结果无效率最大, 为 1.59% (5/315); 结果无效分类中, IC 扩增无效有 24 个, 占 51.06%; 阴性对照扩增无效有 7 个, 占 14.89%, 其余结果见表 1。

表 1 3 套 Cobas s201 核酸检测系统结果无效分类

| 结果无效类型 | Cobas s201 核酸检测系统* | | | 合计 (%) |
|------------|----------------------|--------------------|-----------------|-----------|
| | A 系统** (n=11 002) | B 系统 (n=10 967) | C 系统 (n=315) | |
| IC 扩增无效 | 10 | 10 | 4 | 24(51.06) |
| 阴性对照扩增无效 | 5 | 2 | 0 | 7(14.89) |
| HCV 扩增曲线异常 | 1 | 4 | 0 | 5(10.64) |
| SYS_ERROR | 4 | 1 | 0 | 5(10.64) |
| DSLM | 0 | 4 | 1 | 5(10.64) |
| MATH_ERROR | 1 | 0 | 0 | 1(2.13) |
| 合计(结果无效率) | 21(0.19) | 21(0.19) | 5(1.59) | 47 |

* 为 A、B 和 C 系统之间结果无效率的比较, $\chi^2 = 28.76, P < 0.05$; *

* 为 A 与 B 系统结果无效率比较, $\chi^2 = 0.000, P > 0.05$

2.3 Cobas TaqScreen MPX v2.0 不同批号试剂间结果无效率的比较 47 例结果无效按所用试剂批号分类, 除批号 6 外, 其它 5 个批号间的结果无效率差异有统计学意义 ($\chi^2 =$

35.737, $P < 0.05$), 其中批号 2 试剂的结果无效率最大, 达 2.11% (4/190), 其它结果见表 2。

表 2 不同批次 Cobas TaqScreen MPX v2.0 核酸检测试剂

| 结果无效类型 | 结果无效分类情况 (%) | | | | | |
|------------|--------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 检测试剂# | 批号 1 (n=8 164) | 批号 2 (n=190) | 批号 3 (n=8 599) | 批号 4 (n=3 482) | 批号 5 (n=1 669) |
| IC 扩增无效 | 11 | 2 | 8 | 1 | 2 | 0 |
| 阴性对照扩增无效 | 5 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| HCV 扩增曲线异常 | 0 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| SYS_ERROR | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| DSLM | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| MATH_ERROR | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合计(结果无效率) | 19(0.23) | 4(2.11) | 16(0.19) | 3(0.09) | 5(0.30) | 0 |

#为批号 1、2、3、4 和 5 之间结果无效率的比较, $\chi^2 = 35.737, P < 0.05$

2.4 3 套检测系统 TaqMan 扩增仪各孔位结果无效分布情况 47 例结果无效按不同检测系统所在扩增单元孔位分类, A 系统的第 13、16 孔位累积各出现 3 次结果无效; 第 16 孔位上 3 套系统共累积出现的次数最多, 为 5 次; 第 18 和 21 孔位未出现无效结果, 其它结果情况见图 2。

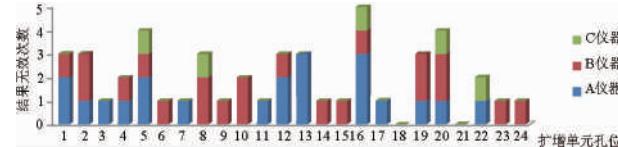


图 2 TaqMan 扩增仪 24 个孔位累积结果无效次数分布

3 讨论

影响血液筛查核酸检测结果的因素众多, 如标本离心管抗凝剂、献血者血液标本中含有不明抑制物、实验过程的环境因素、操作人员因素、试剂质量因素和仪器测量误差因素等^[1]。在实际工作中对扩增无效结果进行监测, 有助于工作人员对实验室检测性能的把握, 同时对一些重复出现的结果无效分析可反映仪器或试剂间的差异特征。本实验室使用的 Cobas s201 核酸检测系统主要由 AmpliPrep 核酸提取仪和 TaqMan 核酸扩增检测分析仪组成, 本次统计的 47 例结果无效主要集中在 TaqMan 扩增检测分析仪对结果的检测、计算和判读上无效, 对于 AmpliPrep 核酸提取仪机械故障或加样失败导致的实验失败暂不在统计分析中。最终的核酸检测总无效结果率为 0.21% (47/22 284), 与黄敏等^[2]报道的 0.09%~0.1% 不同, 低于罗氏 MPX v2.0 核酸检测试剂盒说明书声明的结果无效率 0.8%~1.4%。

对于核酸检测系统的硬件因素来讲, 加样精密度、控温模块、光路的设计和信号检测环节都会影响结果的准确性^[3]。从表 1 结果得知, 3 套检测系统之间的结果无效率存在差异, C 系统的结果无效率达 1.59%, 明显高于 A 和 B 系统, 而 A 与 B 系统之间无差异。原因可能为 C 系统在本实验室作为备份系统, 平时使用频率少, 维护不足, 且使用年限较长, 只在标本量较大或 A、B 系统故障时才启用。在总测试量不大的情况下产生较高结果无效率, 可能为仪器本身的问题, 也可能是检测偶然误差。值得注意的是, 这种差异也客观反映出备份检测系统的性能, 建议备份系统与常用检测系统的性能监控须同等对待, 定期做好仪器的维护保养, 使其

检测性能达到正常状态。从表 1 各结果无效类型出现的频率得知,HCV 通道扩增曲线异常和“DSLM”标记的无效结果主要出现在 B 系统,结合报警信息和扩增曲线形状分析,HCV 通道扩增曲线特征为高低起伏、锯齿状的非标准“S”曲线,原因可能是当 TaqMan 分析仪使用双 S 形模型评估曲线时,双 S 形模型不能最佳评估原始增长曲线所具有的形状。在高噪声的原始增长曲线中可能产生“DSLM”报警代码,而“DSLM 计算模型”是计算 2 个评估原始曲线和模型之间匹配质量的度量标准,其中 1 个度量标准范围是 0.0~1.0 之间的小数,1.0 代表完美匹配,设置 0.8 的下限以防止算法在后续计算步骤中使用低于最佳的评估;第 2 个度量标准将匹配质量确定为正小数,0.0 代表完美匹配,设置 10.0 的上限以防止算法计算使用低于最佳的评估。只在双 S 形模型用于评估曲线时才执行该检查并且不设置“DSLM”标记。通过分析,B 系统 TaqMan 分析仪发生高噪音的原因可能是扩增检测管表面存在灰尘或微小蛋白颗粒,影响荧光光路检测通道,或者是 HCV 标记的染料发射光波长检测有问题。而“SYS_ERROR”标记的无效结果较多出现在 A 系统,其主要的错误代码是 TM03 和 TM05,扩增曲线特征是同 1 孔内所有项目曲线出现一小段“V”字形状,通过咨询罗氏工程师,表示此类属于 TaqMan 扩增仪“原因不明”的硬件错误,可能是瞬时电压改变或一过性无线电波干扰,后续补救措施是对输入电源及线路周围安装上磁环,但实际效果不佳,须进一步观察分析。另外,从图 2 可以直观看出 A 系统的第 13 孔位扩增单元连续出现 3 次无效结果,查该孔的信息和扩增曲线图,发现 3 次无效结果都发生在同一扩增单元 A 第 6 号位(TCA-06),各通道扩增曲线均正常,IC 值也有效,但是在 DMS 数据接收时报警 HBV 检测通道异常,故判该孔结果无效。我们评估可能是 HBV 荧光检测光路有问题或计算出现错误,但暂无法确定原因,后来采取将其屏蔽的做法,待进一步查因。此外,第 16 孔位累计出现 5 次无效结果,其中有 2 例为 A 系统 IC 无效引起,1 例是 A 系统出现 TM03 和 TM05 的报警;B 系统和 C 系统各出现 1 例属于 HCV 扩增曲线异常。不同孔位出现不同频率的结果无效,可能是试剂本身,或者与仪器所在部位的零件性能有关。有学者分析,边缘效应是影响 PCR 结果重复性的重要原因,主要来源于仪器硬件的光路设计和温控模块^[4]。TaqMan 分析仪的热循环模块采用金属介质的 Peltier 元件,最大加热和冷却速度为 1.2 °C/s,温度范围在 40~98°C,热循环模块出现边缘效应直接影响核酸扩增效率^[5-6]。仪器设备在使用过程中,部分零件的性能会随着使用寿命而下降,温控部件细小差异在扩增循环中被指数级放大^[7],导致结果异常。因此,分析重复出现或频率较高的结果无效能帮助发现仪器检测性能的变化。

MPX v2.0 核酸检测试剂是 4 重荧光素染料标记,有独

立内参(IC)。在 47 例无效结果中,以 IC 扩增无效最为常见,占 51.06%。IC 是监控每个标本的扩增过程,起到内部质控的功能,防止出现假阴性结果^[8]。若 IC 扩增无效,可能是扩增过程受到抑制或试剂在保存和使用过程中出现性能衰减所致。本室此前做过分析,不同试剂批号间 IC 结果差异明显高于不同仪器^[9],与试剂批间质量差异有关。从表 2 结果显示,不同批号试剂之间结果无效率有差异,批号 2 的结果无效率最大,而批号 6 的测试数与批号 2 的接近,却未发生结果无效,说明不同试剂批号与检测结果的有效性有一定关系,可能为试剂质量问题,也可能是抽样误差引起。因此,建议在新批号试剂使用前要进行性能确认,或者在使用中监测批号间结果无效率的差异,及时了解试剂的检测状态。

综上,进行核酸检测结果无效分析,建立本实验室总结果无效率和不同类型比例等指标,可以 0.21% 的结果无效率作为本实验室质量指标,监控今后的实验过程。出现无效结果应了解无效报警信息,分析检测系统、试剂和仪器硬件的性能差异,采取必要的措施。同时还应加强操作人员的培训,严格遵守标准操作规程,做好仪器设备的日常维护保养工作以及试剂性能确认管理工作,保证核酸检测结果的有效性。

参考文献

- [1] 李金明.实时荧光 PCR 技术.北京:人民军医出版社,2007:146-162.
- [2] 黄敏,柯苑,马成平,等.核酸检测无效结果分析.临床血液杂志,2015,28(2):140-142.
- [3] 姜文灿,岳素文,江洪,等.TaqMan 探针法实时荧光定量 PCR 的应用和研究进展.临床检验杂志(电子版),2015,4 (1):797-805.
- [4] 郑卫东,袁仕伟.荧光定量 PCR 仪的边缘效应与实验误差分析.医疗卫生装备,2013,2 (34):113-115.
- [5] 李金明.聚合酶链反应临床应用的优越性和局限性.中华检验医学杂志,2005,28(3):225.
- [6] 李金明.定量聚合酶链反应测定应用技术.中华检验医学杂志,2002,25(2):123.
- [7] 杜琼,倪涛,刘小琦,等.ABI7700、7500 荧光定量 PCR 仪性能评价.实用医院临床杂志,2009,6(1):63-64.
- [8] Kim K , Park J , Chung Y , et al . Use of internal standard RNA molecules for the RT-PCR amplification of the faeces-borne RNA viruses . Virol Methods, 2002, 104(2):107-115.
- [9] 陈少彬,何子毅,陈庆恺,等.血液筛查核酸检测内标在系统评价的应用分析.中国输血杂志,2016,29(2):201-203.

(2016-10-10 收稿,2017-01-09 修回)

本文编辑:夏玲

· 短篇论著 ·

机采血小板互助献血者血液安全风险分析

陈乐丹 陈李 郑盈盈 陈晓义 林丽(温州市中心血站,浙江 温州 325000)

摘要:目的 调查本市机采血小板互助献血者的血液安全性。方法 对 2013–2015 年本市机采血小板互助献血者和非互助献血者的血液相关传染性指标检测结果做对比分析,同时分析机采血小板献血者中初次献血者和重复献血者比例及血液相关传染性指标检测结果。**结果** 本市机采互助献血者血液相关传染性指标检测不合格率高于非互助献血者,且呈逐年上升趋势;机采互助献血者血液相关传染性指标检测不合格构成比顺序分别为:抗-HCV(0.39%)、HBsAg(0.37%)、抗-HIV(0.30%)、ALT(0.12%)、TP(0.10%),且其绝大部分为初次献血者(84.98%),而初次献血者不合格率高于重复献血者($P<0.05$)。**结论** 机采互助献血者的血液安全性低于非互助献血者,血液安全风险较高,不宜作为今后的招募方向,要建立低危固定的自愿无偿机采血小板队伍,保证临床用血的安全。

关键词:机采血小板;互助献血者;非互助献血者;血液相关传染性指标检测

中图分类号:R457.1 R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0080-03

Blood safety risk analysis on aphaeresis platelet donation from mutual assistance blood donors in Wenzhou City

CHEN Ledan, CHEN Le, ZHENG Yingying, CHEN Xiaoyi, LIN Bi. Wenzhou Blood Center, Wenzhou 325000, China.

Abstract: **Objective** To survey the blood safety in the donation of apheresis platelets among mutual assistance blood donors in Wenzhou City. **Methods** A comparative analysis was conducted through blood related infectious index detection on apheresis platelet donation between mutual assistance and non mutual assistance blood donors from 2013 to 2015 in this city. Meanwhile, the proportion of first and repeat blood donors and blood related infectious index detection apheresis platelet donation were analyzed. **Result** The blood related infectious index detection failure rate for the aphaeresis donation among mutual assistance blood donors was higher than that of non mutual assistance blood donors in this city. The trend was rising year by year. The percentage composition of blood related infectious index detection failure rate for mutual assistance blood donors was anti-HCV (0.39%), HBsAg (0.37%), anti-HIV (0.30%), ALT (0.12%), and TP (0.10%). The vast majority were first time blood donors (84.98%). The failure rate for first time blood donors was far higher than that of repeat blood donors in mutual assistance blood donors ($P<0.05$). **Conclusion** The blood security in mutual assistance blood donors is lower than that of non-mutual assistance blood donors, who confer a higher risk to blood safety. Thus, in the future, non-mutual assistance blood donors would not be recommended for recruitment in order to establish a low-risk fixed force of apheresis platelet donors and to ensure the safety of blood for clinical use.

Key words: apheresis platelets; mutual assistance blood donors; non mutual assistance blood donors; blood related infectious index detection

近年来医疗卫生事业发展迅速,临床用血激增,温州地区机采血小板采集量以每年两位数的速度增长,仍满足不了临床需求,在自愿无偿献血不足的情况下,互助献血者成为有效的补充力量。互助献血模式,一定程度上缓解了临床供需矛盾,但也存在一定的弊端,为了保障血液安全,建立低危的机采血小板献血者队伍,我们结合 2013–2015 年温州地区机采血小板互助献血者及非互助献血者血液相关传染性指标检测结果,对机采血小板互助献血者的血液安全性进行风险评估,结果如下。

1 材料与方法

1.1 调查对象

2013–2015 年,本地区经体检初筛检查合格的机采血小板非互助献血者 14 817 名,其中男性 11 557 名,

女性 3 260 名;经体检初筛检查合格的互助献血者共 5 081 名,男性 3 302 名,女性 1 779 名。这里指的机采血小板互助献血者是指:因家人或朋友需要输注血小板治疗而前来捐献血小板的献血者,非互助献血者是指:献出的血小板是为了帮助不知名的患者而不带任何个人利益和目的的献血者。

1.2 仪器和试剂 TECAN 全自动加样仪, FAM E24/20 全自动酶免系统(瑞士 Hamilton), 日立 7080 全自动生化分析仪(日本日立), COBASs201 核酸检测系统(德国罗氏)。ALT 检测试剂(德国罗氏, 批号: 231792-01; 浙江伊利康, 批号: 150602); HBsAg 检测试剂(厦门新创, 批号: 2015065119; 上海 Diasorin, 批号: D329510); 抗-HCV 检测试剂(广东丽珠, 批号: 2015091208; 美国 ORTHO, 批号: EXE251); 抗-HIV 检测试剂(广东丽珠, 批号: 2015091408; 法国伯乐, 批号: 5B0316); TP 检测试剂(广东丽珠, 批号: 2015061008; 厦门新创, 批号: 2015067514)。所有试剂均为中国生物制品检定合

格的产品,在有效期内使用。

1.3 方法 ALT 测定采用速率法,HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 和 TP 血清学采用 ELISA 法,所有试验均按照标准操作规程和试剂盒说明书操作。

表 1 2013–2015 年机采血小板互助献血者和非互助献血者血液相关传染性指标检测不合格情况 (n, %)

| | | n | ALT | HBsAg | 抗-HCV | 抗-HIV | TP | 合计 |
|--------|-------|-------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|
| 2013 年 | 互助献血 | 1 265 | 1(0.08) | 4(0.32) | 4(0.32) | 1(0.08) | 1(0.08) | 11(0.87) |
| | 非互助献血 | 4 775 | 4(0.08) | 2(0.04) | 1(0.02) | 1(0.02) | 1(0.02) | 9(0.19) |
| | 合计 | 6 040 | 5(0.08) | 6(0.10) | 5(0.08) | 2(0.03) | 2(0.03) | 20(0.33) |
| 2014 年 | 互助献血 | 1 724 | 3(0.17) | 6(0.35) | 7(0.41) | 6(0.35) | 2(0.12) | 24(1.39) |
| | 非互助献血 | 4 959 | 7(0.14) | 5(0.10) | 3(0.06) | 1(0.02) | 0(0.00) | 16(0.32) |
| | 合计 | 6 683 | 10(0.15) | 11(0.16) | 10(0.15) | 7(0.10) | 2(0.03) | 40(0.60) |
| 2015 年 | 互助献血 | 2 092 | 2(0.10) | 9(0.43) | 9(0.43) | 8(0.38) | 2(0.10) | 30(1.43) |
| | 非互助献血 | 5 083 | 5(0.10) | 5(0.10) | 5(0.10) | 1(0.02) | 1(0.02) | 17(0.33) |
| | 合计 | 7 175 | 7(0.10) | 14(0.20) | 14(0.20) | 9(0.13) | 3(0.04) | 47(0.66) |

注:2013–2015 年互助献血者和非互助献血者 ALT 不合格数比较,连续性校正 χ^2 值分别为 0.2479, 0.003 3, 0.145 9, 均为 $P>0.05$

表 2 2013–2015 年机采血小板献血者中初次献血者和重复献血者血液相关传染性指标检测不合格情况 (n, %)

| | | n | ALT | HBsAg | 抗-HCV | 抗-HIV | TP | 合计 |
|-----|-------|--------|----------|----------|----------|----------|---------|----------|
| 互助 | 初次献血者 | 4 318 | 5(0.12) | 18(0.42) | 20(0.46) | 14(0.32) | 5(0.12) | 62(1.44) |
| | 重复献血者 | 763 | 1(0.13) | 1(0.13) | 0(0.00) | 1(0.13) | 0(0.00) | 3(0.39) |
| | 合计 | 5 081 | 6(0.12) | 19(0.37) | 20(0.39) | 15(0.30) | 5(0.10) | 65(1.28) |
| 非互助 | 初次献血者 | 1 407 | 10(0.71) | 4(0.28) | 7(0.50) | 2(0.14) | 1(0.07) | 24(1.70) |
| | 重复献血者 | 13 410 | 6(0.04) | 8(0.06) | 2(0.01) | 1(0.01) | 1(0.01) | 18(0.13) |
| | 合计 | 14 817 | 16(0.11) | 12(0.08) | 9(0.06) | 3(0.02) | 2(0.01) | 42(0.28) |

注:互助献血者中初次献血者和重复献血者血液检测不合格数比较, $\chi^2 = 5.82$, $P<0.05$; 非互助献血者中初次献血者和重复献血者血液检测不合格数比较, $\chi^2 = 111.26$, $P<0.05$

3 讨论

由表 1 可以看出,近年来温州市机采血小板临床用量增幅较大,在血小板供不应求的状况下,一方面互助献血者的比例逐年提高,另一方面机采互助献血者的血液相关传染性指标检测结果不容乐观。2013–2015 年机采血小板献血者血液相关传染性指标检测不合格率分别为 0.33%, 0.60% 和 0.66%, 远低于全血的不合格率^[1], 与国内其他文献报道也基本一致^[2], 但每年机采互助献血者总的检测不合格率均高于非互助献血者,且呈逐年上升趋势,极大地增加了输血传染病的传播风险。从调查数据看,2014–2015 年机采血小板互助献血者抗-HIV 检测不合格人数快速增长,提示此类献血者中经血传播艾滋病的风险越来越大,2014 年机采血小板在献血前由乙肝梅毒联合试剂取代原来单一的乙肝检测,一定程度上控制了机采献血者 TP 复检阳性率的迅速增长,但互助献血者 HBsAg 和 TP 复检不合格比例均高于非互助献血者,同样的现象存在于抗-HCV 血液检测结果,提示其在输血传染病指标中存在高风险。表 1 同时看到,互助献血者和非互助献血者近年来在有效初筛检查后,2 者 ALT 检测复检不合格数均维持在 1 个较低水平,无统计学差异($P>0.05$)。

机采血小板互助献血者大多因为亲友急需用血而被动参加献血,结合表 2 调查可知其绝大部分为初次献血者(84.98%),而初次献血者血液相关传染性指标检测不合格率较重复献血者高,两者有明显差异($P<0.05$),这与重复献血者大多为反复捐献的固定献血者,捐献间隔期短,经过多次的体检、初筛和复检等检查,同时也与他们对献血知识的认知度高^[3],能对高危行为进行自我排除有关。互助献血者

1.4 统计学分析 利用 EXCEL2007 和 SPSS20.0 软件,采用 χ^2 检验进行统计学分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果 (表 1–2)

中重复献血者过少,不仅是直接导致其血液相关传染性指标检测不合格率高于自愿献血者的原因,更增加了窗口期感染的风险,对血液安全产生了极大的威胁。

表 2 显示近 3 年互助献血者中血液检测不合格构成比顺序分别为抗-HCV (0.39%)、HBsAg (0.37%)、抗-HIV (0.30%)、ALT(0.12%)、TP(0.10%),丙肝和乙肝检测不合格率居前,这和我国是乙肝丙肝感染的高流行区有关^[3–4],同时互助献血者肝炎携带者出于其他目的也有可能隐瞒自己的病情,一定程度上影响了血液的安全性,而抗-HIV 阳性率的升高,既和近年来同行恋、吸毒等高危行为日渐泛滥有关,也和开展核酸检测后检出率提高有一定关联。ALT 检测不合格可能与互助献血者对献血前的一些准备工作不够了解,献血前熬夜、饮酒、过于疲劳等有关。需要说明的是,近年来我国梅毒的发病率虽然显著升高,但在互助献血者血液相关传染性指标检测不合格人数中只占了很小的比例,这和本站在献血前增加 TP 初筛检测有直接关系,也和近年来血站对其重视加强相关。

随着医疗技术的不断发展,输注血小板成为临床治疗和抢救病患者的重要手段,在血小板供不应求的时候,机采互助献血者虽然可以暂时弥补临床缺口,但迫于患者用血压力,他们可能明知自己不适合献血而故意隐瞒,甚至求助血头进行非法血液买卖,给血液安全带来巨大风险。结合本文的调查更清晰的看到,互助献血者的输血相关传染病指标不合格率高于非互助献血者,不宜作为今后机采血小板的招募人群。在目前的形式下,要保障临床用血的安全,我们不仅要加强体检征询和保密性弃血工作,更要控制和限制机采血小板互助献血,只有加大宣传招募,采取有效的措施大力发

· 个例报告 ·

新等位基因 HLA-B^{*} 15:179:02 的确认和基因序列分析

吕蓉¹ 邢昕² 於娟¹ 李素萍¹(1.安徽血液中心输血研究室,安徽 合肥 230031;2.安徽省中医附院)

