

# 中国输血杂志

ZHONGGUO SHUXUE ZAZHI

月刊 1988年3月创刊 第30卷第8期 2017年8月25日出版

主管  
国家卫生和计划生育委员会

主办  
中国输血协会  
中国医学科学院输血研究所

编辑  
中国输血杂志编辑委员会

主编  
刘忠

编辑部主任  
蔡辉

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

印刷  
成都汇源文化发展有限公司

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

订 阅  
全国各地邮局  
邮发代号 62-186

中国标准刊号  
ISSN 1004-549X  
CN 51-1394/R

广告经营许可证号  
5100004000542

订 价  
16.00元/期 全年192.00元

版权归中国输血杂志编辑部所有

本刊刊载的所有文章不代表本刊编委会  
及编辑部的观点,除非特别声明

## 目 次

### 专家论坛

创建中西医结合中国特色输血医学体系 ..... 兰炯采 刘志伟 丁志山等(855)

### 专家述评

初进高原者耐缺氧机制与高原条件下的输血策略 ..... 李翠莹 李小薇 (859)

### 高原输血与高原耐缺氧机制研究专题

EPAS1 基因不同单体型与高原低氧适应的相关性研究  
..... 李翠莹 李小薇 刘娟等(863)

急进高原后人外周血红细胞形态变化的研究..... 顾顺利 李翠莹 尹文等(867)

高原环境对人外周血细胞的影响 ..... 肖军 李小薇 李翠莹等(870)

高原低压低氧环境对红细胞携氧的影响 ... 刘娟 李小薇 李翠莹等(872)

航空运输对红细胞能量代谢及携氧能力的影响  
..... 刘家玉 卓海龙 骆群等(874)

藏、汉族中遗传差异与高原低氧适应研究 ..... 李小薇 李翠莹 (877)

### 基础医学与实验研究

接枝不同官能团的聚酯材料对血小板黏附及其功能的影响研究  
..... 钟锐 贺曾 王红等(880)

人脐带非酶解法培养 MSCs 的方法建立 ..... 李素萍 王震 吕蓉等(885)

全层析工艺制备 10% 静注人免疫球蛋白及检测分析  
..... 邢延涛 李策生 胡勇等(890)

应用微孔板芯片分析机采血小板常温保存过程中凋亡相关 miRNA 的表达改变  
..... 陈倩 李朝红 谭琳等(893)

Ultrio plus 和 Ultrio 核酸检测体系的 HBV 检出效果评价  
..... 邓雪莲 周璐 梁晓华等(897)

无偿献血者 HIV 检测和归队情况分析 ..... 王丽梅 池泉 林授等(901)

常用抗-HIV、抗-TP ELISA 血液筛查试剂阳性判断值的验证  
..... 王庆敏 冯晨晨 黄成琅等(904)

参加国际血型分子免疫血液学实验室间质评项目结果分析  
..... 张文静 秦敬民 徐群等(907)

### 临床研究

心脏手术输血方式的探讨 ..... 赵晓明 吴文娟 杨冀 (910)

某院外科手术备血与术中用血分析 ..... 江艇 陈守梅 (914)

悬浮红细胞储存时间对妇科患者输血不良反应的影响 ..... 杨博 李肖甫 (917)

电子交叉配血在东莞市三级医院的临床应用调查分析  
..... 何子毅 车嘉琳 祁妙华等(920)

### 调查研究

南宁市重症地中海贫血患儿输血情况调查及针对性供血策略的建立  
..... 陆祝选 李彬 莫秋红等(924)

新疆柯尔克孜族献血者 7 个红细胞血型系统抗原基因多态性分析  
..... 乔艳辉 依萨穆丁·吾甫尔 吐尔洪·克维尔等(931)

佛山市顺德区无偿献血者核酸检测情况分析  
..... 夏传友 刘志泉 陈永飞等(935)

对千人口献血率概念的应用和修正探讨  
..... 常 纓 张 燕 赵凤绵等(938)

临床输血病历质量精准评估与分析  
..... 王晓平 杨君青 (941)

洛阳地区 2 798 份无偿献血影响因素调查问卷统计分析  
..... 马红丽 李会侠 朱丽莉等(944)

2013-2015 拉萨市互助献血潜在风险分析  
..... 德吉卓嘎 (946)

临床用血评价系统的建立与应用  
..... 何桂鲜 黄 杰 夏芹芹 (959)

无偿献血宣传招募工作的思考与对策  
..... 夏代全 程 磊 (963)

**综述**

白细胞滤器联合血液回收机用于产科自体血回收的研究进展 ..... 余 超 顾 娟 罗 东 (965)

**血液质量管理论坛**

英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(八)  
..... 郭永建 马春会 (969)

**经验与方法**

改良采集模式在外周血干细胞采集中的应用  
..... 安 媛 任召祺 杨 超等(948)

1 120 名骨科预输血患者血小板抗体检测结果分析  
..... 梁 静 桂 霞 郑淑贤等(951)

自身免疫性溶血性贫血患者 ABO 血型鉴定及抗体筛查 ..... 刘红冰 兰炯采 李艳英等(953)

**个案报告**

高效价抗-D 致双胎新生儿 D 抗原遮蔽合并 HDFN  
1 例 ..... 王海娟 