摘要:目的 鉴定并确认 HLA 新等位基因 HLA-B^{*} 15:179:02, 分析其核苷酸序列。方法 使用磁珠法抽提标本 DNA, 采用聚合酶链反应序列-特异寡核苷酸探针杂交技术(PCR-SSOP)进行 HLA 高分辨分型常规检测, 发现 1 个与 HLA-B^{*} 15:179 相关的异常等位基因, 使用 DNA 测序分型技术(PCR-SBT)及使用组特异性 GSSP 引物 Z74, 直接测定其基因序列, 分析其相关核苷酸序列差异。结果 新等位基因与所有已知的 HLA-B 序列均不相同, 与同源性最高 HLA-B^{*} 15:179:01 基因序列相比在第 3 外显子 486 位碱基发生突变(C>G)。结论 发现 1 个新的 HLA-B 等位基因, 现已被世界卫生组织 HLA 因子命名委员会正式命名为 HLA-B^{*} 15:179:02。

关键词:高分辨分型;新等位基因;HLA-B

中图分类号:R457.1+1 R446.61 文献标识码:A

文章编号:1004-549X(2017)1-0082-03

自 1958 年人类第 1 个白细胞抗原被发现以来, 各国的科学家通过多年的协作和技术创新, 极大推动了人类白细胞抗原 HLA (human leukocyte antigen, HLA) 领域的发展和应用。HLA 系统是人类迄今为止最为复杂的抗原系统, 在不同种族或同一种族的不同群体中存在明显差异^[1]。近年来, 中国造血干细胞捐献者资料库(以下称中华骨髓库)的 HLA 基因分型高分结果入库逐年增多, 分子生物学技术在 HLA 分型中被广泛应用, 新的等位基因不断被发现, 2013 年本实验室在中华骨髓库安徽分库造血干细胞捐献者标本的常规分型检测中, 发现 HLA-B 位点的 1 例新等位基因, 该等位基因已被世界卫生组织 HLA 命名委员会正式命名为 HLA-B^{*} 15:179:02^[2], 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2014 年 11 月~2015 年 12 月先证者为中国造血干细胞捐献者资料库安徽分库合肥长丰县地区志愿捐献者, 女性, 汉族。

1.2 试剂与仪器 血液基因 DNA 抽提试剂盒(中国 TIANamp 公司, 批号:L0723); Taq 酶(美国 Promega); SSOP HD 分型试剂盒(美国 One Lambda, 批号 A: 004; B: 006; DRB1: 07A); SBT 试剂盒(美国 Invitrogen, 批号 A: 1348475; B:

1375721; DR: 1348476); 离心机(德国 eppendorf); 紫外分光光度计(德国 eppendorf 公司); PCR-9700(ABI 公司); ABI3730 基因测序仪(美国 ABI); 板式离心机(美国 Thermo); Luminex200(美国 Life Match)。

1.3 方法

1.3.1 DNA 抽提 抽取志愿者外周静脉血样 5 mL(EDTA 抗凝), 采用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 严格按照试剂盒说明书操作, 紫外分光光度计检测 DNA 浓度为 40~60 ng/μL, A_{260/280} 为 1.8~2。

1.3.2 SSOP HD 试剂分型方法 使用 Luminex-200 液相平台, 按照试剂盒的说明书, 进行 PCR 扩增、变性、杂交。读取结果后, 通过 HLA-Fusion 3.0 分型软件分析结。

1.3.3 PCR-SBT 法 采用 PCR 反应扩增 HLA-B 等位基因的 2、3、4 外显子序列, 扩增程序为: 96℃ 1 min, 1 个循环; 96℃ 20 s, 63℃ 20 s, 72℃ 50 s, 35 个循环; 72℃ 5 min, 1 个循环; PCR 产物采用酶法纯化, 将纯化后的产物分别用 2、3、4 外显子引物做双向测序扩增, 测序扩增程序为: 95℃ 20 s, 50℃ 15 s, 60℃ 1 min, 25 个循环; 测序产物纯化后用 ABI 3730 测序仪检测, 测序结果使用 HLA SBT uTYPE 分型软件分析并最终形成 HLA 高分辨分型报告。

1.3.4 GSSP 引物测序 采用组特异性 GSSP 引物 Z74, 对 PCR 产物重新进行单分子测序, 因其为针对 HLA-B 等位基因的特异性引物, 通过引物的选择直接扩增特定序列, 再对杂

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.028

展无偿自愿机采献血人群, 才能从根本上缓解血液紧张局面, 提高血液安全性。

参 考 文 献

- [1] 唐秋萍,蔡于旭,冯飞,等. 2006~2010 年海南地区无偿献血者血液传染性标志物筛查结果分析. 中国输血杂志, 2012, 25(12):1311-1312.
- [2] 王乃红,傅雪梅,廖耕. 成都市无偿献血者血液检测结果与人群结构分析. 中国输血杂志, 2005, 18(5):378-380.
- [3] 孙海泉,肖革新,郭盈,等. 中国大陆地区 2008~2012 年丙肝流

行规律及空间聚集性分析. 中国公共卫生, 2014, 30(3): 286-289.

- [4] 王晓军, 张荣珍, 胡苑笙, 等. 我国病毒性肝炎流行现状研究. 疾病监测, 2004, 19(8): 290-292.
- [5] 吴次宁, 田浩, 习光湘, 等. 互助与自愿无偿献血者对机采血小板认知度的比较分析. 中国输血杂志, 2012, 35(1): 68-69.
- [6] 左涛. 攀枝花市机采血小板互助献血研究. 中国卫生产业, 2014, 28(20): 17-18.

(2016-08-16 收稿, 2017-01-20 修回)

本文编辑:夏玲

合序列进行有效分离后,对测序结果进一步分析。

2 结果

2.1 PCR-SSOP 分型结果 将检测结果导入 HLA-Fusion 3.0 软件后,该标本的结果为 $A^* 02:06:01G; 11:01:01G, DRB1^* 14:03:01; 16:02:01$,而 $HLA-B$ 位点的分型结果为 $B^* 15:179, B^* 46:01:01$ (FN#69),提示 69 号磁珠为假阴性,但 69 号磁珠不可调,导致没有分型结果(图 1)。

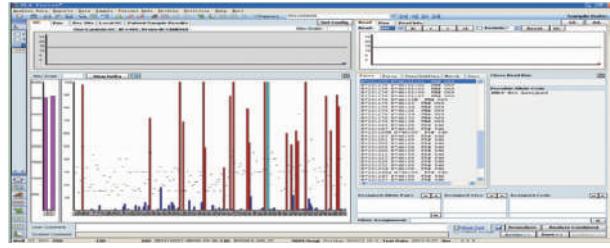


图 1 该标本 $HLA-B$ 位点的 PCR-SSO 分型结果

2.2 PCR-SBT 分型结果 SBT 双链测序结果显示,该标本 $HLA-B$ 位点序列与数据库中所有已知的 $HLA-B$ 等位基因序列均不一致,因此软件无法给出准确的分型结果。在数据库库中 $B^* 15:179, 46:01:01$ 在第 3 外显子的 486 位核苷酸为 S(C+G),而该标本在 486 位的核苷酸为纯合子(GG),存在 1 个碱基不匹配(SBT 测序图谱见图 2)。

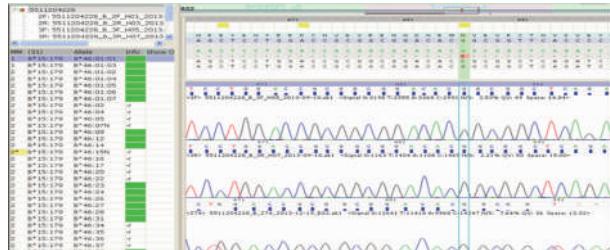


图 2 该标本 $HLA-B$ 位点的 PCR-SBT 测序结果

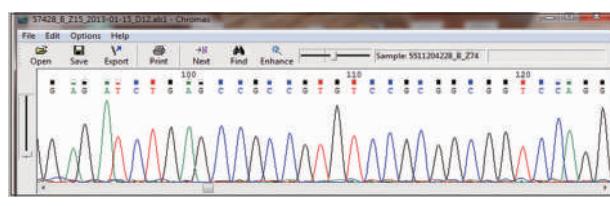


图 3 该标本的 GSSP 测序结果

2.3 $HLA-B^* 15:179:02$ 与 $HLA-B^* 15:179:01$ 的序列差异 GSSP 引物对此份标本测序后分析,突变基因来自于 $B^* 15:179:01$ 的同源基因,2 个等位基因仅在第 3 外显子的 486 位有 1 个碱基的差别,即 $B^* 15:179:01$ 的 C>G(见图 3),由图可以看出突变碱基位于第 3 位密码子处,因而其编码的氨基酸没有发生改变。将包括突变在内的基因序列提交给 GenBank,登录号:KJ189738,于 2014 年 3 月由世界卫生组织 HLA 因子命名委员会正式命名为 $HLA-B^* 15:179:02$ 。

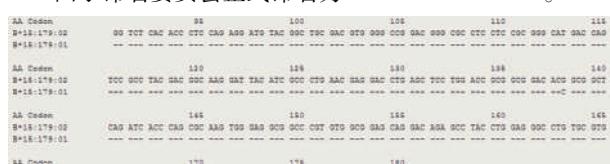


图 4 $HLA-B^* 15:179:02$ 与 $HLA-B^* 15:179:01$ 序列比对

3 讨论

近年来, HLA 的高分辨基因分型检测技术已得到了广泛的应用,主要方法有聚合酶链式反应-序列特异性引物(PCR-SSP),聚合酶链式反应-序列特异性探针(PCR-SSOP),luminex 技术,聚合酶链式反应-基于测序的分型(PCR-SBT)技术等。由于 HLA 基因高度多态性和检测技术的限制,在进行 HLA 等位基因特定座位分型检测时,会出现一些模棱两可的结果或者是软件无法给出准确结果的现象。对于这些情况的处理,往往使用单一方法,难以解决,而只有在几种方法共同使用的前提下,才能得到 HLA 的高分辨结果的准确分型。本文怀疑在 PCR-SSOP 检测为罕见基因或无法出结果时,运用 PCR-SBT 和 GSSP 组特异性引物进行进一步的测序复核才得到的结果。

人类在进化过程中为了某种适应环境或是受到某些刺激因子的作用,产生了还未被发现的新等位基因,但是新基因的产生机制较为复杂,有可能是等位基因交换重组^[3],也有可能是单纯的点突变,一般为碱基替换、缺失或插入,其中最常见的为碱基替换^[4,5]。本文所确认的 $HLA-B$ 位点新等位基因就是在第 3 外显子区域中第 486 位碱基发生了改变,与同源性最高的 $HLA-B^* 15:179:01$ 只有 1 个碱基的差异,由 C>G,但突变碱基并没有影响蛋白质的翻译。

根据 IMGT/HLA 数据库 3.23 版本,截止到 2016 年 1 月 19 日,至今发现的 $HLA-B$ 位点等位基因为 4179 个。在中国常见及确认的 HLA 等位基因表(CWD)2.2 版本中显示, $HLA-B:15:179$ 为罕见等位基因。在 2009 年,对合肥地区造血干细胞捐献者 $HLA-A, B, DR$ 位点进行了调查, $HLA-B^* 15$ 等位基因的频率为 13.7%,且在 $B^* 15$ 家族中仅发现了 1 个 $B^* 15:95$ 罕见等位基因^[6]。而我们发现的新等位基因是在 1500 人份标本的检测中发现的,该基因频率还有待于进一步筛查研究。

新等位基因的不断发现,使得 HLA 等位基因的数量不断增加。这一方面丰富了人类群体遗传和进化分析方面的资料,同时也对实体器官和造血干细胞供受者组织相容性配型、与某些疾病的关联、药物个性化选择等方面都起到了重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Robinson J, Waller MJ, Parham P, et al, IMGT/HLA Sequence Database-a sequence database for the human major histocompatibility complex. J. Nucleic Acids Res, 2001, 29 (1) : 210-213.
- [2] Marsh SG. WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. Hum Immunol, 2006, 67:557.
- [3] 武大林,张彦.HLA 单倍型等位基因交换重组对移植配型的影响(7 个家系分析).中国优生与遗传杂志,2007,12(4):132-134.
- [4] KoSY, Oh HB. $B^* 39:60$, a novel $HLA-B^* 39$ allele identified by sequence-based typing. Tissue Antigens. 2011, 77(2) : 155-156.
- [5] Cervelli C, Canossi A, Azzarone R, et al. Sequence-based typing identification of the novel $HLA-A^* 24:135$ variant in a Maldivian family with a bone marrow patient. Tissue Antigens, 2011, 77(2) : 152-153.

· 输血管理 ·

乌鲁木齐市无偿献血宣传及团队无偿献血的实践和思考

万建华 张洪斌 陈羽 赵炜[△](乌鲁木齐市血液中心, 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 通过对乌鲁木齐市团队无偿献血宣传招募及管理工作的总结, 探讨团队无偿献血招募的现状和新趋势。**方法** 分析和总结近年乌鲁木齐市血液中心无偿献血团队招募工作采取的措施。**结果** 乌鲁木齐市无偿献血工作坚持以宣传为导向, 以团队招募为目的, 通过建立健全各种制度, 创新深化各种机制。群众无偿献血知晓率不断提高。**结论** 为更好地为献血者服务, 本中心在稳固现有无偿献血者队伍的同时, 在无偿献血招募方式中开辟了团队招募的献血形式, 并收到明显成效。

关键词:无偿献血宣传; 团队无偿献血; 无偿献血招募动员

中图分类号:R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0084-03

Practice and reflection on the promotion of voluntary blood donation and group blood donation in Urumqi WAN Jianhua, ZHANG Hongwu, CHEN Yu, ZHAO Wei. Urumqi Blood Center, Urumqi 830001, China. Corresponding author: ZHAO Wei.

Abstract: Objective To summarize the current situation and to explore the new trend in the recruitment and management of volunteer blood donors in Urumqi. **Methods** Recruitment measures in voluntary blood donation in Urumqi Blood Center in recent years were analyzed and summarized. **Result** The work of voluntary blood donation in Urumqi city insisted on using promotion as a direction, with the aim to recruit group blood donors. Through establishing comprehensive policies, each policy had experienced a more appreciable and deeper level of innovation. Public awareness about voluntary blood donation maintained a steady rise. **Conclusion** In order to better serve blood donors, Urumqi Blood Center develops a method to recruit donors for group donation, while maintaining the existing blood donors. The blood center has since achieved remarkable results.

Key words:blood donation promotion; team blood donation; blood donor recruitment and mobilization.

乌鲁木齐市自无偿献血以来, 自愿无偿献血走过了 17 年, 从 1998 年的年临床供血 7 吨, 上升到 2015 年的年临床供血量 16 吨, 基本保障了临床医疗用血。随着深化医药卫生体制改革的持续推进, 乌鲁木齐市医疗服务能力不断增强, 医疗保障水平不断提升, 临床用血需求逐年上升, 季节性、偏型性缺血时有发生。受当前社会维稳压力持续增大的影响, 乌鲁木齐市流动人口数量明显降低, 对无偿献血工作产生了巨大影响。新疆面临反恐维稳工作长期性、复杂性、艰巨性的严峻形势, 新常态下如何构建无偿献血和临床血液保障的新机制亟需破题。针对无偿献血工作面临的新形势, 乌鲁木齐市血液中心及时转变宣传策略, 除了对个人无偿献血者做好现有的保留工作, 还加强团队献血的宣传招募及管理工作。宣传招募工作覆盖全市七区一县, 包括全市各大高校、千人企业、区县管辖范围下的政府机关、事业单位、小型企业

及农牧民区等。

1 无偿献血宣传工作的实践措施

1.1 与新闻媒体建立长期合作伙伴关系, 扩大宣传广度充分利用新闻媒体在整个社会中影响面大、覆盖范围广的优势, 为无偿献血事业“摇旗呐喊”。在乌鲁木齐晚报开辟无偿献血宣传专栏, 与首府最具影响力的平面媒体——《乌鲁木齐晚报》合作。在晚报公益版面开设宣传专栏——《血缘》, 每周刊发 1 期。2014—2015 年, “血缘”专栏已累计刊发相关报道 52 篇, 主要以宣传无偿献血者及团队的先进感人事迹, 相关血液常识和献血前后注意事项等, 以老百姓关注的重点为主; 在新疆广播电视台、乌鲁木齐广播电台录制公益宣传片花, 讲诉无偿献血对生命的意义, 号召更多的市民积极加入到无偿献血的队伍; 在新疆网、亚心网策划网络专题活动。利用网络专题宣传献血者默默奉献的感人事迹, 树立无偿献血先进典型, 通过新疆网的广泛传播, 形成社会爱心氛围浓厚、公益理念深入人心的社会氛围。

与乌鲁木齐市电视台新闻频道合作, 在晚间 7:30 分-

doi: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.029

△通信作者:赵炜(1963.11-),女,卫生事业管理高级职称,主要从事血站管理及文化建设等方面的研究,电话:0991-8736367, Email: 13999883362@163.com

[5] 朱发明, 吕沁风, 章伟. 一例新的 HLA-B 等位基因 B*56:14 的核苷酸序列分析. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22(3): 288 - 290.

[6] 吕蓉, 刘忠, 李素萍. 安徽合肥地区汉族群体 HLA 基因频率分

布. 临床输血与检验, 2009, 11(4): 291-294

(2016-04-27 收稿, 11-30 修回)

本文编辑:夏玲

11:30 分,各类新闻专栏推出以“无偿献血常识、献血法相关政策”等知识、常识、政策为主要内容的游走字幕。

1.2 广泛开展献血服务活动 开展献血服务进高校、社区、农村、厂矿、企业、军营活动。以“奉献、友爱、互助、进步”的志愿精神为宗旨,血液中心献血车驶入各高校、各区县、企事业单位及部队等,开展无偿献血宣传,累计发放无偿献血宣传资料万余份,提高了在校学生、部队官兵、社区居民、厂矿职工、区县农民对健康教育、无偿献血知识的知晓率。做好献血队伍主力军及潜在献血者的意识教育。在首府 19 所高校陆续举办以“莘莘学子献热血,助力生命,传递爱心”为主题的无偿献血知识讲座,累计有近万名高校学生接受了培训。致使高校学生献血率同比大幅度增长。

1.3 推出无偿献血形象代言人 为使无偿献血事业的公益性更具形象化,更易被市民所接受,特聘请自治区人民广播电台明星主持人航志为“乌鲁木齐市无偿献血爱心形象大使”。

1.4 引导和提高领导层对无偿献血工作的关注和重视 自 2014 年起,中心领导班子成员加入到献血招募小组,走访七区一县和各大高校分管无偿献血工作的主要领导,从关注民生、关爱生命、维护稳定的高度,结合《中华人民共和国献血法》有关规定,引导区县和高校的主要领导要亲自过问无偿献血工作,切实加强对无偿献血工作的领导。经过努力,目前七区一县的主要领导把无偿献血活动作为倡导服务精神,提高辖区市民素质,提升形象和深化文明城市创建的一项重要工作来抓,取得了明显成效,使无偿献血工作呈现出蓬勃发展的良好局面。

1.5 借助微博微信平台和大众互动 2014 年,血液中心开通了微博、微信公众平台,通过利用网络媒介迅速、便利、超时空、互动性强的宣传模式,迅速了解社会公众的意见和建议,和献血者进行互动,大大节约了宣传成本,有助于维持现有的固定无偿献血人群,增加新的无偿献血人群,目前乌鲁木齐市血液中心的微博、微信关注人数已达 1.5 万人左右。

1.6 与首府公交集团合作 2014 年末,通过乌鲁木齐市献血办公室、乌鲁木齐市血液中心和乌鲁木齐市公共交通集团有限公司积极的协调沟通,利用公交车流动性大,市民接触机会多,宣传范围广的特点,于 2015 年初,无偿献血公益广告分别在 6 条公交线路,共计 55 辆公交车的车体以及 20 个公交站台、站牌免费推出无偿献血公益宣传广告。使首府乌鲁木齐市多了 1 道流动,靓丽的风景线,这在首府尚属首次。

2 乌鲁木齐市团队无偿献血招募工作的具体做法。

针对近年来街头献血人员骤减的趋势,以及献血人次、献血量和临床用血量“双降一升”的严峻形势,维稳是新疆独特的政治和社会环境,所以,团队无偿献血更显其必要性。血液中心除了强化公益宣传外,积极拓宽工作思路,并通过以下方式由被动等待变为积极主动,大力推进团队无偿献血招募动员工作。

2.1 建立无偿献血长效机制 2014 年市献血办公室出台了《乌鲁木齐市无偿献血应急团队工作方案》,目的是建立本市无偿献血长效机制,探索创新无偿献血增量模式,进一步大

力推动以首府街头自愿无偿献血为主,首府常驻机构团体无偿献血为支撑,参加社会保险人员献血队伍为保障的献血群体。根据应急团队工作方案总体思路,规划了团队献血的总体方案。

2.2 成立团队招募组 针对不同的社会群体,以高等院校、大型企事业单位为工作重点,分别成立了“高校招募组”、“千人团队招募组”。从中心挑选具备一定的血液知识和良好的口头表达能力、能吃苦耐劳、善于人际沟通、应变能力强、有奉献精神、形象气质较好的无偿献血招募人员。主动走出去,走进乌鲁木齐辖区 19 所高校和职工人数超过 1 000 人的近百家大型企事业单位,主动宣传无偿献血知识,开展无偿献血招募工作。

2.3 加强政策开发,积极争取政府高位推动 乌鲁木齐市精神文明建设指导委员会已下发《乌鲁木齐市文明单位创建管理办法》市文明委〔2014〕1 号以及《乌鲁木齐市文明社区(村)创建管理办法》市文明委〔2015〕4 号。已将无偿献血工作纳入市级精神文明考核体系。

2.4 做好献血队伍主力军及潜在献血者的意识教育 在首府 19 所高校陆续举办以“莘莘学子献热血,助力生命,传递爱心”为主题的无偿献血知识讲座,累计有近万名高校学生接受了培训。致使高校学生献血率同比大幅度增长。为方便高校学生参加无偿献血,成立了高校采集组轮流进驻 19 所高校进行采集,同时晚间利用晚自习为高校学生进行无偿献血知识讲座。集中联系 3 所少数民族较集中的高校,为少数民族学生进行 Rh 阴性的筛选,对筛选出来的 Rh 阴性学生进行集中宣传、培训动员采集,补充了 Rh 阴性血液的库存。与高校团委、学生会及爱心学社保持密切联系,关注校园网站及微信平台,及时将大学生献血的感人事迹进行上传,提高在校生对无偿献血的关注度。努力向上级卫生行政部门及教育部门提出《关于大学生参与无偿献血的宣传和计划及激励机制》的建议,为大学生积极参与到公益的志愿者服务队伍提供平台。

2.5 团队无偿献血的进步 团队献血组织前招募人员会和带队人员联系,确定好献血地点和时间,避免多个团队同时献血造成献血时间过长,影响献血者情绪。同时中心会安排好血液采集的前期准备工作,保证采集过程中优质的服务,血液采集后会为每 1 名献血者送感谢信。团队无偿献血宣传动员的目的,不是为了献血而献血,而是通过献血,让团队人员充分感受到因献血而带来的光荣感。通过不断努力,本市团队无偿献血已取得长足进步(表 1)。

表 1 2013~2015 年街头自愿无偿与团队无偿献血比例

| | 街头自愿无偿 | | 团队自愿无偿 | |
|--------|----------|-------|-----------|-------|
| | 采集量(U) | 比例(%) | 采集量(U) | 比例(%) |
| 2013 年 | 50 394 | 78.1 | 14 158.22 | 21.90 |
| 2014 年 | 43 440.4 | 70.1 | 17 996.06 | 29.90 |
| 2015 年 | 42 113 | 66.6 | 21 148.89 | 33.40 |

表 2 2014~2016 年千人团队招募明细

| | 2014 年 | 2015 年 | 2016 年(截至 11 月 20 日) |
|--------|--------|--------|----------------------|
| 已招募单位 | 184 | 58 | 38 |
| 成功采集单位 | 48 | 56 | 38 |
| 流失单位 | 136 | 2 | 0 |

3 乌鲁木齐市无偿献血宣传及团队无偿献血的思考

无偿献血宣传工作是献血工作持续健康发展的前提。新形势下的无偿献血宣传工作要实现机制创新、内容更新、形式创新。按照国家卫计委《关于进一步加强血液管理工作的意见》(国卫医发(2015)68号)通知精神,稳步拓展无偿献血模式,推动团体无偿献血和街头流动无偿献血协调发展,提升无偿献血抗风险能力。

3.1 无偿献血的长效管理机制 政府的主导作用及无偿献血的长效管理机制尚未建立。虽然已将无偿献血工作纳入“市级文明单位”考核体系,要求各单位必须完成无偿献血工作才能争创。但是由于本市自治区级单位不争创“市级文明单位”,而是直接争创“自治区级文明单位”,故多数单位对于无偿献血工作不接待、不配合。根据献血工作发展形式,结合血液管理重点工作,将无偿献血宣传纳入到各部门的科普、普法教育内容当中,形成献血宣传工作的合力,有目标、有计划、有步骤推进献血宣传工作深入发展。

3.2 加大重点人群的宣传 根据《全国无偿献血表彰奖励办法》中对城市居民、农村居民和在校青少年献血知晓率的要求,按照重点突出,适量区分原则,加强城市居民献血宣传多样化,农村居民献血宣传科普化,在校青年献血宣传长效化,利用各类载体,进一步提高无偿献血知晓率。同时挖掘献血事业中的先进典型,宣传先进事迹,增强社会对献血事业的深刻认识,提升献血事业的崇高性。

3.3 强化献血宣传的舆论引导 及时对涉及献血事业的舆情进行关注、研判和回应,准确把握献血公益事业的舆论方向,进一步增强同媒体间的沟通,强化献血宣传工作的正面引导,努力消除负面影响,为全面推进本市献血工作持续稳

定发展创造有利的舆论氛围。献血宣传工作不能囿于献血管理机构的孤军奋战,他本是就是1项社会性工作,要靠政府、社会团体、媒体部门等力量共同为之。要努力寻求其他部门的支持,找准结合点和落脚点,依托社会科普教育资源,广泛开展合作,拓宽献血宣传半径,实现献血宣传工作的常态化。

3.4 团队无偿献血招募的作用和不足 团队招募作为无偿献血招募工作的1种模式,在招募工作中发挥着不可替代作用,尤其是在献血淡季(严寒酷暑季节及大中专院校放假期间)作用就愈发突出。团队招募献血的优点具体表现在:有效弥补献血淡季的临床用血,更好地为临床用血服务;培养了固定的献血团体,关键时刻能起到应急献血队伍的作用;培养了潜在的献血群体。通过实地宣传,现场献血,加强了对广大市民,尤其是年轻人献血知识的教育,消除市民的献血误区。与街头自愿献血相比,团队献血还是存在风险和不足:有同伴压力或对自愿无偿理念或精神的冲突或潜在的、演变成有偿献血或计划献血的风险。

参 考 文 献

- [1] 宋仁浩,何路军,常缨.献血影响因素的聚类分析研究.中国输血杂志,2012,25(9):864-865.
- [2] 朱跃国,王伟,曹大康.团体无偿献血的有序管理与功能发挥.中国输血杂志,2014,27(11):1197-1199.
- [3] 欧阳剑,贝春花.2012-2014年广州市团体单位无偿献血招募的现状和新趋势.中国输血杂志,2016,29(4):420-422.

(2016-04-25 收稿,11-16 修回)

本文编辑:夏玲

《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。

· 输血信息化 ·

血站血液信息管理系统容灾措施浅析

李鹏 李秦(开封市中心血站,河南 开封 475000)

摘要:目的 探索符合血站血液管理信息系统现状的容灾措施,以保障采供血业务工作平稳运行。**方法** 通过异地容灾机房的建立、数据库系统的建设及中间件 High Availability 集群的组成等措施,初步建立血站血液信息系统的容灾体系。**结果** 血站容灾体系的建立和多次成功的操作实践及演练,实现了血站信息系统的安全性和高可用性。**结论** 通过建立切合本站实际的信息容灾系统,保证了采供血业务的平稳运行,保障了血站业务数据的安全、可靠。

关键词: 血液管理; 信息系统; 容灾

中图分类号: R457 TN948.61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)1-0087-03

An analysis for disaster tolerant measures of blood information management system in a blood station LI Peng, LI Qin. Kaifeng Blood Center, Kaifeng 475000, China.

Abstract: Objective To explore the disaster tolerant measures which can operate in blood information management system in the present blood station and to ensure the smooth operation in blood collection and supply. **Methods** The disaster tolerant room was established. The database system and the composition of middleware high availability cluster, and the disaster tolerant system in blood information management were initially developed. **Results** Through the establishment of disaster tolerant system and several successful operation practices, the blood information system was safe and available. **Conclusion** Establishing a realistic disaster tolerant system in our blood station helps to ensure the smooth operation of blood collection and supply and to protect the safety and reliability of the database system in blood station.

Key words: blood management; information system; disaster tolerant

《血站质量管理规范》中明确要求:必须应用计算机管理相关服务过程,必须采取措施保证数据安全,对数据库进行定期备份^[1]。随着计算机信息系统的不断发展,血站的采供血业务越来越依赖于信息系统的可靠运行,关键血液信息数据的安全性和准确性直接影响血液质量和安全,已经成为血站最为重要的资产^[2]。一旦信息系统故障,将导致采供血业务停顿,影响医疗服务,严重的甚至威胁广大患者的生命安全。因此,“除患于未然,方能转危为安”,建设可行的采供血业务灾备系统显得刻不容缓。

目前,国内采供血行业信息管理的容灾系统建设水平仍处于初期阶段,多数血站采取数据备份的方式确保数据安全,尚未建立容灾系统。但事实是这样操作直接导致灾难恢复的等级较低。按照国家标准《信息安全技术 信息系统灾难恢复规范》(GB/T20988-2007)的定义只能达到 1 级或 2 级^[3]。一旦发生如系统崩溃、数据丢失等意外情况,恢复采供血业务信息系统的运行将耗时长久。少部分血站根据投资预算额度的不同,建设了不同灾备级别的容灾系统,且容灾服务器多设置在血站内部主楼或不同楼层,并未实现真正意义上的异地容灾。本文以本站容灾系统建设情况为例,探讨如何建立适合血站实际情况的容灾系统。

1 概述

采供血系统发生信息数据破坏的原因主要有:1)自然灾

害,如水灾、火灾、雷击、地震等造成的计算机系统破坏^[4],导致存储数据被破坏或丢失,这属于客观因素。2)计算机设备故障,包括存储介质老化、失效,这虽属于客观因素,但可通过定期维护保养,及时发现安全隐患并提前预防,避免灾难的发生。3)系统管理员或维护人员的误操作,这属于主观因素,虽无法完全避免,但应尽量减少差错的发生。4)病毒感染造成的数据破坏和网络“黑客”攻击,这属于客观因素,但可通过适当的预防工作,避免此类灾难的发生。所谓容灾,就是在上述灾难发生时,将生产系统数据的丢失损失降到最小并保持生产系统的业务能够不间断运行。

2 容灾系统关键指标

容灾系统主要有两个关键指标:1)恢复时间目标(Recovery Time Objective, RTO)指灾难发生后,信息系统或业务功能从停顿到必须恢复的时间要求。2)恢复点目标(Recovery Point Objective, RPO)指灾难发生后,系统和数据必须恢复到的时间点要求,它是衡量灾难发生后会丢失多少生产数据的目标^[5]。这两个目标数值越低,表示目标要求越高,相应容灾系统的投入以及技术难度就会越大,因此按照国家标准《信息安全技术 信息系统灾难恢复规范》(GB/T20988-2007)的要求并结合本血站的实际情况,我们选择 5 级容灾标准,即本地生产系统与异地容灾系统保持同步, RTO 在数分钟至 2 d 内, RPO<30 min, 仅次于 6 级最高标准。

3 灾备系统关键控制点

实现真正的血液信息系统容灾,需要对影响系统运行的所有关键部位进行容灾设计,关键灾备控制点包括数据库服务器系统、中间件系统、关键网络设备(包括主交换机、路由器、VPN)、电力和主要设备环境(包括电源、电力、机房空调)。

4 灾备设计方案

为了保证数据的安全,提高系统和数据应急恢复能力,本站选用了中间件 High Availability 集群容灾服务器,并在异地新建容灾机房,用于该服务器的存放。同时,对服务器的功能进行划分,即生产机房与容灾机房分别位于血站业务主楼与附属楼,2 个机房通过 1 000 Mbps 网线连接。

4.1 数据库系统容灾设计 数据库系统用于存储关键采供血业务数据,不仅决定系统能否稳定运行,也是数据保护的中心环节。因此数据库系统的灾备设计是主体部分。其中生产数据库记录了采供血流程所有的业务操作,这部分操作日志通过银行保密级别的 SSL 技术安全传输至本地或异地服务器之后,再将业务操作在后备数据库上更新,使得后备数据库与生产数据库保持一致。传统的备份方式是定时对生产数据库进行备份,在两次备份之间有可能丢失数据。而容灾数据库能够与生产数据库保持一致,容灾数据库也是生产数据库的实时备份,这种备份方式比传统定时备份方式更有保障。

4.1.1 数据库灾难恢复 一旦发生意外情况,导致现有业务系统不能使用,需要在最短时间内恢复业务系统正常运行。这种情况下,容灾数据库状态可由后备切换为生产状态,从而将灾难恢复时间控制在最短时间内,损坏的生产数据库可以从容地进行修复,修复完成后,再将业务系统切换回生产数据库(图 1)。

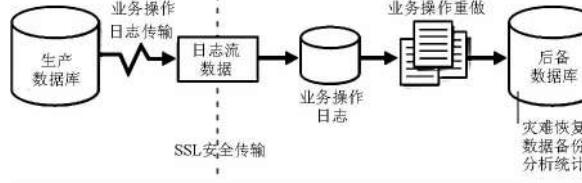


图 1 数据库容灾示意图

4.1.2 重大操作错误的数据恢复 工作人员因为疏忽或未按规程操作而发生一些重大操作错误,导致业务系统数据被误修改。可以利用已经传送到容灾数据库上的所有业务操作日志,制定备份策略,形成以 0 级和多个 1 级备份相组合的备份机制,实现在发生重大操作错误的情况下,系统还可以利用这些备份,将业务数据恢复到某个时间点的功能(图 2)

4.2 中间件系统容灾设计 中间件系统是采供血业务系统业务过程的执行者,负责采供血业务管理逻辑的运行,本站对中间件系统的灾备设计采用短途双机+灾备双重备份的方式。以设立在主楼的短途双机中间件服务为主体,附属楼远程灾备中心的中间件服务器为二级服务器,进行二级灾备设计。由于中间件系统中部署了整个业务系统的管理软件核

心,决定了业务系统的正常运行,与用于存储业务数据的数据库系统不同的是中间件系统不需要保持数据,更重要的是保证其运行的可靠性,当灾难发生时能够自动切换到备机。由于中间件系统与系统保持运行的密切相关性,大部分软件升级都需要调整中间件系统,为便于日常管理维护,本站设计了两级中间件系统的容灾即短途双机+远程灾备,既可以提高系统运行效率又便于就近维护。主机房中间件系统故障时,可以切换到附属楼中间件系统中。

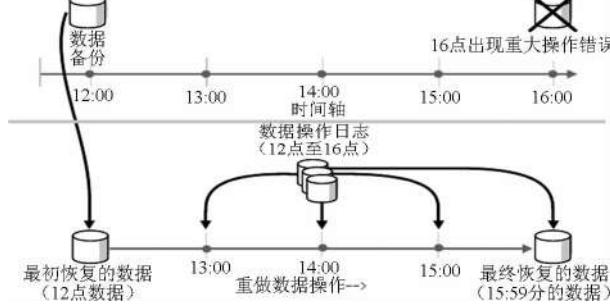


图 2 重大操作错误数据库恢复示意图

4.2.1 中间件系统的容灾设计 主楼的中间件双机与附属楼的中间件备机组成一个 High Availability 集群,主路由器与附属楼主路由器互为备份,内部工作站通过内部网络连接至服务器,其它外部工作站则通过 Internet 连接至服务器(图 3)。

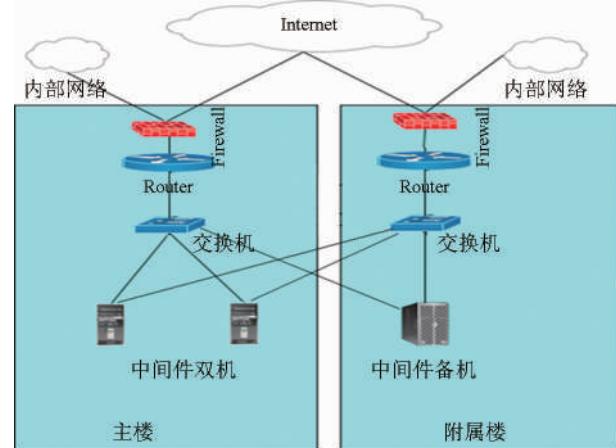


图 3 中间件系统容灾设计示意图

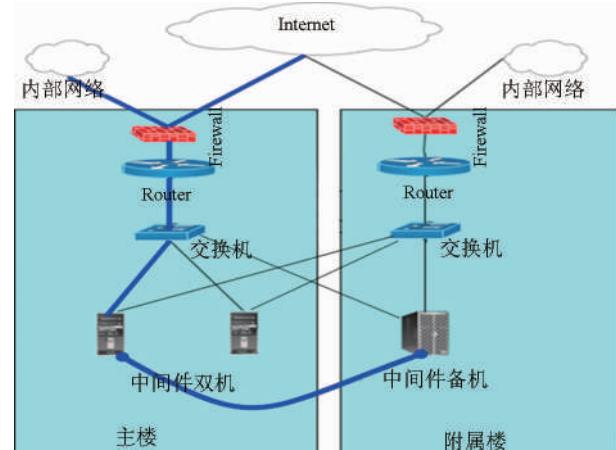


图 4 中间件系统正常运行示意图

4.2.2 中间件系统运行状态的切换 正常状态下,系统的

运行状态由图 4 中蓝色线段标识。所有工作站通过主楼的路由器,连接至中间件主机执行业务操作,附属楼的路由器和中间件备机处于待命状态。中间件进行升级部署时,系统自动将升级文件同步到附属楼的备机(图 4)。

主楼发生灾难时,系统运行状态由图 5 中的红色线段标识。此时附属楼的路由器和中间件分别激活,接管服务(图 5)。

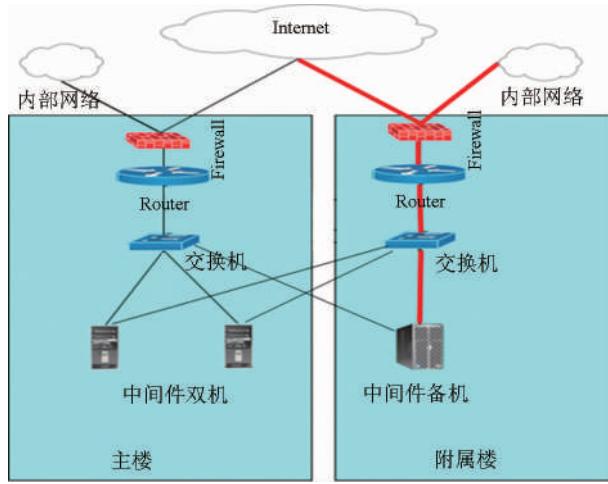


图 5 中间件系统切换后运行示意图

5 容灾系统的实施

血站信息系统贯穿整个采供血流程,要求容灾系统工作时不能对生产系统造成性能冲击。实施过程中,对生产数据库与容灾数据库同步策略进行了优化,保证生产系统优先获得计算机硬件资源运行,并在此基础上尽快将生产系统数据同步至容灾系统。

6 讨论

随着无偿献血信息系统的不断发展和信息技术的广泛应用,血站管理信息系统已经覆盖到所有采供血业务工作,实现血液所有流程的跟踪监控^[6]。血站对信息管理系统运行的稳定性和连续性要求持续提高,要求信息系统 7×24 h 不间断、高可用性服务,任何情况下系统一旦停机都会给血站造成巨大损失。

本站通过对容灾机房、数据库系统及中间件 High Availability 集群的建设,初步完成了信息系统容灾体系建设,通过数据同步监控软件可以观察到生产系统数据在 3 s 之内即可同步到容灾系统,也就是 RPO<3 s。同时通过对容灾系统的

切换演练,确保 30 min 之内即可将血站业务系统、网络等整体迁移到容灾机房后备服务器上运行,也就是 RTO<30 min。灾备系统的 RTO、RPO 目标符合标准,满足业务系统的安全性、高可靠性和高可用性要求,达到了设计预期目标,保证了采供血业务的平稳运行,保障了血站业务数据的安全、可靠。但是也应看到存在的不足之处:1)灾备系统切换演练时恢复时间目标(RTO 值)为 20 min 左右,尚有缩短空间。2)放置灾备服务器的附属楼与放置生产系统服务器的主楼中心距离(<100 m)较近,空间限制较为明显。由于容灾系统涉及到数据库、中间件、关键设备、网络等诸多因素,下一步容灾系统建设中:1)建设目标尽可能缩小 RTO 值,以尽快恢复生产系统,确保采供血信息系统正常运转;2)不局限于现有的主楼与附属楼容灾机房的建设模式,建立真正的异地容灾中心即距离>100 km 范围,某血液中心在离本血站较近的 L 市中心血站建立异地备份点的做法值得我们借鉴^[7]。

容灾系统建设是 1 项复杂的、专业性强的信息系统工程,建议在建设容灾系统时:1)提高对灾备系统重要性的认识;2)需要根据血站的灾备信息系统需求目标、财政预算投入,设计科学合理的灾备系统建设方案;3)灾难情况的发生毕竟是小概率事件,应把灾难备份作为日常工作重点,宜设置专职信息管理人员定期做好灾备系统设备的维护、保养;4)制定有效的灾难恢复计划并定期演练,确保灾难真正发生时灾备系统正常运行。

参 考 文 献

- [1] 卫生部.血站质量管理规范.卫医发[2006]167号.2006-04-25.
- [2] 宫彦婷.医院存储系统的容灾探讨.医疗卫生装备,2014,35(9):130-132.
- [3] 李超.集中化检测项目灾难备份系统的建设.中国输血杂志,2009,22(12):973-974.
- [4] 陈文昭,李镜波,陈旭坤.中大型民营医院信息系统的云容灾与备份.现代医院,2013,13(8):145-147.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 中国国家标准化管理委员会.信息安全技术信息系统灾难恢复规范(GB/T20988-2007).北京:中国标准出版社,2007:3.
- [6] 魏延民.我国信息化时代背景下血站的信息化建设.中国输血杂志,2014,27(11):1158-1160.
- [7] 庞志向.血站数据库异地备份与恢复.科技与企业,2014,10(22):58-59.

(2016-07-21 收稿,2017-01-09 修回)

本文编辑:李宜蔓

· 综述 ·

储存红细胞输注导致机体损伤及机制研究进展*

樊凤艳^{1,2} 汪德清[△](1.解放军总医院 输血科,北京 100853;2.空军总医院 输血科)

摘要: 储存红细胞在体外保存过程中经历了一系列形态、功能、新陈代谢的改变。近年来多项研究表明输注保存期长的红细胞会导致多种临床不良预后事件,如感染风险增加、肾衰竭、呼吸衰竭、多器官衰竭、深静脉血栓、死亡等,尤其是生理功能受累患者更易发生不良预后事件,但其具体机制目前尚不明确。FHb 对 NO 的清除作用、TLR4 信号通路的激活、免疫细胞功能抑制及铁超载等理论,从不同方面阐述了储存红细胞在体外长时间保存后对机体造成损伤的可能机制。

关键词: 输血; 红细胞储存损伤; 损伤; 机制

中图分类号:R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0090-05

Research progress on injures and related mechanisms caused by transfusion of preserved erythrocytes FAN Fengyan^{1,2}, WANG Deqing^{△1}. 1. Department of Blood Transfusion, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 2. Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital.

Abstract: During storage, preserved red blood cells (RBCs) in vitro undergo a series of changes in morphology, function and metabolism. Recently, multiple researches have shown that RBC units with longer storage periods were associated with increased risks of infection, renal dysfunction, respiratory failure, multiple organ dysfunction syndrome (MODS), deep vein thrombosis, mortality, etc. Especially in critically ill patients, adverse clinical outcomes were more common. However, it is still unclear how these adverse clinical outcomes occurred. The mechanisms may involve nitric oxide (NO) scavenging by free hemoglobin, activation of TLR4 signaling, suppression of monocyte function, and inflammation mediated by iron.

Key words: transfusion; red blood cell storage lesion; injures; mechanisms

红细胞是目前临床输血治疗中应用最广、用量最多的成分,在内科贫血治疗、外科重大手术和战、创伤抢救中的治疗作用至今仍无可替代。目前临幊上使用的红细胞保存日期多为 35 d,最长为 42 d。红细胞保存过程中会导致红细胞发生形态改变、新陈代谢减慢,这些变化会降低红细胞携氧、释放氧能力和变形能力,增加潜在的毒性介质释放^[1]。目前,越来越多的临幊证据表明,临幊恶性结局如高院内病死率、感染、血栓、急性肺损伤、心脏并发症及肿瘤的复发转移等,与红细胞长期保存过程中造成的红细胞损伤和某些非细胞成分的积聚密切相关,越是重症患者发生恶性结局比例越高,如接受重症护理患者、接受心脏介入治疗患者、接受结肠直肠手术患者、多发性外伤患者^[2]。

1 储存红细胞输注对机体的损伤作用

近年来,输注保存期长的红细胞导致的临幊不良预后报道越来越多。这些事件包括感染风险增加、肾衰竭、呼吸衰竭、多器官衰竭、死亡,尤其是生理功能受累患者更易发生不良预后事件。

1.1 对心血管手术预后的影响 新英格兰医学杂志 2008 年报道了针对 6 002 名心血管手术患者的回顾性调查研究,这些患者共进行了 19 584 次输血治疗,研究发现输血副反应

的发生与输注血液的贮存时间长短相关^[3]。Manlhiot 等回顾性研究了 1 225 例儿科心脏手术患者,研究发现输血量超过 4 U 或超过 150 mL/kg 的患者红细胞保存期,与高出血率、肾功能不全、术后高 inotrope 得分、胸腔引流量增加、住院时间延长、院内死亡率升高均显著相关,输注保存期超过 14 d 红细胞患者术后出血情况显著增加,而低输血量患者却未发现此现象。作者建议儿科心脏手术患者尤其是输血量超过 4 U 或超过 150 mL/kg 的患者应尽量输注新鲜红细胞,尤其是尽量不要输注保存期超过 14 d 红细胞^[4]。近年也有主要针对于心血管手术和创伤患者的系统分析,结果显示输注保存期长的血液可显著增加患者死亡风险 (OD: 1.16, CI: 1.07–1.24)^[5]。但此观点尚存在争议,近来也有研究认为,输注不同储存期红细胞对心脏手术患者的长期存活率和发生严重并发症风险没有影响,肯定了当前血液储存策略^[6]。

1.2 对肺及其功能的影响 一项回顾性研究表明,创伤患者输注保存期大于 14 d 的红细胞可以显著增加肺炎的发生率^[7]。有动物实验表明,肺炎的比格犬模型输注保存期为 42 d 的红细胞 (10 mL/Kg) 可以通过加重血管内溶血、增加肺血管血压、影响肺泡气体交换从而增加输血导致死亡风险^[8]。健康成人志愿者输注保存 40 d 的自身血液可以观察到游离血红蛋白 (free hemoglobin, FHb) 升高及肺动脉压升高,升高的肺动脉压可以被吸入 NO 气体抑制^[9]。

输血相关急性肺损伤 (transfusion-related acute lung injury, TRALI) 是较早被报道的目前研究比较多的输血反应,是指输血后 6 h 内新发生的以急性低氧血症和非心源性肺水

doi: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.031

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81572059);△通信作者:汪德清(1962.12-),男,主任医师、教授,主要从事临床输血风险控制研究,电话:010-66936508,Email:deqingw@vip.sina.com

肿为主要表现的临床综合征。TRALI 的严重程度与输注红细胞保存时间和患者易感因素有关^[10]。目前研究认为 TRALI 的发病机制分为免疫性和非免疫性。多项临床研究及动物实验证明免疫性 TRALI 主要是由抗白细胞抗体介导的, 血液成分中白细胞抗体, 主要是 HLA 抗体, 与患者白细胞发生的特异性抗原抗体反应, 使生物活性物质作用于肺血管内皮细胞, 致肺循环中的白细胞主要是嗜中性粒细胞被激活, 释放大量炎性介质, 导致肺血管内皮细胞损伤和肺泡毛细血管膜通透性增加, 发生非心源性肺水肿^[11]。保存时间久的红细胞悬液中生物活性脂质在血细胞成分中积聚, 这些脂质有激活中性粒细胞的作用, 大鼠实验证实储存于红细胞和血小板中的脂质可引起 TRALI。

1.3 对肾及其功能的影响 输注保存期较长血液导致肾损伤报道主要集中于 FHb 浓度升高导致的肾损伤。Baek 等用几内亚小型猪做模型发现大量输注保存期为 28 d 的血液, 可以导致血管内溶血、急性高血压、血管损伤和肾损伤, 损伤强度与溶血程度正相关。这些损伤可以因为输入触珠蛋白 (FHb 清除蛋白) 而减轻, 验证了陈旧红细胞输注导致的损伤与 FHb 有关^[12]。一项来自日本的研究显示, 创伤患者输注 2 000 mL 以上全血, 可以导致 FHb 升高及触珠蛋白消耗增加。手术或外伤患者输注 ≥ 1 000 mL 平均保存时间为 12.2 d 的全血时即可检测到血浆总触珠蛋白及游离触珠蛋白消耗增加。当总触珠蛋白降到 1 000 mg/L, 全血输注量达到 2 000 mL 时, 可以检测到 FHb 升高^[13]。

在心脏术后溶血水平对急性肾损伤 (AKI) 和肠损伤发生的影响研究中发现, 实施体外循环的冠脉搭桥术患者和 CABGcabb 手术患者血浆 FHb 和 NO 消耗水平升高, 触珠蛋白水平下降, 溶血水平与触珠蛋白水平呈显著相关 ($r^2 = 0.75, P < 0.0001$)。反应肾小管损伤的尿 NAG (N-Acetyl-β-D-glucosaminidase) 和反应肠粘膜损伤的肠脂肪酸结合蛋白 (IFABP) 也均显著升高, 且与溶血水平及 NO 消耗水平显著相关。而未检测到 FHb 水平升高和 NO 消耗的非体外循环心脏手术患者则未检测到 NAG 和 IFABP 水平升高。验证了术中血管内溶血导致 NO 消耗增加可能在术后急性肾损伤和肠损伤中发挥主要作用^[14]。

1.4 对凝血功能的影响 红细胞输注一度被认为是深静脉血栓的独立危险因素^[15,16]。而红细胞保存时间是一重要因素。在 1 项针对 202 例输注红细胞 > 5 U 的创伤患者研究中, 输注保存时间 < 28 d 患者深静脉血栓发生率, 显著低于输注红细胞保存时间 > 28 d 患者, 其死亡率也显著降低^[17]。有研究发现, 保存期 > 21 d 红细胞上清血栓弹力图结果 R 值降低, 说明红细胞体外保存可促进凝血酶活性^[18]。然而陈旧红细胞提高凝血活性的确切机制却并不完全清楚。

保存 1 d 和 39 d 红细胞上清通过观察凝块大小分析其凝血活性, 发现不同保存期红细胞呈现保存时间相关的促凝血活性。但上清高速离心分离微囊后不再显示促凝血活性, 预示陈旧红细胞促凝血活性可能与微囊有关^[19]。Cardo 等^[20]用奎蛇毒时间 (russell's viper venom times, RVVT) 评估红细胞保存期间磷脂的凝血活性, 发现随红细胞保存时间增加, 去白组与未去白组 RVVT 时间均显著缩短, 未去白组尤

为明显, 2 组间差异显著。该研究同时发现, 细胞或微囊结合膜联蛋白 V 水平也随保存时间延长而增加, 提示膜联蛋白 V 可能与保存红细胞凝血活性增加有关。此外, 抗-XI 因子抗体可以显著抑制储存红细胞凝血酶活性, 而抗组织因子和抗组织因子途径的抑制剂却无此作用, 提示微囊形成增加凝血活性不仅与磷脂酰丝氨酸暴露有关, 还通过依赖 XI 因子的途径^[21]。Lu 等用复钙一步法评估红细胞促凝血活性, 保存 14 d 的红细胞可以观察到促凝活性, 随保存时间延长其促凝活性增加。保存 42 d 的红细胞其促凝活性被乳凝集素或膜联蛋白 V 分别抑制 94% 和 45%。37℃ 孵育的肝素化新鲜血浆可以部分抑制储存 14 d 红细胞的促凝血活性, 但对储存 42 d 红细胞没有作用, 说明保存期过长红细胞的促凝血活性在输注进人体后不能被肝素抑制^[22]。

1.5 对免疫功能的影响 红细胞免疫功能自 Siegel 等^[23]提出“红细胞免疫系统”的概念后日益受到重视, 大量深入的研究表明红细胞免疫功能是其他免疫细胞所无法替代的, 包括清除循环免疫复合物 (CIC)、降低自由基的损害和参与免疫防御等。2002 年 Offner 对 61 名伤后 12 h 内输注 6~20 个单位不等红细胞的外伤患者进行的研究中发现, 发生以感染为主要并发症的 32 名患者中, 感染与非感染患者年龄与损伤严重程度无统计学差异, 而输注保存时间 > 14 d 的红细胞量在感染与非感染患者中差别有统计学意义, 提示血液保存时间可能是输血相关感染的独立危险因素^[24]。虽然健康志愿者输注少量保存期长的自身红细胞, 未检测到炎症反应的发生, 但患有基础炎症反应的患者如结直肠手术、创伤患者输注保存期长的红细胞可明显加重炎症反应, 小鼠和犬的动物实验也证明了这一点^[25]。

一项针对免疫系统功能与输血关系的前瞻性研究发现, 31 例重症患儿输血前白细胞经脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激产生的肿瘤坏死因子-α 产生能力降低, 显示免疫抑制状态。输注保存期低于 21 d 红细胞的患儿初始免疫功能部分恢复, 而输注保存期超过 21 d 红细胞, 患儿则持续全身炎症及免疫抑制^[26]。有研究探索了红细胞保存时间对感染性休克患者临床过程及细胞因子谱的影响。结果显示 18 例患者中 8 例输注保存期 ≤ 7 d 红细胞 2 U, 10 例输注保存期 > 7 d 红细胞 2 U。虽然 2 组器官衰竭评分、血流动力学和细胞因子实验室指标均无显著性差异, 但输注新鲜红细胞组器官衰竭评分值的改善显著优于输注保存期长的红细胞组 ($P < 0.01$)^[27]。

2 储存红细胞输注导致机体损伤机制假说

储存红细胞输注导致疾病不良预后的机制目前还不是很清楚, 但储存红细胞的前氧化剂、前炎性因子、NO 清除剂性能被认为是储存红细胞相关毒性的潜在原因, 会恶化潜在的炎症、增强氧化应激反应、增加医院感染发生率^[28]。下述 4 个假说从不同方面阐述了储存红细胞输注导致疾病不良预后的可能机制。

2.1 FHb-NO 途径假说 NO 由 L-精氨酸在内皮细胞 NO 和酶 (eNOS) 作用下合成, 可以弥散到血管平滑肌细胞内, 激活鸟苷酸环化酶生成 cGMP, 调节血管平滑肌松弛, 引起血管舒

张,发挥调节血流的作用。红细胞中的 NO 与 Hb 结合后有 2 种形式,一是形成亚硝基血红蛋白(SNO-Hb),发挥 NO 的扩血管作用和保持红细胞的变形能力,有利于对组织的供氧;二是形成铁亚硝酰血红蛋白[Hb(Fe II)NO],促进氧的释放^[29]。同时还发现 SNO-Hb 浓度与库存血诱发的乏活性血管舒张程度强相关($r^2=0.9, P<0.01$)^[30]。

溶血通过影响血管内 NO 代谢导致的副作用,越来越被看作是各种临床事件发生的病理生理机制。红细胞保存期间溶血释放出的 FHb 可能通过清除 NO 影响输血与预后。体外实验表明,红细胞保存时间与 FHb 浓度和 NO 消耗显著正相关^[31]。红细胞贮存期间溶血释放的游离 Hb 和在红细胞微囊中的 Hb 有消耗 NO 的活性,游离 Hb 与 NO 的反应速度是红细胞内 Hb 的 150 倍,红细胞微囊与 NO 的反应速度是完整红细胞的 1000 倍^[32]。FHb 和微囊血红蛋白清除 NO,导致反应性血管舒张消失及活性氧物质生成,促进原本受累的微循环血小板粘附和聚集。微囊表面脂质酰丝氨酸暴露也具有提高凝血活性及使血小板-中性粒细胞聚集作用^[33]。低于 10 μmol/L 的血红蛋白注入大鼠血液循环能够导致强烈的血管收缩,注射高铁血红蛋白、氯化高铁血红蛋白的对照组不消耗 NO,也明显降低血管收缩效果。大鼠输入红细胞上清也产生血管收缩,且程度与红细胞储存相关的溶血程度明显相关,预示输血能够介导内皮损伤及损伤血管功能,作为红细胞储存损伤的基础^[32]。此外,氧化的血浆 FHb(HbFe²⁺O₂)作为强有力的内皮细胞来源的 NO 清除剂,还可能与自身溶血性贫血患者和血液透析患者发生胃肠平滑肌张力障碍、肾损伤、肺动脉高压、高凝血状态及败血症患者死亡率升高相关^[20, 34]。

2.2 TLR4 信号通路的作用 Toll 样受体 4(toll like receptors4, TLR4)是 LPS 的受体,在各种免疫细胞、上皮和内皮细胞大量表达,是机体应对病原微生物的先天性免疫反应的第一道防线。有研究表明,游离血红素依赖的 TLR4 激活及下游信号可以调节多瓣状细胞病和白血病器官功能障碍^[35, 36]。LRT4 抑制剂能完全保护储存红细胞导致的损伤,即使储存 5 d 红细胞未检测到游离血红素,但血红素结合蛋白和 TLR4 抑制剂仍有保护作用。血红素结合蛋白和 TLR4 抑制剂都貌似不是抑制游离血红素、微囊或红细胞调节的 NO 信号通路的,这些数据预示输血后 FHb 和或 TLR4 配体在输血后共同介导毒性作用。有趣的是 1 项最近研究证明在没有影响 eNOS 和 NO 信号通路的情况下,TLR4 介导的坏死性小肠结肠炎严重程度升高,也同样预示 TLR4 活化可能与 NO 信号清除共同作用导致组织损伤。

2.3 免疫功能抑制假说 针对 Offner 的血液保存时间可能是输血相关感染的独立危险因素这一结论,有人在去白细胞浓缩红细胞(LR)和非去白浓缩红细胞(NLR)贮存的 d1 和 d42,分别取上清液和 LPS 与健康献血者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)共培养,培养 24 h 后,测其中 IL-1、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF-α 含量,结果表明贮存红细胞上清液可以增强 LPS 刺激的 PBMCs 的炎性作用,其作用随贮存时间延长而加强,同时,NLR 相对 LR 的作用更为明显^[37]。为了探讨红细胞微囊对于抑制单核细胞功能

的作用,有研究者将保存 7、35 d 红细胞分别取上清、微囊、去微囊上清与单核细胞共培养。微囊用电子显微镜和流式细胞仪鉴定,单核细胞功能通过 LPS 刺激后肿瘤坏死因子-α(TNF-α)产生来评价。结果保存 30 d 红细胞上清和去除微囊上清能抑制单核细胞产生 TNF-α 功能,含微囊上清无此作用。上清蛋白结合 RNA 降解后则失去此作用。预示血浆中微囊以外的蛋白结合 RNA 成分(如 miRNA)可能在输血相关的免疫调节中发挥作用^[38]。也有研究者将悬浮红细胞与 T 淋巴细胞共培养,发现悬浮红细胞可以明显抑制抗-CD3/抗-CD28 刺激的 T 淋巴细胞增殖,IL-10、IT-17a、INF-γ、TNF-α,粒细胞巨噬细胞集落刺激因子合成也被抑制。与空白对照组相比新鲜红细胞也具有抑制作用,但明显低于陈旧红细胞作用^[39]。

国内有研究者通过检测不同贮存时间的红细胞 C3b 受体、红细胞免疫复合物、红细胞超氧化物歧化酶、酵母菌激活全血细胞免疫反应产生 IL-8 的含量来评价红细胞免疫功能,认为血液离体后保存过程中,随着时间的延长,红细胞膜经历损伤过程,部分红细胞免疫功能降低^[40]。大鼠体外细胞培养实验表明保存 14 和 28 d 红细胞上清能显著抑制骨髓 CFU-E 和 CFU-GM 生成,提示输注保存期长的红细胞可能会导致骨髓造血功能紊乱,这也许能够部分解释重症患者输注保存期长血液更容易发生感染^[41]。

2.4 铁超载假说 在小鼠和人的研究中,均表明巨噬细胞细胞内铁与各种炎性刺激导致的细胞因子水平变化是有关联的。在血色素沉着病患者,巨噬细胞细胞内铁水平降低可导致细胞因子产生减少。反之,增加的细胞内铁会加重机体炎症反应综合征。再者,增加的循环铁,尤其是非转铁蛋白铁(nontransferrin bound iron, NTBI)会促进原体增殖。而在临上红细胞输注确实会增加新生儿和地中海患者 NTBI 水平,但其他患者人群未见报道。据此 Hod 等提出了输注储存红细胞导致不良临床预后的“铁超载”假说。该假说认为大量陈旧红细胞输入体内后被巨噬细胞吞噬,释放出的大量铁离子超出了转铁蛋白结合能力,导致巨噬细胞中 NTBI 水平升高,激活巨噬细胞产生并释放大量炎性介质,导致全身炎症反应^[42]。大量 NTBI 释放至细胞外可导致氧化应激损伤、增加感染风险。该结论在动物实验水平得到了验证,该研究中小鼠输注陈旧红细胞上清可导致血浆中 IL-10、TNF-α、INF-γ 显著高于对照组,但志愿者身上进行的人体实验却未进一步证明该假设^[43, 44]。

3 结语

目前虽有大量回顾性或前瞻性临床研究表明,储存时间长的红细胞对患者的临床预后产生不利影响,一些研究也就可能的发生机制进行了探究,但此观点一直没有形成定论。除了一些研究得出了储存时间长的红细胞对患者的临床预后无不利影响甚至是产生有利影响的结论,另外 1 个重要方面就是该研究的临床试验设计存在太多的影响因素。从已经发表的研究来看,新旧红细胞的概念界定、其他血液成分的输注、不同保存期混合血液成分输注,均对实验会产生难以预测的影响。期待高质量的大样本多中心的临床随机对

照实验为临床储存红细胞的应用提供有力的数据支持。

参 考 文 献

- [1] Obrador R, Musulin S, Hansen B. Red blood cell storage lesion. *J, Veterinary Emergency and Critical Care*, 2015, 25 (2) : 187-199.
- [2] Sparrow RL. Red blood cell storage duration and trauma. *Transfusion Med Reviews*, 2015, 29 (2) : 120-126.
- [3] Koch CG, Li L, Sessler DI, et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *New England J Med*, 2008, 358 (12) : 1229-1239.
- [4] Manliot C, McCrindle BW, Menjuk IB, et al. Longer blood storage is associated with suboptimal outcomes in high-risk pediatric cardiac surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2012, 93 (5) : 1563-1569.
- [5] Wang D, Sun J, Solomon SB, et al. Transfusion of older stored blood and risk of death: a meta-analysis. *Transfusion*, 2012, 52 (6) : 1184-1195.
- [6] Sartipy U, Holzmann MJ, Hjalgrim H, et al. Red bCell concentrate storage and survival after cardiac surgery. *JAMA*, 2015, 314 (15) : 1641-1643.
- [7] Vandromme MJ, McGwin G, Marques MB, et al. Transfusion and pneumonia in the trauma intensive care unit: an examination of the temporal relationship. *J Trauma*, 2009, 67 (1) : 97-101.
- [8] Solomon SB, Wang D, Sun J, et al. Mortality increases after massive exchange transfusion with older stored blood in canines with experimental pneumonia. *Blood*, 2013, 121 (9) : 1663-1672.
- [9] Berra L, Pincioli R, Stowell CP, et al. Autologous transfusion of stored red blood cells increases pulmonary artery pressure. *American J Respiratory and Critical Care Med*, 2014, 190 (7) : 800-807.
- [10] Tung JP, Fraser JF, Nataatmadja M, et al. Age of blood and recipient factors determine the severity of transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Critical care (London, England)*, 2012, 16 (1) : R19.
- [11] Shaz BH. Bye-bye TRALI: by understanding and innovation. *Blood*, 2014, 123 (22) : 3374-3376.
- [12] Baek JH, D'Agnillo F, Valletta F, et al. Hemoglobin-driven pathophysiology is an in vivo consequence of the red blood cell storage lesion that can be attenuated in guinea pigs by haptoglobin therapy. *J Clinical Investigation*, 2012, 122 (4) : 1444-1458.
- [13] Nishiyama T, Hanaoka K. Free hemoglobin concentrations in patients receiving massive blood transfusion during emergency surgery for trauma. *Canadian J Anaesthesia*, 2000, 47 (9) : 881-885.
- [14] Vermeulen Windsant IC, de Wit NC, Sertorio JT, et al. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage. *Frontiers in Physiol*, 2014, 5:340.
- [15] Geerts WH, Code CI, Jay RM, et al. A prospective study of venous thromboembolism after major trauma. *New England J Med*, 1994, 331 (24) : 1601-1606.
- [16] Weinberg JA, McGwin G, Vandromme MJ, et al. Duration of red cell storage influences mortality after trauma. *J Trauma*, 2010, 69 (6) : 1427-1431, discussion 31-32.
- [17] Spinella PC, Carroll CL, Staff I, et al. Duration of red blood cell storage is associated with increased incidence of deep vein thrombosis and in hospital mortality in patients with traumatic injuries. *CriticalCare (London, England)*, 2009, 13 (5) : R151.
- [18] Sweeney J, Kouttab N, Kurtis J. Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation. *Transfusion*, 2009, 49 (8) : 1569-1579.
- [19] Keating FK, Butenas S, Fung MK, et al. Platelet-white blood cell (WBC) interaction, WBC apoptosis, and procoagulant activity in stored red blood cells. *Transfusion*, 2011, 51 (5) : 1086-1095.
- [20] Cardo LJ, Hmel P, Wilder D. Stored packed red blood cells contain a procoagulant phospholipid reducible by leukodepletion filters and washing. *Transfusion and Apheresis Science*, 2008, 38 (2) : 141-147.
- [21] Gao Y, Lv L, Liu S, et al. Elevated levels of thrombin-generating microparticles in stored red blood cells. *Vox Sang*, 2013, 105 (1) : 11-17.
- [22] Lu C, Shi J, Yu H, et al. Procoagulant activity of long-term stored red blood cells due to phosphatidylserine exposure. *Transfusion Med*, 2011, 21 (3) : 150-157.
- [23] Siegel I, Liu TL, Gleicher N. The red-cell immune system. *Lancet*, 1981, 2 (8246) : 556-559.
- [24] Offner PJ, Moore EE, Biffl WL, et al. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Archives of Surgery*, 2002, 137 (6) : 711-716, discussion 6-7.
- [25] Hod EA. Red blood cell transfusion-induced inflammation: myth or reality. *ISBT science series*, 2015, 10 (Suppl 1) : 188-191.
- [26] Muszynski JA, Frazier E, Nofziger R, et al. Red blood cell transfusion and immune function in critically ill children: a prospective observational study. *Transfusion*, 2015, 55 (4) : 766-774.
- [27] Lebiedz P, Glasmeyer S, Hilker E, et al. Influence of red blood cell storage time on clinical course and cytokine profile in septic shock patients. *Transfusion Med and Hemoth*, 2012, 39 (4) : 271-276.
- [28] Belizaire RM, Prakash PS, Richter JR, et al. Microparticles from stored red blood cells activate neutrophils and cause lung injury after hemorrhage and resuscitation. *J American College of Surgeons*, 2012, 214 (4) : 648-655.
- [29] 王全立. 红细胞贮存损伤研究进展. *中国输血杂志*, 2012, 25 (6) : 515-519.
- [30] Roback JD, Neuman RB, Quyyumi A, et al. Insufficient nitric oxide bioavailability: a hypothesis to explain adverse effects of red blood cell transfusion. *Transfusion*, 2011, 51 (4) : 859-866.
- [31] Vermeulen Windsant IC, de Wit NC, Sertorio JT, et al. Blood transfusions increase circulating plasma free hemoglobin levels and plasma nitric oxide consumption: a prospective observational pilot study. *Critical care (London, England)*, 2012, 16 (3) : R95.
- [32] Donadee C, Raat NJ, Kanas T, et al. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation*, 2011, 124 (4) : 465-476.
- [33] Lee JS, Gladwin MT. Bad blood: the risks of red cell storage. *Nature Med*, 2010, 16 (4) : 381-382.
- [34] Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nature*

- Med, 2002, 8(12):1383-1389.
- [35] Ghosh S, Adisa OA, Chappa P, et al. Extracellular hemin crisis triggers acute chest syndrome in sickle mice. *J Clinical Investigation*, 2013, 123(11):4809-4820.
- [36] Larsen R, Gozzelino R, Jeney V, et al. A central role for free heme in the pathogenesis of severe sepsis. *Science Translational Med*, 2010, 2(51):51-71.
- [37] Baumgartner JM, Silliman CC, Moore EE, et al. Stored red blood cell transfusion induces regulatory T cells. *J American College of Surgeons*, 2009, 208(1):110-119.
- [38] Muszynski JA, Bale J, Nateri J, et al. Supernatants from stored red blood cell (RBC) units, but not RBC-derived microvesicles, suppress monocyte function in vitro. *Transfusion*, 2015, 55(8):1937-1945.
- [39] Long K, Woodward J, Procter L, et al. In vitro transfusion of red blood cells results in decreased cytokine production by human T cells. *J Trauma and Acute Care Surgery*, 2014, 77(2):198-201.
- [40] 彭益, 曹晓娟, 雷雨激, 等. 血液储存时间对红细胞免疫功能的影响与临床安全输血的研究. 中国输血杂志, 2010, 23(4):269-271.
- [41] Song KJ, Sifri ZC, Mohr AM, et al, Livingston DH. Transfusion begets anemia: the effect of aged blood on hematopoiesis. *J Trauma and Acute Care Surgery*, 2013, 75(6):984-989.
- [42] Hod EA, Zhang N, Sokol SA, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood*, 2010, 115(21):4284-4292.
- [43] Spitalnik SL. Stored red blood cell transfusions: iron, inflammation, immunity, and infection. *Transfusion*, 2014, 54(10):2365-23671.
- [44] Roberson RS, Lockhart E, Shapiro NI, et al. Impact of transfusion of autologous 7- versus 42-day-old AS-3 red blood cells on tissue oxygenation and the microcirculation in healthy volunteers. *Transfusion*, 2012, 52(11):2459-2464.

(2016-10-10 收稿, 2017-01-10 修回)

本文编辑:夏玲

· 综述 ·

术中回收式自体输血在产科患者中的应用

容晓莹 郭向阳 曾鸿[△] 王军¹ 王阳¹(北京大学第三医院 麻醉科, 北京 100191)

摘要:术中回收式自体输血(IOCS)不仅避免输血相关风险,减少血液浪费,且方便、快速,节省开支,其在围手术期的应用越来越受到重视。由于担心羊水栓塞及同种免疫反应发生, IOCS 在产科的应用存在较大争议。已有研究证实加用白细胞滤器可有效滤过回收血液中的羊水成分,增加安全性,且抗-D 免疫球蛋白也可阻止同种免疫反应的发生。目前欧美国家已将 IOCS 作为成功挽救妊娠妇女生命的应急措施,并未出现严重不良反应报道。本文将 IOCS 在产科患者的应用做一综述。

关键词: 血液回收; 自体输血; 产科

中图分类号:R457.1¹² R714.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0094-05

Application of intraoperative cell salvage in obstetric patients RONG Xiaoying, GE Xiangyang, ZENG Hong, WANG Jun, WANG Yang. Department of Anesthesiology, Beijing Third Hospital, Beijing 100191, China.

Abstract: Intraoperative cell salvage (IOCS) is becoming more and more important as a strategy to decrease the need for allogeneic blood transfusion and to avoid the risk of blood transfusion. Traditionally, IOCS has been avoided in obstetric population because of the perceived risk of amniotic fluid embolism or induction of alloimmunization. Studies confirmed that the addition of leukocyte filter can effectively remove the amniotic fluid components in post-washed blood, and anti-D immunoglobulin can also prevent the occurrence of alloimmunization. The risks of IOCS in the obstetric population parallel those in the general population. At present, European and American countries use IOCS as an emergency measure to rescue pregnant women's lives. No definite cases of adverse reaction have been reported. We will review the application of IOCS in obstetric patients.

Key words: blood salvage; autologous transfusion; obstetric

血源对于任何 1 个国家来说都是稀缺的资源。据统计,中国目前每年血液消耗量约 1 600 吨,每年仍将保持 10% -

15% 的增长趋势^[1]。随着人口不断增长,国家虽然积极鼓励无偿献血,但是伴随临床用血量的增加,血源日趋紧张,尤其是稀有血型供血困难。对于术中大出血患者,大量库存血液的需求造成血液制品进一步稀缺。由于担忧输血可能带来的风险及血源的日益紧张,回收式自体输血(blood salvage,

BS) 在出血量大的手术领域中的应用已越来越受到重视^[2], 它不仅避免了异体输血反应及输血传染相关疾病, 更加减少了血液浪费。对于特殊血型以及大出血患者能快速回收, 使用方便, 节省开支, 不仅解决了患者的经济负担, 更节约血液资源, 是一种经济、安全、有效的输血方法。

1 回收式自体输血

BS 是将患者术中、术后出血或体腔积血回收处理后再回输给本人^[3]。最早于 1818 年开始于英国, Blundell 等^[4]收集了 10 名产后大出血患者的血液, 分别回输给患者本人, 获得了很好的治疗效果, 存活率达到了 50%。1970 年美国生产了第 1 台自体血输血仪 ATS100, 标志着现代血液回收新纪元的开始。20 世纪 60 年代后期到 70 年代, 自体血回输相关理论和设备的研究得到了快速的发展, 特别是 80 年代公众意识到输血可以传播相关疾病, 并伴随外科手术的迅速发展、异体血源紧张等问题后, 自体血回输技术得到快速发展和更广泛的应用, 尤其是术中回收式自体输血 (intraoperative cell salvage, IOCS) 目前已极为普遍地应用于心脏、血管、矫形、创伤等手术领域。我国《献血法》要求三甲医院自体输血率要达到年用血量的 20%, 美国要求择期手术患者自身输血占总输血量的 80%~90%^[5]。近年来, BS 得到了极大的推广和应用, 已成为围术期血液保护的重要措施。

2 产科出血

产科出血是全世界孕产妇死亡的最主要原因, 近一半的产科出血死亡发生在发展中国家^[6~7]。孕产妇死亡率是衡量 1 个国家或地区的经济文化、医疗保健水平的重要标志, 国际社会极为重视这一领域的进展情况。母亲安全会议 (1987 年)、儿童问题世界首脑会议 (1990 年)、人口与发展国际会议 (1994 年) 以及第四届世界妇女大会 (1995 年), 都相继提出了在全世界范围内降低孕产妇死亡率的目标及措施, 认为孕产妇死亡率所反映的已不单单是衡量生殖健康的指标, 而是衡量妇女地位、人类发展的 1 个极为重要和敏感的指标^[8]。据调查, 1999~2008 年 10 年间, 我国孕产妇因产科出血所致死亡从 1999 年的 54% 下降到 2008 年的 36%, 但始终占据首位, 使得产科在许多情况下, 不可避免需要输注同种异体血或血液制品^[9], 而妇产科也位居临床用血量第 3 位, 约占全部输血量的 5%~6%^[10]。

产科出血常见原因包括前置胎盘、胎盘植入、双胎妊娠、宫缩乏力等。剖宫产时, 由于前置胎盘患者胎盘附着部的下部收缩不良, 大量出血的机率很大, 很多报告认为, 产科领域中的前置胎盘是自体血输血最好的适应证^[11]。胎盘植入指胎盘绒毛经受损或发育不良的子宫内膜侵入子宫肌层, 是产科较少见的严重并发症, 往往在第三产程胎盘剥离困难时才被发现, 或于剖宫产术中被诊断^[12], 若处理不当, 极易发生大出血, 严重危及患者生命^[13]。包括双胎妊娠、宫缩乏力等产科大出血患者在内, 由于多为术中突发的大量出血, 因此 IOCS 的使用亟待探讨。IOCS 能及时补充血液维持血容量和血压, 尤其是在急诊和大出血手术中能赢得宝贵抢救时间^[14]。由于担心回收血液中混有羊水及胎儿红细胞而致羊

水栓塞 (amniotic fluid embolism, AFE) 及 Rh 阴性妊娠妇女发生免疫反应, 因此最初产科是 IOCS 临床应用理论上的 1 个禁忌证, 有研究报道产科手术回收的血液经过白细胞滤器过滤可安全地回输给患者^[15]。

3 羊水栓塞

羊水主要成分包括水 (占 98%~99%), 有机物中含有葡萄糖、脂肪、蛋白质及蛋白质衍生物、胆红素、代谢产物、胎儿甲胎蛋白、激素 (来自胎盘及胎儿)、酶 (包括谷草转氨酶、谷丙转氨酶、碱性磷酸酶等); 无机成分包括电解质、气体以及少量胎儿身体表面脱落的细胞。传统观点认为: AFE 是羊水及羊水中有形成份 (鳞状上皮、无定形碎片、胎脂) 进入母血中引起肺血管痉挛所致, 目前普遍认为是母体对进入体内的胎儿物质发生的 1 种过敏反应^[16]。考虑到 AFE 症状主要包括急性肺栓塞、过敏性休克、弥散性血管内凝血及肾功能衰竭等, Clark 等^[17] 1995 年首次建议将 AFE 改名为“妊娠过敏综合征”。传统病理上认为在母体肺循环中发现胎儿鳞状上皮细胞是羊水栓塞诊断标志之一, 但目前已被证实, 胎儿细胞及羊水成分在母体循环中普遍存在^[18~22]。对于 AFE 的危险因素已经越来越明确, 包括高龄产妇、多次分娩、剖宫产等^[23~24], 但是羊水究竟是直接参与其中还是只是 1 种诱发因素, 病理生理学仍存在争议^[25]。目前认为包括血钾、甲胎蛋白、组织因子、板层小体以及鳞状细胞等多种成分, 都认为可作为回收血中羊水成分标记, 但没有 1 种成分可以 100% 代表羊水存在^[26]。

IOCS 对羊水成分清除包括 2 个阶段, 首先经过血液回收机将回收血进行洗涤。1989 年自体血回收机还不能从回收血中去除掉胎儿细胞碎片^[27]。1991 年 Shiley Dideco 795 型机器 (Shiley/Dideco, Irvine, CA) 在体外试验中将羊水中甲胎蛋白几乎全部洗净, 但仍有部分鳞状细胞残留^[28]。与之相反, 1996 年, 采用 2 套吸引装置避免吸引羊水后, 应用美国血液 Haemolite 2Plus 机型无法完全洗去甲胎蛋白和组织因子^[29]。直到 1997 年, 第 4 代自体血回收机才能完全除去组织因子^[30]。1999 年, Cobe Brat 第 2 代机型 (Cobe Cardiovascular, Arvada, CO) 在洗涤后血中也检测不到甲胎蛋白, 但回收血中仍存在鳞状细胞^[31]。

直到 1999 年, 白细胞滤器的加用使产科 ICOS 使用进入新的阶段。Catling 等^[32]首次将 Cell Saver 5 机型自体血回收机与 Pall RC 100 白细胞滤器 (Pall RC 100, Pall Biomedical, Portsmouth, UK) 联合使用, 其中白细胞及滋养细胞完全被滤过掉, 而甲胎蛋白经洗涤后虽然明显减少, 但与滤过后没有明显差别, 同样鳞状细胞在近半数滤过后样本中仍然存在。2000 年, Waters 等^[33] 使用同样的自体血回收机和新型 Pall RS 白细胞滤器 (LeukoGuard RS, Pall Biomedical Products Co., East Hills, NY) 则得出不同的结果, 其中鳞状细胞及板层小体滤过后均显著减少, 与母体静脉血标本浓度几乎一致。考虑 2 次结果中鳞状细胞的差异与使用不同类型白细胞滤器中纤维直径和电荷设计不同有关^[27]。对于不同报道中出现结果的不同考虑, 主要由于血液回收机设备差异, 包括离心杯大小, 盐水洗涤量, 技术参数设置等^[34]。许多报道

中并未详细标明这些差异。2010 年,经 McDonne 等^[35]证实几乎所有使用 Cell Saver 5 机型联合 Pall RS1 白细胞滤器采用 1 套吸引装置的病例,其甲胎蛋白及血钾均显著减少。

1999 年,Catling 等^[32]将 27 名产妇分为 2 组,其中 13 人使用 1 套吸引装置,术中失血连同羊水全部回收;另 1 组 14 人使用 2 套吸引装置,待羊水吸净后,改用自体血装置回收术中失血。试验未采用白细胞滤器,其中使用 2 套吸引装置组洗涤后羊水成分显著减少,使用 1 套吸引装置组洗涤后仍可见鳞状细胞。2008 年 Sullivan 等^[36]将 34 名产妇随机分为 2 组,同样分别带羊水和不带羊水吸引,联合白细胞滤器使用后,2 组间比较洗涤及滤过后血液中甲胎蛋白、血红蛋白以及鳞状细胞均无统计学差异。2 次试验差异考虑与白细胞滤器使用相关。虽未经临床证实,但使用双套吸引装置可能对妊娠妇女有益,即一吸引管连接血液回收机吸引母体失血,另一吸引管专门吸引羊水,这样回收血液中羊水污染的机会进一步减少^[37]。

4 胎儿红细胞免疫

由于自体血回收机无法识别胎儿或母体红细胞,因此回输给妊娠妇女的血液中或多或少混有胎儿红细胞^[33]。早期 Durand 等^[27]研究中 15 名患者中 7 名回收血中胎儿血红蛋白达到 1%,Rainaldi 等^[38]研究中 15 名患者中 3 名回收血中胎儿血红蛋白达到 1.8%,甚至 2%。许多研究中证实,胎儿红细胞在最终滤过血液中存在^[25,32,33],从而增加了母婴血型不合情况下母体同种免疫反应的危险性^[39]。因新生儿 ABO 抗原未发育完善,在母婴血型不合的情况下 ABO 血型不合临床意义较小,因此值得注意的是 Rh 血型不合。对于 Rh 阴性的妊娠妇女出现母婴血型不合时,抗-D 免疫球蛋白能中和这种免疫反应,使用剂量主要根据可能进入母体中的胎儿红细胞量而定。

1999 年,Catling 等^[39]将洗涤后自体血回输给产妇后,测定进入母体中的胎儿红细胞最大量为 19 mL(介于 2~19 mL),可能需要 500~2500 IU 抗-D 免疫球蛋白。2011 年,Ralph 等联合白细胞滤器使用术 IOCS,测定 70 名产妇输注自体血后进入母体内胎儿红细胞,其中位数为 0.8 mL(介于 0.2~12.9 mL)^[40]。随着孕期增长,母体循环中胎儿红细胞含量也会随之有所升高,孕晚期近 1% 产妇循环中胎儿红细胞超过 2.5 mL,0.3% 甚至超过 12.5 mL。Ralph 等^[40]研究中,分娩前母体循环中胎儿红细胞中位数约为 0.48 mL(介于 0~4.6 mL),分娩后可高达 9 mL。这表明,自体血回输中胎儿红细胞 0.2~12.9 mL 与分娩后母体循环中胎儿红细胞量基本一致^[32~33]。在抗-D 免疫球蛋白使用指南中提到,当胎儿红细胞在 4 mL 以下时,予 500U 抗-D 免疫球蛋白即可阻止免疫反应发生,但是需要在分娩后 72 h 内给予^[41]。因此,迅速测定母体循环中胎儿红细胞量尤为重要,如有必要可以再次补充给予,以防止同种免疫发生^[42]。考虑到同种免疫的风险,对于输注抗-D 免疫球蛋白的患者,应当在 3~6 个月时随访以评估抗体反应^[43],同时建立中心数据库采集信息并加以汇总^[40]。

5 国内外应用

截止 2008 年,国外文献报道应用 IOCS 的产妇已近 400 例^[25]。英国 Wales 地区 2006 年 4~6 月有回收式自体输血共 309 例,其中 28 例(9%)用于产科,与同期血管外科手术中使用的数目相当^[46]。2007 年,Jill 等^[31]对近 12 000 名输血患者进行回顾性队列研究,发现 207 例输血患者中有 115 例(55.6%)通过回收式自体输血减少异体红细胞的输注。2010 年,Ashworth 等^[45]研究发现通过自体血回输使 48.6% 患者减少异体血输注,甚至 14.5%~25.1% 不需要再输注异体血。大量事实证明,IOCS 在大幅度减少异体血输注的同时,也能降低相关的医疗费用。2006~2011 年在利物浦妇女医院为期 5 年的研究中,Brearton 等^[46]发现使用 IOCS 相较于异体血输注成本反而有所减少。

最近 10 年,作为大出血的急救措施之一,IOCS 在产科的应用已越来越受到注目^[47]。目前在英国已认为 IOCS 是可应用于处理产科大出血的措施之一,英国国家临床进展研究所(National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE)、英国母婴健康机密调查机构(Confidential Enquiry Into Maternal and Child Health, CEMACH)等均建议使用^[48~49]。意大利免疫与输血药物委员会(Ionian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology, SIMTI)在最近关于“围术期血液保护”的讨论中建议 IOCS 在产科急症出血或有大出血风险的病人中应当被使用,可以在回收血后加用白细胞滤器^[50]。美国麻醉医师协会对于产科麻醉建议,在遇到难治性大出血而异体血无法得到或是病人拒绝输注时,IOCS 应当被考虑^[51]。美国妇产科学会(American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG)已提倡在胎盘植入导致的大出血中使用 IOCS^[52~53]。尽管这些建议并没有大规模随机对照试验作为基础,但是由于产科大出血常常毫无预警,在非预期产科大出血中,当所需输血量超过库存血量时,IOCS 已作为成功挽救妊娠妇女生命的应急措施^[54~55]。此外,自体血回收机安装容易,有经验操作者可在 5 min 内安装并使用,同时其操作完全自动化,使用简单,也及其适用于产科急症大出血。

2013 年,吴彩云等^[56]对 5 例中央型前置胎盘先兆子宫破裂的稀有血型患者在血源紧张、病情紧急的情况下进行术中血液回收,比较术前与术后 3d 血常规及生化指标的结果,并观察血液回输后的反应。5 例患者均未输入异体血。5 例患者共计回收 2 855 mL 自体血,回输自体血术前与术后 3 d 比较,白细胞、浓缩红细胞、血红蛋白、血小板及血钾等差异均无统计学意义($P < 0.05$)。自体血回输后均未出现溶血、细菌感染、AFE 及其他不良反应。

对于 IOCS 相关并发症,Morikawa 等^[57]在日本进行了多中心研究,针对 50 名使用 IOCS 产妇跟踪随访 6 年,并未出现任何严重不良反应。Sukhjit 等^[58]系统的回顾了 IOCS 使用以来相关并发症及预后的报道,仅有 1 名患者在大量使用自体血回输后出现肝素毒性反应,其余并无严重不良反应。Elagamy 等^[59]前瞻性地将 IOCS 用于剖宫产中子宫切除患者,证实 IOCS 不仅减少了异体血输注,缩短了住院时间,并

且术后未出现溶血、细菌感染、AFE 等不良反应。理论上, IOCS 最严重的并发症即 AFE, Liumbruno 等^[60]报道, 截止目前 400 多例 IOCS 用于产科的患者均未出现 AFE。但是考虑 AFE 发生率极低, 接近 1/40000^[61], 因此可能仍需更多时间才能证实 IOCS 是否会增加 AFE 危险性。

综上所述, IOCS 在临幊上已得到广泛的应用, 是血液保护的重要组成部分, 很大程度上减少了异体血的输注, 但与其他手术领域不同, 剖宫产时应用回收式自体输血时应注意推荐将血液回收机与白细胞过滤器联合使用以增加安全性。目前循证学依据多为个案或少数案例报道, 尽管目前数据均支持 IOCS 在产科中应用, 但是仍然需要多中心临床试验作为强大的临床证据^[25,62]。希望在将来的随机对照试验中可以看到可靠的测量差异, 评估成本效益及其副作用^[63], 在安全使用 IOCS 的同时, 既能缓解血源紧张这一难题, 又不致于引发严重不良反应。

参 考 文 献

- [1] 邓硕曾, 宋海波, 刘进. 循证输血与输血指南. 中国输血杂志, 2006, 19(4): 263-264.
- [2] Lee SJ, Liljas B, Churchill WH, et al. Perceptions and preferences of autologous blood donors. Transfusion, 1998, 38(8): 757-763.
- [3] 高折益彦, 陈渝, 张峙(译). 自身输血. 北京: 人民军医出版社, 1997: 16-18.
- [4] Lawson R, Tawes RL, Blaylock RC, et al. Autotransfusion: therapeutic principles and trends. Detroit: Gregory: Appleton Communications, Incorporated, 1997: 3-6.
- [5] 车辑. 自体输血的临床应用. 中国临床医生杂志, 2014, 42(11): 13-14.
- [6] Loudon I. Maternal mortality in the past and its relevance to developing countries today. American J Clin Nutrit, 2000, 72(1): 241-246.
- [7] Li XF, Fortney JA, Kotelchuck M, et al. The postpartum period: the key to maternal mortality. Intern J Gynecol & Obstet, 1996, 54(1): 1-10.
- [8] 丁辉, 张玲美. 全国孕产妇死亡监测结果分析. 中华妇产科杂志, 1999, 34(11): 645-648.
- [9] 罗树生, 安琳. 1999-2008 年中国住院分娩与孕产妇死因变化趋势分析. 中国妇幼卫生杂志, 2010, 1(2): 64-64.
- [10] Wallis JP, Wells AW, Chapman CE. Changing indications for red cell transfusion from 2000 to 2004 in the North of England. TransfusionMed, 2006, 16(6): 411-417.
- [11] 张小群. 产科领域自体血输血的适应证与有用性的研究. 日本医学介绍, 2002, 23(11): 516-518.
- [12] Steins Bisschop CN, Schaap TP, Vogelvang TE, et al. Invasive placental and uterus preserving treatment modalities: a systematic review. Archives of Gynecol Obstet, 2011, 284(2): 491-502.
- [13] 杨延冬, 杨慧霞. 前置胎盘并胎盘植入诊断和处理策略. 中国实用妇科与产科杂志, 2011, 27(6): 416-420.
- [14] 杨云丽, 麻伟青, 李棋, 等. 自体血回收技术在急性创伤性腹腔内脏出血中的应用. 西南国防医药, 2010, 20(8): 863-865.
- [15] Esper SA, Waters JH. Intra-operative cell salvage: a fresh look at the indications and contraindications. Blood Transfusion, 2011, 9(2): 139-147.
- [16] Gist RS, Stafford IP, Leibowitz AB, et al. Amniotic fluid embolism. Anesth & Analg, 2009, 108(5): 1599-1602.
- [17] Clark SL, Hankins GD, Dudley DA, et al. Amniotic fluid embolism: analysis of the national registry. American J Obstet and Gynecol, 1995, 172(4): 1158-1169.
- [18] Clark SL. Amniotic fluid embolism. Clin Obstet and Gynecol 2010, 53(2): 322-328.
- [19] Benson MD. A hypothesis regarding complement activation and amniotic fluid embolism. Med Hypoth, 2007, 68(5): 1019-1025.
- [20] Clark SL, Paylova Z, Greenspoon J, et al. Squamous cells in the maternal pulmonary circulation. American J Obstet and Gynecol, 1986, 154(1): 104-106.
- [21] Kuhlman K, Hidvegi D, Tamura RK, et al. Is amniotic fluid material in the central circulation of peripartum patients pathologic? American J Perinatol, 1985, 2(4): 295-299.
- [22] Lee W, Ginsburg KA, Cotton DB, et al. Squamous and trophoblastic cells in the maternal pulmonary circulation identified by invasive hemodynamic monitoring during the peripartum period. American J Obstet and Gynecol, 1986, 155(5): 999-1001.
- [23] Knight M, Tuffnell D, Brocklehurst P, et al. Incidence and risk factors for amniotic-fluid embolism. Obstet & Gynecol, 2010, 115(5): 910-917.
- [24] Tuffnell D, Knight M, Plaat F. Amniotic fluid embolism—an update. Anaesth, 2011, 66(1): 3-6.
- [25] Allam J, Cox M, Yentis SM. Cell salvage in obstetrics. International J Obstetric Anesth, 2008, 17(1): 37-45.
- [26] Catling S. Intraoperative cell salvage in obstetrics. Clin Risk, 2008, 14(1): 14-17.
- [27] Durand F, Duchesne-Gueguen M, Le Bervet JY, et al. Rheologic and cytologic study of autologous blood collected with Cell Saver 4 during cesarean. Rev Fr Transfus Hemobiol, 1989, 32(3): 179-191.
- [28] Thornhill ML, Leary AJ, Lussos SA, et al. An in-vitro assessment of amniotic fluid removal from human blood through cell saver processing. Anesthesiol, 1991, 75(Suppl 3): A830.
- [29] Fuhrer Y, Bayoume F, Boileau S, et al. Evaluation of the blood quality collected by cell-saver during cesarean section. Ann Fr Anesth Reanim, 1995, 15(8): 1162-1167.
- [30] Bernstein HH, Rosenblatt MA, Gettes M, et al. The ability of the Haemonetics 4 Cell Saver System to remove tissue factor from blood contaminated with amniotic fluid. Anesth Analg, 1997, 85(4): 831-833.
- [31] Fong J, Gurewitsch ED, Kump L, et al. Clearance of fetal products and subsequent immunoreactivity of blood salvaged at cesarean delivery. Obstet & Gynecol, 1999, 93(6): 968-972.
- [32] Catling S J, Williams S, Fielding AM. Cell salvage in obstetrics: an evaluation of the ability of cell salvage combined with leucocyte depletion filtration to remove amniotic fluid from operative blood loss at caesarean section. Int J Obstet Anesth, 1999, 8(2): 79-84.
- [33] Waters JH, Biscotti C, Potter PS, et al. Amniotic fluid removal during cell salvage in the cesarean section patient. Anesthesiol, 2000, 92(6): 1531-1536.

- [34] Weiskopf RB. Erythrocyte salvage during cesarean section. *Anesthesiol*, 2000, 92(6): 1519-1522.
- [35] McDonnell NJ, Kennedy D, Long LJ, et al. The development and implementation of an obstetric cell salvage service. *Anaesth Intensive Care*, 2010, 38(3): 492-499.
- [36] Sullivan I, Faulds J, Ralph C. Contamination of salvaged maternal blood by amniotic fluid and fetal red cells during elective Caesarean section. *Br J Anaesth*, 2008, 101(2): 225-229.
- [37] 王立中, 鲍红光. 产科手术中血液保护技术的应用前景. *国际妇产科学杂志*, 2008, 35(5): 367-370.
- [38] Rainaldi MP, Tazzari PL, Scagliarini G, et al. Blood salvage during caesarean section. *Br J Anaesth*, 1998, 80(2): 195-198.
- [39] Liumbruno GM, Liumbruno C, Rafanelli D. Intraoperative cell salvage in obstetrics: is it a real therapeutic option? *Transfusion*, 2011, 51(10): 2244-2256.
- [40] Ralph CJ, Sullivan I, Faulds J. Intraoperative cell salvaged blood as part of a blood conservation strategy in Caesarean section: is fetal red cell contamination important? *Br J Anaesth*, 2011, 107(3): 404-408.
- [41] Parker J, Wray J, Gooch A, et al. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the use of prophylactic anti-D immunoglobulin. London: British Society for Haematology, 2006. [cited 2010 Oct 24].
- [42] Austin E, Bates S, de Silva M, et al. Working Party of the British Committee for Standards in Haematology, Transfusion Taskforce. Guidelines for the estimation of fetomaternal haemorrhage. London: British Society for Haematology, 2009. [cited 2010 Oct 24].
- [43] Dharwal SK, Khan KS, Allard S, et al. Does current evidence support the use of intraoperative cell salvage in reducing the need for blood transfusion in caesarean section? *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2014, 26(6): 425-430.
- [44] Catling S. Blood conservation techniques in obstetrics: a UK perspective. *Int J Obstet Anesth*, 2007, 16(3): 241-249.
- [45] Ashworth A, Klein AA. Cell salvage as part of a blood conservation strategy in anaesthesia. *Br J Anaesth*, 2010, 105(4): 401-416.
- [46] Brearton C, Bhalla A, Malliah S, et al. The economic benefits of cell salvage in obstetric haemorrhage. *Int J Obstet Anesth*, 2012, 21(4): 329-333.
- [47] Wise A, Clark V. Strategies to manage major obstetric haemorrhage. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2008, 21(3): 281-287.
- [48] National Institute for Health and Clinical Excellence. UK National Institute for Health and Clinical Excellence NHS. Intraoperative blood cell salvage in obstetrics. London: National Institute for Health and Clinical Excellence, 2005.
- [49] The Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland & The Obstetric Anaesthetists' Association. OAA/AAGBI Guidelines for Obstetric Anaesthetic Services Revised Edition. London: The Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland & The Obstetric Anaesthetists' Association, 2005.
- [50] Italian Republic. Law. 219 of October 21st, 2005. New discipline of transfusion medicine activities and national production of blood derivatives. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*. 251, October 27th, 2005.
- [51] American Society of Anesthesiologists. Practice guidelines for obstetric anesthesia. 2006. Committee on Obstetric Practice. ACOG committee opinion. Placenta accreta. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*, 2002, 77(1): 77-78.
- [52] American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin: Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists : postpartum hemorrhage. *Obstet Gynecol*, 2006, 108(4): 1039-1047.
- [53] Catling SJ, Freites O, Krishnan S, et al. Clinical experience with cell salvage in obstetrics: 4 cases from one UK centre. *Int J Obstet Anesth*, 2002, 11(2): 128-134.
- [54] Milne ME, Yazer MH, Waters JH. Red blood cell salvage during obstetric hemorrhage. *Obstet & Gynecol*, 2015, 125(4): 919-923.
- [55] 吴彩云, 侯立力, 宋珂. 中大型前置胎盘先兆子宫破裂的稀有血型患者术中血液回收. *广东医学*, 2013, 34(20): 3141-3142.
- [56] Morikawa M, Kuramoto A, Nakayama M, et al. Intraoperative red cell salvage during obstetric surgery in 50 Japanese women. *International J Gynaecol & Obstet*, 2014, 128(3): 256-259.
- [57] Dharwal SK, Khan KS, Allard S, et al. Does current evidence support the use of intraoperative cell salvage in reducing the need for blood transfusion in caesarean section? *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2014, 26(6): 425-430.
- [58] Elagamy A, Abdelaziz A, Ellaithy M. The use of cell salvage in women undergoing cesarean hysterectomy for abnormal placentation. *International J Obstet Anesth*, 2013, 22(4): 289-293.
- [59] Liumbruno GM, Meschini A, Liumbruno C, et al. The introduction of intra-operative cell salvage in obstetric clinical practice: a review of the available evidence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011, 159(1): 19-25.
- [60] Clark SL. Amnioticfluid embolism. *Obstet Gynecol*, 2014, 123(2, Part 1): 337-348.
- [61] Geoghegan J, Daniels JP, Moore P, et al. Cell salvage at caesarean section: the need for an evidence-based approach. *BJOG*, 2009, 116(6): 743-747.
- [62] Goucher H, Wong CA, Patel SK, et al. Cell salvage in obstetrics. *Anesth & Anal*, 2015, 121(2): 465-468.

(2016-05-30 收稿, 2017-01-23 修回)

本文编辑:夏玲

· 综述 ·

新鲜冰冻血浆的应用进展

王亚杰 杜春红[△](天津医科大学总医院 输血科,天津 300052)

摘要:新鲜冰冻血浆(fresh-frozen plasma, FFP)是目前临床应用最多的一种血浆制品。作为临床输血重要的一个组成部分,新鲜冰冻血浆的研究一直在向前推进。本文结合最新研究成果,综述了新鲜冰冻血浆的特性、解冻和保存的方法以及在临床的应用范围,指出了临床中不恰当的应用和输注的副作用,有助于临床医生正确使用 FFP。

关键词:新鲜冰冻血浆;血液制品;保存;副作用

中图分类号:R457.1¹⁴ **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)1-0099-06

Progress of fresh frozen plasma application WANG Yajie, DU Chunhong. Department of Blood Transfusion, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China. Corresponding author: DU Chunhong.

Abstract: Fresh frozen plasma (fresh-frozen plasma, FFP) is currently the most widely used plasma products. As an important part of clinical transfusion, studies on FFP have always been continuous. In this paper, according to the latest research results, the properties and methods of thawing and storage of FFP as well as its clinical applications were reviewed, and its inappropriate clinical applications and side effects were analyzed. The review and analysis can help clinicians to use FFP correctly.

Key words:FFP; blood products; storage; side effect

新鲜冰冻血浆(fresh-frozen plasma, FFP)产生于 1941 年^[1],最初用于血浆置换,近几年在各医院的使用量显著增加^[2]。临床输血浆的指征具有高度争论^[3],据统计有一半应用于危重病患者的 FFP 是不恰当的^[4],所以充分了解 FFP 的特性,明确 FFP 在临床中的作用及使用方法,熟悉其输注的副作用,有助于临床医生正确使用 FFP,避免 FFP 的浪费和不良结果的产生。

1 FFP 的基本特性

新鲜冰冻血浆有别于普通冰冻血浆、新鲜液体血浆和普通液体血浆等血浆制品,是采集后储存于冷藏环境中的全血,最好在 6 h(保养液为 ACD)或 8 h(保养液为 CPD 或 CPDA-1)内,但不超过 18 h 将血浆分离出并速冻呈固态的成分血,然后在-18℃以下的冰箱贮存,保存期为 1 年。FFP 除了含有正常人的血浆蛋白成分,还含有全部凝血因子,包括不稳定的第 V 因子和第 VIII 因子。

2 FFP 的解冻和保存

2.1 FFP 解冻方法 FFP 应该在 37℃融化(如果在 4℃融化将会形成冷沉淀),有几种方法可以实现,不会使血浆蛋白变性的干燥加热系统是首选。最常用的是循环水浴箱。

2.1.1 干燥箱(温度可控的孵化器) 这种方法使 FFP 染菌的可能性很小,但是容量有限,一般解冻 2 U FFP 需要 10 min。

2.1.2 微波炉 虽然这种方法可以使血浆在 2~3 min 内解冻,但缺点是价格贵、容量有限。Medora 等^[5]研究发现使用

微波加热解冻会使 II 因子, IX 因子, X 因子, XI 因子、纤维蛋白原、血管性血友病因子(von willebrand factor, vWF)、抗凝血酶、蛋白 C(protein C, PC)和白蛋白浓度显著降低,凝血酶原时间(prothrombintime, PT)和活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)显著延长。可见这种方法解冻 FFP 可能会使凝血因子损失较多。

2.1.3 水浴箱 目前临床已广泛使用全自动血浆融化机,一般采用循环水浴箱法,一次可融化 10U 以上的 FFP,且时间较短,融化效果明显提高。水浴箱解冻过程可能会产生细菌污染,为防止细菌污染,FFP 一旦融化就应该检查是否有破损、漏浆。需要注意的是解冻 FFP 的水浴箱不能它用,定期清理(至少 1 d 1 次),并且注入的水应该是干净的实验用水,水浴箱的使用和维护应该有 1 个标准操作规程,所有维护都应该有记录。

2.2 FFP 解冻后保存 如果血浆解冻后暂不输注应该置于 4℃保存。目前英国的指导方针是 4 h 内输注完毕^[6],美国血库协会的要求是最长≤24 h^[7]。研究发现,解冻后保存时间过长会导致 FFP 中各因子在活性和含量上显著降低。从各因子活性上看,Neisser 等^[8]研究发现 FFP 解冻后在 1~6℃保存 5d 后,除了血管性血友病因子裂解蛋白酶(a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13, ADAMTS13)外,V 因子、VII 因子、VIII 因子和蛋白 S(protein S, PS)的活性都显著减低,分别降低了 41%、20%、42% 和 7%。研究也发现 FFP 解冻后保存 72h,虽然实际上 VIII 因子活性和纤维蛋白原含量较冷上清高,但是仍会使 VIII 因子活性减少 40% 以上。FFP 中 II 因子和 V 因子活性在解冻后可以保持 72h。这些研究者建议当不需要 VIII 因子置换时,FFP 解冻后 72h 后仍然可以像血浆冷上清物一样使用。从各因子含量上看,也是 VIII 因子的损失最多。

Wang 等^[9]将 FFP 解冻后置于(1~6)℃保存 5 d 后检测发现纤维蛋白原、PC、PS、抗凝血酶 III(Human Antithrombin III, AT III)和 ADAMTS13 含量没有显著变化, II 因子、V 因子、II 因子、VIII 因子、IX 因子、X 因子、XI 因子和 XII 因子显著减少, 其中最严重的是 VIII 因子减少 40%, 但是所有检测的蛋白质仍至少有 60%, 说明 FFP 解冻后 5 d 内还可以当作解冻的普通冰冻血浆使用。因此, 在 FFP 解冻后保存超过 24 h 后可能不可以继续当作 FFP 使用, 但是仍可用作血浆冷上清物或普通冰冻血浆等, 相关研究应该继续。

3 FFP 在临床的应用

FFP 在临幊上经常用于凝血功能异常的患者, 也可以用于出血患者的治疗和手术患者出血的预防。在 1992 年英国血液学标准委员会(British Committee for Standards in Haematology, BCSH)发布了 FFP 的正确使用指南, 2004 年英国 BCSH 修订了 1992 年版并颁布实施^[1]。对于输注 FFP 的建议近年来没有较大改变, 大致包括以下几个方面。

3.1 凝血因子缺乏 有活动性出血, 或者手术和侵入性操作前, 患者国际标准化比率(International Normalized Ratio, INR)增高、PT 或 APTT 延长提示有一种或多种凝血因子获得性缺乏, 并且没有替代疗法和合适的方法时使用 FFP。对于遗传性单个凝血因子缺乏, 现在一般使用相应的因子浓缩制剂。比较特殊的是 V 因子, 因为没有相应的因子浓缩剂, 对于其缺乏的患者, 临幊仍在应用 FFP, 且有较多报道。Rouzi 等^[10]报道对 V 因子严重缺乏的妇女, 在排卵期预防性输注 FFP 可以成功进行人工授精怀孕并生产。Zhang 等^[11]报道, 对 V 因子缺乏的胆结石患者输注 FFP, 可以安全进行腹腔镜手术。众所周知, FFP 更多用于多种凝血因子缺乏的患者, 不再赘述。

3.2 弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC) 败血症、大量失血、严重的血管损伤或毒素(例如蛇毒、羊水、胰酶)等会激活机体凝血系统, 导致其失代偿, 从而引起弥散性微血管血栓形成(DIC)。这种情况下, 几乎所有的凝血因子(尤其是 V 因子)和纤维蛋白原被耗尽, 患者需要输血支持, 但是对最佳的治疗方法, 还没有达成共识。可结合使用 FFP 和冷沉淀, 并且当血小板计数<50×10⁹/L 应该输注血小板。对于出血并且 PT 和 APTT 延长的 DIC 患者, 输注 FFP 是有效的。如 York 等^[12]研究发现对于大部分中期妊娠人工流产导致的特发性 DIC, 早期诊断后输注 6~8 个 UFFP 就可以得到很好的治疗。如果患者出血伴血容量过高, 可以考虑使用凝血酶原复合物(Prothrombin Complex Concentrate, PPC)替代 FFP。严重的低纤维蛋白血症(<1 g/L)除了要进行 FFP 置换, 还应该使用纤维蛋白或冷沉淀。然而如果没有活动性出血或侵入性操作, 无论实验室检测结果如何, 都不建议输注血液制品, 也不建议输注血小板或血浆进行预防^[13]。

3.3 血栓性血小板少性紫癜(Thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP) TTP 是 1 种特殊的血栓性微血管病, 以血小板减少、微血管病性溶血性贫血、发热、神经系统异常和肾功能不全为特征。除少部分发现较晚的患者会出现血小板减

少, PT 和 APTT 异常, 大多数 TTP 患者凝血试验结果正常或接近正常。流行病学调查显示每百万人口中就会有 5 人患此病, 且死亡率非常高^[14]。至少三分之二的 TTP 患者发病原因为先天性或获得性 ADAMTS13 缺乏^[15~16]。对于先天性 TTP 患者, 目前标准治疗是进行 FFP 输注, 而获得性 TTP 患者, 需要进行血浆置换^[17]。血浆置换能够去除抗 ADAMTS13 的自身抗体, 换上有功能的 ADAMTS13。Korkmaz 等^[18]研究发现用 FFP 对 TTP 患者进行血浆置换是治疗 TTP 的有效方法, 原发性 TTP 和继发性 TTP 的完全缓解率分别为 85%、87%。在血小板减少和微血管病性溶血性贫血同时存在时即可诊断为 TTP, 一旦诊断为 TTP 应该马上进行血浆置换。针对成年人血浆置换的推荐治疗量是(10~15) mL/kg, 有些研究表明需要更大的剂量^[19]。

3.4 华法林效应的逆转 华法林通过干扰维生素 K 依赖性凝血因子 II、VII、IX、X 的羧化, 使这些凝血因子无法活化来实现抗凝作用。它会引起这些促凝因子和抗凝的 PC 和 PS 的缺乏。华法林的抗凝作用可以用 INR 标准化的 PT 的延长来指示。BCSH 给出了不同 INR 对应的不同血栓形成的标志。由华法林造成的过度抗凝可以被多种方法逆转。根据情况由轻到重, 方法分别是停用华法林、维生素 K 口服或肠道外给药(例如缓慢静脉注射 5mg)、输注 FFP 或 PPC(II 因子, VII 因子, IX 因子和 X 因子, 或先后单独输入 II 因子, VII 因子, IX 因子和 X 因子浓缩剂), 其中 PPC(50U/kg) 较 FFP 效果好^[20~21]。Makris 等^[22]研究发现 FFP 含有的维生素 K 相关因子浓度不足以逆转华法林(尤其是 IX 因子), 也支持了 FFP 不是最佳治疗方法的观点。但 Moeinpour 等^[23]研究发现针对有多处创伤并在心脏瓣膜置换术后使用华法林或肝素抗凝的患者进行紧急手术的最好抗凝药是 FFP 和 PCC。BCSH 只是建议在没有 PPC 的情况下, 由华法林导致的大出血可以用 FFP(15 mL/kg)抗凝。同时也建议静脉注射维生素 K(5 mg)。如果没有严重的出血, 即使发现凝血因子仍然少于 20%, 也不应该用 FFP 逆转华法林的抗凝作用。

3.5 肝脏疾病 肝病患者可出现各种凝血功能异常, 其程度与肝实质损伤程度有关。凝血因子合成减少, PT 延长, INR 增高, 都能引起出血, 且会因异常纤维蛋白原血症、血小板减少和纤维蛋白溶解增加而加重。FFP 包含所有的凝血因子, 并且不依赖肝脏中维生素 K 羧化作用, 虽然凝血障碍一般不会完全纠正, 但 FFP 仍然被提倡用来预防肝病和 PT 延长或 INR 增高患者的出血^[24]。事实上, FFP 在那些情况下的常规使用是具有争议的。大量研究证明 INR 不是肝硬化患者出血风险一个很好的指标, 大部分肝硬化患者 INR 都会增高, 输注的 FFP 对于预防和纠正肝脏疾病导致的凝血障碍是无效的^[25]。并且肝硬化和门静脉高压的患者输注 FFP 时会增加循环血量, 导致门静脉压线性增加, 所以针对这类人群仅以 INR 为指标来进行 FFP 的常规输注是有很大风险的^[26~27]。基于全血标本检测的血栓弹力图能够提供肝脏疾病患者更多的凝血因子信息, 能较 INR 更好地对 FFP 使用进行管理^[28]。

3.6 外科出血 临床研究支持 FFP 应用于有活动性出血、凝血因子缺乏的围手术期患者, 预防大创伤和/或大出血患者稀释性凝血障碍。Cardenas 等^[29]用老鼠制作创伤和出血

性休克模型来研究 FFP 和晶体液在凝血酶产生中的作用,发现 FFP 可以产生凝血酶来逆转高凝状态。FFP 可降低高凝患者血浆中凝血酶的产生,轻度升高低凝患者血浆中的凝血酶的产生,并通过提供 AT III 来恢复创伤和出血性休克患者的止凝血平衡。即使如此,FFP 在手术中的应用也并非都是有意义的,例如心血管外科手术会用含促凝血因子的 FFP 来降低出血的风险,但 Desborough 等^[30]综合分析了 15 个研究中 775 名心血管手术患者发现,FFP 对于无凝血障碍的择期手术患者没有显著的预防作用,对有凝血障碍紧急手术的患者也没有显著的治疗作用。Kordzadeh 等^[31]回顾性研究了 90 例破裂腹主动脉瘤修复手术患者,发现输注 FFP 可能与破裂腹主动脉瘤修复术后 30 d 发病率和死亡率风险增加有关。Ghazi 等^[32]研究发现较输注血小板和冷沉淀不同,输注红细胞制品和 FFP 会增加心脏手术患者术后深静脉血栓的风险。Aksu 等^[33]研究发现 FFP 和红细胞在肝移植围手术期的输注是肝移植相关者急性肾损伤的危险因素。Sibylle 等^[34]综合分析 70 个关于 FFP 在外科手术或巨大创伤患者中应用的研究,发现 FFP 并没有明显的临床效果,甚至可能有不利的作用。可见,FFP 在一些手术中应用的必要性及起到的作用应进一步明确研究。

3.7 大量出血 大出血被定义为 24h 之内的失血量为 1 个自身血容量,或 3h 内失血量为 50% 或出血率为 150mL/min^[35]。无论内科、外科,还是妇产科,在抢救大量出血病人时,只输注 RBC 不输注 FFP 会导致稀释性凝血障碍、DIC,增加死亡率^[36-37],大量出血的患者推荐输注 FFP^[38]。但是 FFP:PRBC 的输注比例不尽相同,近年来相关研究也不断增加。例如 Bui 等^[39]研究发现在大量输血的创伤患者复苏的前 24 小时输注的 FFP:PRBC $\geq 1:1.5$ 较 FFP:PRBC < 1:1.5 能够显著提高患者的生存率。可见 FFP 在大量输血中比例增加有益于患者恢复。Teixeira PG 等^[40]研究也发现在非外伤患者大量输血治疗时增加 FFP:PRBC 输注比例增加会提高生存率,当比例 $>1:3$ 生存率增加显著。但 Montan C 等^[41]研究发现对于需要大量输血的腹主动脉瘤破裂的患者 FFP:RBC 比例接近 1:1 时患者死亡率更低。产科大出血时,一线治疗方案也是按(15~20) mL/kg 的输注 FFP,且推荐 FFP:RBC 输注比例为 1:1^[42]。可见 FFP 在大量输血治疗时的应用可能因疾病不同而不同,研究应该继续。

3.8 其它应用 近年来,FFP 的新作用也不断被发现,例如体内外研究发现 FFP 对于出血性休克后血管内皮细胞的通透性和血管稳定性的恢复都是有益的^[43]。Deng 等^[44]研究也发现 FFP 中的脂联素有助于恢复出血性休克患者血管屏障功能。Wille 等^[45]发现 G 型神经毒剂可以在中毒后迅速输注 FFP 而快速降解。此外 FFP 能够补充缺乏的特定蛋白质,例如 C1 酶抑制剂。Tang 等^[46]研究 FFP 在 13 例血管性水肿(hereditary angioedema, HAE)患者中治疗效果发现,FFP 输注对于 I 型和 II 型 HAE 都是安全有效的。除了作为传统的血浆制品使用,FFP 还可以当作局部治疗用药,Tunay 等^[47]报道了将 FFP 作为滴眼液在一个木样结膜炎的婴儿身上使用,得到了良好治疗效果。

4 FFP 的不合理使用

据统计,33.88% FFP 的使用是不合理的,主要是因为对使用原则和潜在风险的认识不足^[48]。以下情况不应该使用 FFP。

4.1 低血容量症 排除战场等紧急情况,FFP 不应该简单的用于成年人和小孩的容量治疗,相比之下晶体液更安全、便宜,更容易获得。

4.2 血浆置换(除了 TTP) 虽然使用不含血浆的置换液会导致凝血因子、免疫球蛋白、补体和纤连蛋白逐渐减少,但是患者不会发生出血和/或感染。有极个别的发生出血,在输 FFP 之前也应该对血小板进行计数。此外对于需要麻醉的患者用生理盐水/白蛋白进行多次血浆置换会使拟胆碱酯酶水平变低。

4.3 未出血时 INR 延长的逆转 在没有出血的情况下不应该使用 FFP 来逆转 INR 的延长。

4.4 维生素 K 不足所致的 PT 延长 许多 ICU 的患者维生素 K 摄入不足,尤其是重病需要肠外营养的患者,这会导致 PT 延长,通常可以通过持续的口服或注射维生素 K 来纠正。即使凝血时间延长,并且预期有肝组织活检之类的侵入性操作,FFP 也不是纠正维生素摄入不足的治疗方法,

5 FFP 输注的副作用

输 FFP 的并发症有输血相关急性肺损伤(transfusion related acute lung injury, TRALI)、输血相关循环超负荷(transfusion associated circulatory overload, TACO)和过敏性输血反应(allergic transfusion reactions, ATR),罕见的并发症有传染病、白细胞相关的风险和红细胞同种异体免疫。

5.1 TRALI TRALI 是 1 种以在输血 6h 内发生急性低氧血症和非心源性肺水肿为特点的严重输血不良反应^[49],2003 年据美国食品与药物管理局(United States Food and Drug Administration, FDA)报道^[50] TRALI 成为输血相关死亡的主要原因,发生率约为 0.08%~15%^[51],主要临床症状有呼吸困难、呼吸急促、心动过速、发绀和呼吸道分泌物增加等。TRALI 发生的主要机制是肺内皮细胞的中性粒细胞聚集和激活^[52]。文献报道大部分严重和致命性的 TRALI 是抗体介导的^[53-54],其中白细胞抗体导致的 TRALI 占所有病例的 80%^[55],而血浆和血小板是抗体介导的 TRALI 的高风险产品。因为大部分与 TRALI 有关的捐献者是经产妇,17% 的女性捐献者有白细胞抗体(随着生产次数增加产生抗体的风险增加),减少 TRALI 的主要策略是减少输入或不输从女性或有孕史的女性捐献者产生的血浆制品^[54-56]。除此之外,Honda 等^[57]报道一例围手术期 FFP 输注导致的 TRALI,术后用体外循环膜氧合的方法得到明显改善,说明 TRALI 也是可逆的。现在很少有由输血浆引起的致命和非致命的 TRALI,和 TRALI 风险相关的血浆安全性已经显著提高^[58]。

5.2 TACO TACO 以输血后 6h 内出现流体静力性肺水肿为特点,主要表现是急性呼吸窘迫、缺氧和肺水肿。许多患者使用利尿剂后迅速改善。TACO 与 TRALI 类似,是最常见的严重输血不良反应之一,报道的死亡率为 5%~15%^[59]。最近的一个前瞻性队列研究表明血浆的大量输注、用 FFP 逆

转抗凝和增加输注速率是 TACO 的危险因素^[60]。1mL/kg · min 的输注速率经常被引证为有患 TACO 的风险,但是又缺乏数据表明输注的合理速率值。Marshall 等^[61]回顾性调查研究 251 例接受 FFP 逆转华法林作用的患者,发现 20% 患者都产生了肺部并发症,主要是 TACO,并且使用 3 个单位以上的 FFP 这种风险会增加。虽然 TACO 是一种潜在的可避免的并发症,但需要更多的研究进一步评估患者的风险因素,并提出有效的预防措施,例如合适的输注率、输注量和易感患者利尿剂的使用。临床大夫更应该意识到这些并发症并进行管理。

5.3 ATR ATR 在输血中的发病率为 1%~3%^[62],大部分 ATR 是轻微的,局限于荨麻疹、瘙痒和/或面部潮红。过敏反应一般与 FFP 和血小板的输注有关,在两个回顾性研究中发现 ATR 发生相对于输注 FFP 单位数的比值分别为 1:591 和 1:2 184^[62~63]。Kato 等^[64]研究还发现影响 ATR 的发病率的是 FFP 和浓缩血小板的二次输注,而不是输注的量。

6 结语

FFP 在临床的应用虽然已经很成熟,一些常见的不良反应也基本能够避免,但随着不断应用一些新的问题逐渐被发现,一些应用不仅没有治疗作用,甚至会使病情恶化或产生不良作用,可见 FFP 常见的临床应用注意事项和指征应该进一步完善,应用的利弊、效果应进一步明确,避免资源的浪费和副作用。同时 FFP 一些没有被广泛认识和发现的新作用应该进一步研究,这样才有助于 FFP 更好地应用于临床。相信在不久的将来,FFP 在临 床的应用会更规范,发挥的作用会更大。

参 考 文 献

- [1] O'Shaughnessy DF , Atterbury C , Bolton Maggs P , et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Haematol*, 2004, 126(1):11-28.
- [2] Van Veen JJ , Makris M. Management of peri-operative antithrombotic therapy. *Anaesthesia*, 2015, 70;58-e23.
- [3] Thromb Haemost J. Fresh frozen plasma: the most commonly prescribed hemostatic agent. *J Thromb Haemost*, 2013,11(10):1794-1799.
- [4] Lauzier F , Cook D , Griffith L , et al. Fresh frozen plasma transfusion in critically ill patients. *Crit Care Med*, 2007, 35(7):1655-1659.
- [5] Pashmakova MB , Barr JW , Bishop MA. Stability of hemostatic proteins in canine fresh-frozen plasma thawed with a modified commercial microwave warmer or warm water bath. *Am J Vet Res*, 2015, 76(5):420-425.
- [6] United Kingdom Blood Transfusion Services/National Institute for Biological Standards and Control (2013) Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 8th edn. TSO. WWW. document. URL: <http://www.transfusionguidelines.org.uk>.
- [7] Mark K. Fung, MD. American Association of Blood Banks (2014) In: *Blood Transfusion Therapy: A Physician's Handbook*, 10th edn (ed. by Karen King).
- [8] Neisser-Svae A , Trawnicek L, Heger A , et al. Five-day stability of thawed plasma: solvent/detergent-treated plasma comparable with fresh-frozen plasma and plasma frozen within 24 hours. *Transfusion*, 2015.
- [9] Wang Z , Du X , Li C , et al. Coagulation factors and inhibitors in thawed plasma stored at 1-6 degrees C for 5 days in China. *Transfus Apher Sci*, 2014, 50(2):274-280.
- [10] Rouzi AA , Qari MH , Ardawi MS . The use of fresh frozen plasma for reproduction in severe factor V deficiency. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2015, 42(3):384-385.
- [11] Zhang YH , Hong DF , Hu ZM , et al. Successful laparoscopic common bile duct exploration in a patient with factor V deficiency, a case report and review of literature. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(8):14254-14256.
- [12] York S , Lichtenberg ES. Characteristics of presumptive idiopathic disseminated intravascular coagulation during second-trimester induced abortion. *Contraception*, 2012, 85(5):489-495.
- [13] Levi M , Toh CH , Thachil J , et al. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol*, 2009, 145(1):24-33.
- [14] Tsai H M . Thrombotic thrombocytopenic purpura: a thrombotic disorder caused by ADAMTS13 deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2007, 21(4):609-632.
- [15] Peyvandi F , Ferrari S , Lavoretano S , et al. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) and ADAMTS-13 neutralizing autoantibodies in 100 patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 2004, 127(4):433-439.
- [16] Remuzzi G , Galbusera M , Noris M , et al. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Blood*, 2002, 100(3):778-785.
- [17] Rock GA , Shumak KH , Buskard NA , et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med*, 1991, 325(6):393-397.
- [18] Korkmaz S , Keklik M , Sivgin S , et al. Therapeutic plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura: a retrospective multicenter study. *Transfus Apher Sci*, 2013, 48(3):353-8.
- [19] Chowdary P , Saayman AG , Paulus U , et al. Efficacy of standard dose and 30 ml/kg fresh frozen plasma in correcting laboratory parameters of haemostasis in critically ill patients. *Br J Haematol*, 2004, 125(1):69-73.
- [20] Guidelines for transfusion for massive blood loss. A publication of the British Society for Haematology. British Committee for Standardization in Haematology Blood Transfusion Task Force. *Clin Lab Haematol*, 1988, 10(3):265-273.
- [21] Makris M , Watson HG. The management of coumarin-induced over-anticoagulation Annotation. *Br J Haematol*, 2001, 114(2):271-280.
- [22] Makris M , Greaves M , Phillips WS , et al. Emergency oral anticoagulant reversal: the relative efficacy of infusions of fresh frozen plasma and clotting factor concentrate on correction of the coagulopathy. *Thromb Haemost*, 1997, 77(3):477-480.
- [23] Moelimpour A , Zarifian A , Sheikh Andalibi MS , et al. The Best Anticoagulation Therapy in Multiple-Trauma Patients with Mechanical Heart Valves: Evaluation of Latest Guidelines and Studies. *Heart Surg Forum*, 2015, 18(6):E271-274.
- [24] Williamson LM , Llewelyn CA , Fisher NC , et al. A randomized tri-

- al of solvent/detergent-treated and standard fresh-frozen plasma in the coagulopathy of liver disease and liver transplantation. *Transfusion*, 1999, 39(11-12):1227-1234.
- [25] Shah NL, Northup PG, Caldwell SH. A clinical survey of bleeding, thrombosis, and blood product use in decompensated cirrhosis patients. *Ann Hepatol*, 2012, 11(5):686-690.
- [26] Zimmon DS, Kessler RE. The portal pressure-blood volume relationship in cirrhosis. *Gut*, 1974, 15(2):99-101.
- [27] Moller S, Bendtsen F, Henriksen JH. Effect of volume expansion on systemic hemodynamics and central and arterial blood volume in cirrhosis. *Gastroenterology*, 1995, 109(6):1917-1925.
- [28] Stravitz RT. Potential applications of thromboelastography in patients with acute and chronic liver disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 2012, 8(8):513-520.
- [29] Cardenas JC, Cap AP, Swartz MD, et al. Plasma Resuscitation Promotes Coagulation Homeostasis Following Shock-Induced Hypercoagulability. *Shock*, 2016, 45(2):166-173.
- [30] Desborough M, Sandu R, Brunsell SJ, et al. Fresh frozen plasma for cardiovascular surgery. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015, 7:CD007614.
- [31] Kordzadeh A, Askari A, Parsa AD, et al. The Clinical Implication of Blood Product Transfusion on Morbidity and Mortality of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2015.
- [32] Ghazi L, Schwann TA, Engoren MC, et al. Role of blood transfusion product type and amount in deep vein thrombosis after cardiac surgery. *Thromb Res*, 2015, 136(6):1204-1210.
- [33] Aksu Erdost H, Ozkardesler S, Oemen E, et al. Acute Renal Injury Evaluation After Liver Transplantation: With RIFLE Criteria. *Transplant Proc*, 2015, 47(5):1482-1487.
- [34] Kozek-Langenecker S, Sorensen B, Hess JR, et al. Clinical effectiveness of fresh frozen plasma compared with fibrinogen concentrate: a systematic review. *Crit Care*, 2011, 15(5):R239.
- [35] Stansby D, MacLennan S, Thomas D, et al. British Committee for Standards in Haematology: Guidelines on the management of massive blood loss. *Br J Haematol*, 2006, 135(5):634-641.
- [36]. Cotton BA, Guy JS, Morris JA, et al. The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock*, 2006, 26(2):115-121.
- [37] Tieu BH, Holcomb JB, Schreiber MA. Coagulopathy: its pathophysiology and treatment in the injured patient. *World J Surg*, 2007, 31(5):1055-1064.
- [38] Stanworth SJ, Brunskill SJ, Hyde CJ, et al. Is fresh frozen plasma clinically effective? A systematic review of randomized controlled trials. *Br J Haematol*, 2004, 126(1):139-152
- [39] Bui E, Inaba K, Ebadat A, et al. The impact of increased plasma ratios in massively transfused trauma patients: a prospective analysis. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2016, 42(4):519-525.
- [40] Teixeira PG, Inaba K, Karamanos E, et al. The survival impact of plasma to red blood cell ratio in massively transfused non-trauma patients. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2016 .
- [41] Montan C, Hammar U, Wikman A, et al. Massive Blood Transfusion in Patients with Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2016.
- [42] Mercier FJ, Bonnet MP. Use of clotting factors and other prohemostatic drugs for obstetric hemorrhage. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2010, 23(3):310-316.
- [43] Pati S, Matijevic N, Doursout MF, et al. Protective effects of fresh frozen plasma on vascular endothelial permeability, coagulation, and resuscitation after hemorrhagic shock are time dependent and diminish between days 0 and 5 after thaw. *J Trauma*, 2010, 69 Suppl 1:S55-63.
- [44] Deng X, Cao Y, Huby MP, et al. Adiponectin in Fresh Frozen Plasma Contributes to Restoration of Vascular Barrier Function After Hemorrhagic Shock. *Shock*, 2016, 45(1):50-54.
- [45] Wille T, Thiermann H, Worek F. In vitro kinetics of nerve agent degradation by fresh frozen plasma (FFP). *Arch Toxicol*, 2014, 88(2):301-307.
- [46] Tang R, Chen S, Zhang HY. Fresh frozen plasma for the treatment of hereditary angioedema acute attacks. *Chin Med Sci J*, 2012, 27(2):92-95.
- [47] Tunay ZO, Ozdemir O, Acar D, et al. Successful treatment of ligneous conjunctivitis with topical fresh frozen plasma in an infant. *Arq Bras Oftalmol*, 2015, 78(5):318-319.
- [48] Shariff MM, Maqbool S, Butt TK, et al. Justifying the clinical use of fresh frozen plasma-an audit. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2007, 17(4):207-210.
- [49] Kleinman S, Caulfield T, Chan P, et al. Toward an understanding of transfusion-related acute lung injury: statement of a consensus panel. *Transfusion*, 2004, 44(12):1774-1789.
- [50] Goldman M, Webert KE, Arnold DM, et al. Proceedings of a consensus conference: towards an understanding of TRALI. *Transfus Med Rev*, 2005, 19(1):2-31.
- [51] Vlaar AP, Juffermans NP. Transfusion-related acute lung injury: a clinical review. *Lancet*, 2013, 382(9896):984-994.
- [52] Bux J, Sachs UJ. The pathogenesis of transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Br J Haematol*, 2007, 136(6):788-799.
- [53] Holness L, Knippen MA, Simmons L, et al. Fatalities caused by TRALI. *Transfus Med Rev*, 2004, 18(3):184-188.
- [54] Shaz BH, Stowell SR, Hillyer CD. Transfusion-related acute lung injury: from bedside to bench and back. *Blood*, 2011, 117(5):1463-1471.
- [55] Middelburg RA, van Stein D, Briet E, et al. The role of donor antibodies in the pathogenesis of transfusion-related acute lung injury: a systematic review. *Transfusion*, 2008, 48(10):2167-2176.
- [56] Triulzi DJ, Kleinman S, Kakaiya RM, et al. The effect of previous pregnancy and transfusion on HLA alloimmunization in blood donors: implications for a transfusion-related acute lung injury risk reduction strategy. *Transfusion*, 2009, 49(9):1825-1835.
- [57] Honda A, Morita M, Taniguchi A, et al. [Successful Extracorporeal Membrane Oxygenation for a Patient with Nearly Fatal Hypoxemia Induced by Transfusion-related Acute Lung Injury]. *Masui*, 2015, 64(11):1181-1185.
- [58] Funk MB, Heiden M, Volkens P, et al. Evaluation of Risk Minimisation Measures for Blood Components - Based on Reporting Rates of Transfusion-Transmitted Reactions (1997-2013). *Transfus Med Hemother*, 2015, 42(4):240-246.
- [59] Popovsky MA. Transfusion and the lung: circulatory overload and acute lung injury. *Vox Sang*, 2004, 87 Suppl 2:62-65.

· 血液质量管理 ·

英国和美国 AABB 红细胞输注指南推荐意见的比较

郭永建(佛山市中心血站,广东 佛山 528000)

关键词:红细胞;输注;阈值;指南;英国;美国

中图分类号:R457.1 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2017)1-0104-04

尽管红细胞输注作为挽救生命的 1 种常用治疗措施已有很长的历史,但是要权衡红细胞输注的效益与危害、稀缺性和成本仍然十分复杂和困难。近年来有不少关于红细胞输注阈值的临床试验研究已经完成,为输血指南的制(修)订提供了科学证据。英国国家健康与关怀优化研究院(National Institute for Health and Care Excellence, NICE)于 2015 年 11 月发布了《输血指南》(以下简称英国指南)^[1-2]。美国 AABB 于 2016 年 12 月发布了《AABB 临床实践指南——红细胞输注阈值和保存日》(以下简称 AABB 指南)^[3]。2 份指南分别给出了红细胞输注的推荐意见,代表了国际输血界对红细胞输注的最新和主流观点,具有重要的学习和参考价值。现将二者介绍和比较如下。

1 英国指南

1.1 英国国家指南中心(National Guideline Centre, NGC)概况

1.1.1 NGC 成立 2009 年由英国多个全国性协作中心(急救、慢性病、护理、支持医疗和初级医疗中心)合并而成,彼时称国家临床指南中心(National Clinical Guideline Centre, NCGC),2016 年 4 月 1 日变更为现名。NGC 的工作由英国皇家医师学会(Royal College of Physicians)主持,接受合作方[皇家社区医师学会(Royal College of General Practitioners)、皇家护理学会(Royal College of Nursing)、皇家医师学会、皇家外科医师学会(Royal College of Surgeons)、皇家医师学会患者和照护者网络(Royal College of Physicians Patient and Carer Network)、英国 Cochrane 中心(UK Cochrane Centre)和英格兰国家医疗服务部(NHS England)]代表组成的管理理事会的指导和监督。NGC 是 1 支多学科健康服务研究团队,其经费由 NICE 提供。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.01.034

[60] Li G, Rachmire S, Kojicic M, et al. Incidence and transfusion risk factors for transfusion-associated circulatory overload among medical intensive care unit patients. *Transfusion*, 2011, 51(2):338-343.

[61] Marshall A, Levine M, Howell ML, et al. Dose-associated Pulmonary Complication Rates after Fresh Frozen Plasma Administration for Warfarin Reversal. *J Thromb Haemost*, 2015.

[62] Domen RE, Hoeltge GA. Allergic transfusion reactions: an evaluation of 273 consecutive reactions. *Arch Pathol Lab Med*, 2003, 127(3):316-320.

1.1.2 NGC 职责 以改善英格兰和威尔士全民医疗服务(National Health Service, NHS)体系中患者医护质量为宗旨,代表 NICE 编制循证临床实践指南。NICE 指南为 NHS 体系的卫生专业人员、患者及其照护者提供具体疾病和病人群的预防、治疗和照护标准。NGC 是目前世界上最大的临床指南研发中心之一。

1.2 英国指南

1.2.1 英国指南适用人群和架构 1) 指南适用于>16 岁成人和没有特别输血需求的 1-16 岁儿童。2) 指南架构完善(表 1)。

1.2.2 红细胞输注阈值和剂量的推荐意见 见表 2。

1.2.3 推荐依据 1) 指南编写组分析了 34 项红细胞输注临床试验研究,共有 17 553 名患者被纳入研究。对限制[输注阈值一般为 Hb(70-90)g/L]和宽松[(输注阈值一般为 Hb(80-100)g/L)输血策略的危险比值(risk ratio, RR)的荟萃分析证实,这 2 种输注策略的 30 d 死亡率(RR 0.95, 95% CI 0.77-1.17),新的心脏事件发生率(RR 1.00, 95% CI 0.54-1.83),感染(RR 0.92, 95% CI 0.83-1.01)和住院日(RR-0.52, 95% CI -1.11~-0.06)没有明显差异($P>0.05$)。限制输血策略导致输注红细胞的患者人数减少(RR 0.65, 95% CI 0.59-0.73),输注红细胞患者的输注单位数也减少(均数差-1.13, 95% CI -1.67~-0.59)。2) 已有研究发现,采用较高的输血目标给冠状动脉疾病患者带来一些益处。1 项包括 110 名行心导管插入术的 ACS 或者稳定性心绞痛患者的小规模 RCT 结果显示,与限制输血组(输注阈值 Hb<80 g/L)比较,宽松输血组(输注阈值 Hb<100 g/L)的 30 d 死亡率较低(1.8% vs 13%, $P<0.05$)。最近 1 项包括 2 003 名患者的心脏术后贫血管理的大规模 RCT 结果也证实,与宽松输血组比较(输注阈值 Hb<100 g/L),限制输血组(输注阈值 Hb<75 g/L)的死亡率较高(4.2% vs 2.6%, 危害比值 1.64, 95% CI 1.00-2.67, $P<0.05$]。

[63] Narick C, Triulzi DJ, Yazer MH. Transfusion-associated circulatory overload after plasma transfusion. *Transfusion*, 2012, 52(1):160-165.

[64] Kato H, Nakayama T, Uruma M, et al. Repeated exposure rather than the total volume of transfused components may influence the incidence of allergic transfusion reactions. *Transfusion*, 2015, 55(11):2576-2581.

(2016-06-23 收稿,09-25 修回)

本文编辑:李弘武

表 1 英国指南架构

1 优先实施的关键推荐

- 1.1 拟手术患者的输血替代措施
- 1.2 红细胞
- 1.3 血小板
- 1.4 新鲜冰冻血浆
- 1.5 浓缩凝血酶原复合物
- 1.6 患者信息

2 输血决策程序推荐

- 2.1 拟手术患者的输血替代措施
- 2.2 红细胞
- 2.3 血小板
- 2.4 新鲜冰冻血浆
- 2.5 冷沉淀
- 2.6 浓缩凝血酶原复合物
- 2.7 患者安全
- 2.8 患者信息
- 2.9 急性上消化道出血患者的输血

3 指南实施的推动措施

- 3.1 挑战:应用输血替代药物——氯甲环酸
- 3.2 挑战:应用患者身份电子识别系统

4 现状分析**5 推荐开展进一步研究的课题**

- 5.1 慢性心血管疾病患者的红细胞输注阈值
- 5.2 输血决策电子支持系统
- 5.3 具有明显术后失血风险的心脏手术患者术后血细胞回收
- 5.4 存在止血功能异常、拟做侵人性检查或手术患者的 FFP 输注

表 2 英国指南关于红细胞输注阈值、目标值和剂量的推荐

推荐 1 对于需要输血但不存在大出血、急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)或者因慢性贫血而需要定期输血的患者,采用限制红细胞输注阈值[输注阈值 Hb 70 g/L, 输注目标值 Hb (70~90) g/L]

推荐 2 对于 ACS 患者,考虑采用 Hb 80 g/L 作为红细胞输注阈值,输注目标值 Hb (80~100) g/L

推荐 3 对于因慢性贫血需要定期输血的患者,考虑采用个体化的红细胞输注阈值和输注目标值

推荐 4 对于没有活动性出血患者,考虑仅输注 1 U 红细胞

推荐 5 每输注 1 U 红细胞之后,做临床评估和 Hb 检测,如有必要,则再次输注

注:按照 NICE 指南编制手册给出的标准报告最终推荐意见,强推荐意见以“予以推荐”或“不予推荐”(使用祈使语气)表示,弱推荐以“考虑(consider.)”表示^[4]。

2 AABB 指南**2.1 推荐意见 见表 3。****2.2 推荐依据**

2.2.1 红细胞输注阈值的推荐依据 AABB 指南基于对>12 000 名不同疾病的多中心大规模 RCT 得出的一致证据^[3]提出上述推荐意见。除了可能例外的 ACS 患者外,没有数据提示限制输血比宽松输血更有害,限制输血的益处包括减少血液使用和相关费用,以及尽管不常见但可能严重的输血不良事件。1)评价共纳入 31 项符合条件的试验,其中涉及的病症包括骨科手术 10 项、重症 6 项、心脏手术 5 项、胃肠道出血 5 项、ACS 2 项、白血病或者血液恶性肿瘤 2 项、血管手术 1 项,共有 12 587 名患者,限制红细胞输注方案通常采用输注阈值 Hb 70 或 80 g/L, 宽松红细胞输注方案通常采用输注阈值 Hb 90 或 100 g/L。2)30 d 死亡率是 30 项 RCT 中的 23 项的主要结局指标:限制输血组该指标差异的

绝对值为少死亡 3/1 000 [95% CI(-15~18)/1 000], 对该指标做的质量评价没有发现存在严重的偏倚风险、不一致性、间接性和发表风险;该证据的总体质量为中等,由于限制输血组有可能多死亡 18/1 000,因此判定其存在较大的不精确性问题。3)对所评价的其他所有结局指标的比较均无证据显示限制输血方案给患者带来危害,尽管有关充血性心脏衰竭和再次出血的试验证据质量较差;此外也未发现宽松输血与感染率增加的相关性,而此前的 meta 分析发现这一相关性^[5];本系统评价未发现所评价的其他结局指标(行走能力、功能多种测量、疲惫和住院日)存在明显差异。4)对限制红细胞输注不同阈值[Hb(80~90)g/L(n=4 772) 或者 Hb 70 g/L(n=5 765)]的 30 d 死亡率的比较结果显示,它们的 RR 相似($P>0.05$),但是 2 组患者病情存在差异:以 Hb 70 g/L 为限制输注阈值的试验对象大多数是重症患者,而以 Hb(80~90) g/L 为限制输注阈值的试验对象的病种更为多样化。5)不同病种亚组的 30 d 死亡率比较分析结果未证实其存在明显差异($P>0.05$),然而在胃肠道出血患者,限制输血组的该指标明显低于宽松输血组($RR 0.65, 95\% CI 0.43\sim0.97$)。关于 ACS 的研究仅有 2 项小规模试验,共纳入 154 名患者,限制输血组死亡 9 人,宽松输血组死亡 2 人($RR 3.88, 95\% CI 0.83\sim18.13, P>0.05, I^2 67.6\%$);患者心肌梗塞发病率与其他所有病种的 29 项试验结果相当。

表 3 AABB 指南红细胞输注阈值和输注红细胞保存日的推荐**推荐 1 红细胞输注阈值的推荐**

推荐 1.1 对于包括重症患者在内的血液动力学稳定的成人住院患者,推荐采用限制红细胞输注阈值(Hb 70 g/L),不推荐采用宽松输注阈值(Hb 100 g/L)(强推荐,证据质量中等)

推荐 1.2 对于接受骨科手术、心脏手术或者存在心血管疾病的患者,推荐采用 Hb 80 g/L 作为限制红细胞输注阈值(强推荐,证据质量中等)

注 1:对于接受骨科手术、心脏手术或者存在心血管疾病的患者,如果采用 Hb 70 g/L 作为限制红细胞输注阈值,其疗效可能与采用 Hb 80 g/L 作为输血阈值者相当,但是目前尚未获得所有类别患者采用输血阈值 Hb 70 g/L 的 RCT 证据

注 2:上述红细胞输注阈值的推荐不适用于 ACS、严重血小板减少症(因血液病或者肿瘤接受治疗、具有出血风险)和依赖输血的慢性贫血患者,不予推荐的原因是证据不足

推荐 2 输注红细胞保存日的推荐

包括新生儿在内的所有患者宜使用在经过批准的保存期限内任何时间点的红细胞(标准发血),而不限定患者只使用新鲜红细胞(保存日<10 d)(强推荐,证据质量中等)

2.2.2 输注红细胞保存日的推荐依据 针对>5 000 名各种疾病的多中心大规模 RCT 取得了一致的结果,与标准发血比较,没有证据支持输注新鲜血液能够降低死亡率:1)有 13 项试验符合纳入标准,试验对象包括新生儿、极低体重婴儿、小儿和成人,大多数患者患有急性重症疾病或者存在外科出血;开展试验的地区为北美、南美、欧洲、澳大利亚和非洲;试验对标准发血和发放新鲜血做比较,但是不同的试验在标准发血的血液保存日存在差异;在 2 项涉及新生儿的初步试验中,所使用红细胞平均保存日,新鲜红细胞输注组为 1.6 和 5.1 d,标准发血组则为 9.0 和 14.1 d;成人患者试验所使用红细胞保存日的中位数:新鲜红细胞输注组 4 d(平均 12.1 d),标准发血组 19 d(平均 28 d);2)森林图分析显示,以死亡率为结局指标,没有证据显示新鲜红细胞优于标

准发血的红细胞($RR\ 1.04, 95\% CI\ 0.95\text{--}1.14$)，成人和婴儿的估算结果相似；30 d 死亡人数差异的绝对值，新鲜红细胞输注组的死亡人数多 $4/1\ 000 [95\% CI (-5\text{--}14)/1\ 000]$ ；3) RCT 的质量评价没有发现其存在严重的偏倚风险、不一致性和间接性或发表偏倚；关于 30 d 死亡率的差异，RCT 证据的总体质量为中等，因为 95% CI 包括了输注新鲜红细胞患者死亡人数明显减少；4) 没有证据提示输注按照标准发血程序发出的血液的患者具有更高的不良事件发生率，但是该项证据的质量低；输注新鲜红细胞患者的医院感染发生率更高，其绝对值差异为输注新鲜红细胞组多 $43/1\ 000$ ，但是该项证据质量低；5) 值得指出的是，上述红细胞保存日试验没有评价大出血、换血、患肾病患者和具有高血钾风险的新生儿及儿童、宫内输血患儿或者患血红蛋白病而需要长期输血支持的患者^[3]。

3 讨论

3.1 关于 2 类输血策略术语翻译的思考和建议 2 类输血策略的英语分别为“restrictive blood transfusion strategy”和“liberal blood transfusion strategy”。国内学者对于“restrictive blood transfusion strategy”的翻译比较一致，基本上将其译为“限制性输血策略”，而对于“liberal blood transfusion strategy”的翻译主要有 3 种：“自由(性)输血策略”、“开放(性)输血策略”和“非限制性输血策略”。根据 2 类输血策略的差异在于作为红细胞输注阈值以及输注目标值的 Hb 水平是高些或是低些，以及血液资源是如此珍贵和稀缺，还有患者需要承受的输血风险——多输血多风险，少输血少风险，不输血无风险——输血不宜“自由”、“开放”、“不受限制”甚至“没有节制”，因此这些翻译恐欠妥。从 2 类输血策略临床试验所采用的输血阈值(Hb 70 或 80 g/L vs 90 或 100 g/L)可明显看出其差别是限得“严”些还是“宽”些，故本文暂且将 2 类输血策略译为“限制输血策略”和“宽松输血策略”，建议国家卫计委卫生标准委员会血液标准专业委员会在修订卫生行业标准《输血医学术语》时予以研究确定。

3.2 英美指南的主要异同点

3.2.1 红细胞输注阈值、目标和输注量 1) 英国指南和 AABB 指南的共同点是均推荐采用限制输血策略，对于血液动力学稳定的患者均推荐以 Hb 70 g/L 作为限制红细胞输注阈值。2) AABB 指南提出采用 Hb 80 g/L 作为接受心脏或者骨科手术、或者已患有心血管疾病的患者输注阈值的推荐意见。3) 关于 ACS 患者的输血阈值，由于证据不足，AABB 指南未做推荐，英国指南提出采用 Hb 80 g/L 作为该类患者红细胞输注阈值的弱推荐意见。4) 关于具有出血风险的重症血小板减少症患者的红细胞输注阈值，同样由于证据不足，AABB 指南未做推荐，但同时提供了这方面的研究现状：(1) 已有研究结果显示红细胞能够增强血小板反应，尤其是在血小板计数较低时；(2) 动物实验或正常志愿者的研究结果提示，贫血(即使 Hb 水平仅降低 15%)导致出血时间延长；(3) 有部分临床医师据此主张对于具有出血风险的严重血小板减少症患者采用较高的红细胞输注阈值。5) 关于因慢性贫血需要定期输血的患者的输血阈值，英国指南提出采用个体化的红细胞输注阈值和输注目标值的弱推荐意见，而 AABB

指南因证据不足未做推荐。6) 英国指南还提出了输注目标和输注量的推荐意见，而 AABB 指南未包括这方面的内容。值得关注的是，英国和澳大利亚近年来将“1 次输血只输注 1 U”作为患者血液管理的 1 项重要内容给予推广实施^[6-7]。

3.2.2 输注红细胞保存日 1) 数年前根据心脏手术患者的观察性研究结果提出输注标准发血的红细胞可能导致更高的疾病发生率和死亡率的假说。2) 最近通过很好设计的 RCT 对这一假说所做的检验显示，原始假说在心脏手术、重症患者或者早产新生儿是无效的，更为相关的问题仍然是红细胞输注适应证而不是红细胞保存日。3) AABB 指南据此提出了包括新生儿在内的所有患者宜使用在经过批准的保存期限内任何时间点的红细胞(标准发血)，而不限定患者只使用新鲜红细胞，目前血站采用“先进先出”的标准发血实践宜继续实施的推荐意见。4) AABB 指南在讨论推荐意见的局限性时同时指出：(1) 在美国，红细胞的平均保存日 17.9 d，但是在不同的医院和患者群体存在一定差异；(2) 评价红细胞保存日的试验没有评估接近 42 d 保存期限的影响，在已开展的 RCT 中仅有少部分患者输注接近保存期限(35–42 d，最可能受到保存损害影响)的红细胞；(3) 因此 AABB 指南作出声明，关于输注红细胞保存日的推荐意见对于大部分红细胞保存日 > 35 d 的血站的适用性未知。5) 英国血液学会 2016 年 4 月发布的《小儿输血指南》仍然强调在宫内输血和新生儿换血等特殊病情使用新鲜红细胞(距采血日 ≤ 5 d)，尤其是需要辐照处理的红细胞^[8]。6) 目前还有数项关于不同保存日的红细胞输注效果的临床研究仍未完成^[9-10]。因此，是否各种病情的成人或者小儿患者都对红细胞保存日没有特殊要求仍有待更多的临床试验证据。

3.2.3 指南实施的助推措施 NICE 提供了助推英国指南实施的配套工具和资源，在其网站的输血指南网页项下设立了多个栏目，提供了指导和推动指南贯彻实施的具体和实用的方法。1) 指南实施成本分析报告：主要针对《输血指南》中可能对资源影响最大的推荐意见，如铁剂、氨甲环酸、自体血细胞回收和患者身份电子辨识系统做成本效益分析报告。2) 基础评估工具：提供了当前医院的输血实践是否符合输血指南的推荐意见的评价工具，用于了解当前医院输血实践现状，帮助医院制订推动输血实践符合《输血指南》推荐意见的行动计划。3) 简单适用的服务改进支持：输血决策路径图示。4) 共享学习经验：主要介绍和共享英国各地输血管理经验，如英国 3 个地区开展的血小板输注审核报告。5) 推荐开展进一步研究的课题：提出对目前缺少临床试验证据的临床输血实践的重要问题做进一步研究的推荐意见，包括临床问题陈述和开展研究的重要性说明。6) 不予推荐(do not do recommendation)：针对临床试验证据不支持的当前临床输血常见做法明确提出“不要做”的推荐意见。7) 推进指南实施的指引：应用 NICE 指南实施推荐指引和输血指南配套质量标准来改善临床医疗实践。

3.3 全面理解输血指南的推荐意见 按照良好临床实践的原则，对患者做出输血决定时，不仅要考虑 Hb 水平，还要全面考虑临床情境和输血替代措施，这才是好的临床输血实践。需要考虑的因素包括 Hb 下降的速度、血管内容量的状

《中国输血杂志》2017 年稿约

《中国输血杂志》系中华人民共和国卫生和计划生育委员会主管,中国输血协会暨中国医学科学院输血研究所主办的输血医学学科全国性学术刊物,是我国临床医学类重要的核心期刊,被国内所有权威检索机构或数据库收录,并已为美国化学文摘(CA)、WHO 西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录。本刊以医疗机构、采供血机构和血液制品研发及生产单位的专业工作者,以及医学院校、科研机构等的相关专业人士为主要读者对象,报道输血医学及输血科学的进展与水平,立足中国输血事(行)业发展,促进输血学科建设是本刊的定位和使命。本刊常设“专家论坛”,“专家述评”及“专题研究”(以约稿为主),“论著”(包括基础医学与实验研究、临床研究、调查研究、个例报告等研究类论文),“输血管理”,“输血医学教育”,“输血信息化”,“综述”等固定栏目,并实时开设“标准·方案·指南”、“输血机构室间质量评价”,“致编辑的信”,“讲座”,“国外输血动态”,“输血学术会议优秀论文”,“输血史(话)”,“读者·作者·编者”以及“更正”等栏目,目前还开设有“血液质量理论坛”等专栏;同时刊载国内外有关输血的学术交流信息、医学问答和新书评介等文章。对来稿的要求和提请注意的事项如下:

1 文稿 应符合科学性、真实性、实用性,以及法理性和伦理性;语言(无论中英文)通顺精炼、数据准确可靠,论点鲜明、层次清晰。研究类论文需具体交代研究的时间、地点与研究

态、呼吸气短、头重脚轻、心脏原因所致的胸痛、对液体冲击治疗无反应的低血压或者心动过速,还有患者的优先选择权利。但是这并不意味者输血指南没有价值。尽管输血指南不是绝对标准,不是对所有患者的输血决定都适用,但是输血指南提出了适用绝大多数患者和绝大多数情况的总体推荐意见。红细胞输注指南的不足之处在于其仅以 Hb 水平作为输血阈值,Hb 水平是血液携氧能力的指标,但它不反映组织氧供或者组织氧合水平。组织氧合的直接指标,如采用非侵入性方法或者血浆标志物如碱缺乏、乳酸或者其他生物标记物,再加上 Hb 水平测定结果,这些临床综合指标可能更为准确地反映红细胞输注需求^[3-11]。期待将来的红细胞输注指南能够采用更多的评估组织氧合的生理学指标作为更精确的证据。

参 考 文 献

- [1] National Clinical Guideline Centre. Blood transfusion. NICE guideline 24. 2015-11-18 [2017-02-03] <http://nice.org.uk/guidance/ng24>
- [2] Alexander J, Cifu AS. Transfusion of Red Blood Cells. JAMA, 2016, 316(19):2038-2039.
- [3] Carson JL, Guyatt G, Heddle NM, et al. Clinical practice guidelines from the AABB: red blood cell transfusion thresholds and storage. JAMA, 2016, 316(19):2025-2035.
- [4] National Institute for Health and Clinical Excellence. The guidelines manual. 2012 [2017-01-03] <http://nice.org.uk/process/pmg6/chapter/1-introduction>.
- [5] Rohde JM, Dimcheff DE, Blumberg N, et al. Health care-associated infection after red blood cell transfusion: a systematic review and meta-analysis. JAMA, 2014, 311(13):1317-1326.
- [6] UK National Blood Transfusion Committees. Patient Blood Management-An evidence-based approach to patient care. 2014-06-24 [2017-01-02] <http://www.transfusionguidelines.org.uk/uk-transfusion-committees/national-blood-transfusion-committee/patient-blood-management>
- [7] Australia National Blood Authority. Single unit transfusion guide. 2014-06-30 [2017-01-02] <https://www.blood.gov.au/single-unit-transfusion>
- [8] British Society for Haematology. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children. 2016-04-15 [2017-01-02] <http://www.b-s-h.org.uk/guidelines/guidelines/transfusion-for-fetuses-neonates-and-older-children>.
- [9] ClinicalTrials.gov website. Age of blood in children in pediatric intensive care units (ABC PICU). 2013-08-09 [2017-01-02] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01977547>.
- [10] ClinicalTrials.gov website. Standard issue versus fresher red blood cell use in intensive care-a randomised controlled trial (TRANSFUSE). 2012-07-09 [2017-01-02] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01638416?term=age+of+blood&rank=3>.
- [11] Yazer MH, Triulzi DJ. AABB red blood cell transfusion guidelines: something for almost everyone. JAMA, 2016, 316(19):1984-1985.

(2017-01-19 收稿)

本文编辑:蔡辉

对象;以人为研究对象的论文,应说明所遵循的程序符合人体试验的有关伦理学标准,并申明受试者或其家属已签署知情同意书;动物、药物、试剂和仪器等应注明品系、规格、批号、生产单位等。论著一般在 4 000~5 000 字(含图表和参考文献),须附结构式中英文摘要[包括目的、方法、结果、结论 4 部分,中文 400 字左右为宜,且需与英文一致(英文以 250 个左右实词为宜)]和关键词 3~5 个(尽量向主题词靠拢,按中国医学科学院医学信息研究所最新版的《医学主题词表》书写);综述、讲座等≤5 000 字,其他文章 1 000~2 000 字,附中英文一致的题目及相应的关键词。

2 题名 应简明、确切,准确指向论文主题且便于检索。中文题名≤20 个汉字,英文题名以不超过 10 个实词为宜,二者的意思应一致;题名中不得含有非公认的缩略语、代号等。

3 署名 包括中英文一致的作者姓名、单位全称、邮政编码;作者仅限于全部研究的参加者,其他贡献者可列于文末“志谢”;作者的排序应在投稿时确定,其后原则上不得再做改动。凡标明的“通信作者”,将被视为与文稿所有相关事宜的接洽、联系者。

4 名词、数字与计量单位 医药等名词务必以科学出版社最新版的《医学名词》及最新版的《中华人民共和国药典》为准或按规定使用,无通用译名的名词术语第 1 次在文中出现时应注明原词;商品名原则上不得出现在题名和正文中,确需

- [5] Rohde JM, Dimcheff DE, Blumberg N, et al. Health care-associated infection after red blood cell transfusion: a systematic review and meta-analysis. JAMA, 2014, 311(13):1317-1326.
- [6] UK National Blood Transfusion Committees. Patient Blood Management-An evidence-based approach to patient care. 2014-06-24 [2017-01-02] <http://www.transfusionguidelines.org.uk/uk-transfusion-committees/national-blood-transfusion-committee/patient-blood-management>
- [7] Australia National Blood Authority. Single unit transfusion guide. 2014-06-30 [2017-01-02] <https://www.blood.gov.au/single-unit-transfusion>
- [8] British Society for Haematology. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children. 2016-04-15 [2017-01-02] <http://www.b-s-h.org.uk/guidelines/guidelines/transfusion-for-fetuses-neonates-and-older-children>.
- [9] ClinicalTrials.gov website. Age of blood in children in pediatric intensive care units (ABC PICU). 2013-08-09 [2017-01-02] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01977547>.
- [10] ClinicalTrials.gov website. Standard issue versus fresher red blood cell use in intensive care-a randomised controlled trial (TRANSFUSE). 2012-07-09 [2017-01-02] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01638416?term=age+of+blood&rank=3>.
- [11] Yazer MH, Triulzi DJ. AABB red blood cell transfusion guidelines: something for almost everyone. JAMA, 2016, 316(19):1984-1985.

使用时应先注明其通用名。数字执行 GB/T 15835-1995《关于出版物上数字用法的规定》，以公历表示的时间及计数、计量均用阿拉伯数字；百分数范围和偏差数字的写法如 20%~40%、(65.7±1.4)%，表示数字增加用倍数，减少用分数或百分率（%）；计量单位遵守和使用国家法定计量单位，执行 GB 3100~3102《量和单位》的规定与书写规则，组合符号不得有 1 条以上的斜线，如 mg/kg/d，应表示为 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ，表示偏差的数值写法如 (10±4)℃，表示范围的数值写法如 8~15 mg，表示体（面）积写法如 3 cm×7 cm×11 cm。

5 图和表 须冠有图、表题，按其在正文中出现的先后顺序连续编码，应具有自明性，正文与图、表及图与表之间内容不宜重复；线条图应提供打印图样电子版，标值线向内、标识清楚，照片图须图像清晰、层次分明、反差适中；表采用三线表（若有合计，则在此行上加一分隔线，统计学处理则置于表下做注），附于相应的文字后，表中数据须同一指标有效位数一致，以标准差的 1/3 确定有效位数为宜；说明性资料应置于图表下方注释中，注释要标明图表中使用的全部非公知公用的缩写。

6 统计学 应具体说明所用统计学软件的名称、版本；统计学符号一律用斜体；统计学运用须具备三要素：数据的表示方式、所用统计方法和统计软件；以 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料，以 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料；对于定量资料，不可任意套用 t 检验或单因素方差分析，应根据设计类型、资料的条件和分析目的，选择合适的统计学方法；对于定性资料亦应根据设计类型、定性变量的性质及频数所具备的条件和分析目的，选择合适的统计学方法，不可任意套用 χ^2 检验；应用回归分析，需结合专业知识和散布图，选择合适的回归类型，不可套用直线回归分析；应用重复实验数据检验回归分析资料，不宜简单化处理；应用多因素、多指标资料，要在一元分析的基础上，尽量采用多元统计分析方法，从而对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。 $P < 0.05$ （或 < 0.01 ）和 $P > 0.05$ ，表述为对比组之间的差异具（不具）统计学意义，而不言对比组之间具（不具）显著性（或非常显著性）差异；需具体写明所用的统计学检验方法名称[如成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析（ χ^2 检验）、多个均数之间两两比较的 q 检验]及检验值；当涉及总体参数（总体均数、总体率等）时，在给出显著性检验结果的同时，还应给出 95% 可信区间。

7 讨论 非综述类论文切忌重述结果内容，亦不可做成文献综述，可根据自身工作，结合文献说明作者的创见及其意义、作用和影响，同时应言明不足之处，并可提出设想与建议；结论必须能为“本文”结果所证实。

8 参考文献 应当为作者亲自阅读过的主要文献，勿引用未公开发表及尚未出版的书刊资料；著录格式依文内引用顺序在文中引用处右上角括弧内编号，文后参考文献表的著录项含：作者姓名[3 人者全列出，>3 人者只列前 3 位作者名，

后加“，等”（“，et al”）（英文）或其它相应文字].题名（文献类型标志，除电子文献载体标志代码外，均不必标注）。文献名（中文期刊用全名，西文期刊名用缩写，按 Index Medicus 格式）。版次，出版地：出版者，出版年（期刊为出版年卷、期次）：析出的页码（联机文献还须标出引用日期），获取和访问路径（联机文献必备），举例：

- [3] 张贺秋,王国华,陈坤,等.慢性丙型肝炎患者 HCV 不同功能区抗体的随访研究.中国输血杂志,2004,17(6):397-399.
- [4] 赵桐茂.人类血型遗传学.北京:科学出版社,1987:226-229.
- [9] 赵进生.抗球蛋白试验//王培华.输血技术学.2 版,北京:人民卫生出版社,2003:222-225.
- [10] 孔长虹,孟忠华.关于血站数据电文和电子签名实施的探讨[J/OL].中国输血杂志,2008,21(6):[2009-02-19].http://dkb.cnki.net/kns50/detail.aspx?Query-ID=86&CurRec=1.

9 投稿 本刊只接受网络在线投稿，请作者登录本刊网站，循有关投稿的链接，网上注册并提交稿件的电子文档（为确保审稿全过程“双盲”，保证审稿公允，电子版稿件中不得含任何作者及单位信息），提交成功后，请记住注册帐户名及稿件编号，并速将单位推荐信（注明稿号、文章署名）及审稿费 60 元寄至编辑部；作者单位对文稿的科学性、保密性、署名权及无一稿两投负责；本刊为省部级以上基金资助课题或攻关项目的论文备有“绿色通道”，凡属此类论文请注明课题或项目编号并附相关审批文件的复印件，俟审稿通过后将予优先发表；投稿 2 个月后未收到答复，作者可自行处理。本刊一旦发现一稿两投者，将立即退稿；发现一稿两用者，除公开发表声明撤销该稿件外，还将在 2 年内拒受以该文作者为第一作者署名的来稿；对抄袭他人文章或剽窃他人成果者，将在 5 年内拒受含其署名的所有来稿。

10 审稿原则及修稿须知 本刊实行同行评议的双盲审稿，采取编辑部初审、编委（专家）复审、编委会定稿的三审制；经审核拟刊用的稿件，请修改整理后将修定稿电子版发回本刊网络采编平台，同时将纸质稿件寄回编辑部，务请在纸质稿上注明联系电话、Email 等备用。

11 作者的权益与义务 来稿一经决定刊用，需要作者亲笔签署论文使用授权书予本刊编辑部，编辑部可以电子期刊、光盘及网络版等形式出版该文，该文也将随本刊入编相应的数据库；未经编辑部同意，该文任何部分不得再转载他处；论文刊出前作者要缴纳一定数额的版面费[600 元/页，文中含彩色图片，还需付彩图制作工本费 400 元/页（同页内彩图数不限）]；论文刊出后编辑部赠送当期杂志 1~2 册。

12 联系方式 网址：www.cjbt.cn，通信地址：四川省成都市成华区东三环路二段龙潭总部经济城华彩路 26 号《中国输血杂志》编辑部，邮编：610052，Email：cjbt@cjbt.cn，联系电话（传真）：028-83373857、61648584。

13 郑重提示 请作者投稿前务必仔细阅读上述条款，若您的来稿与之有悖，恕本刊免责。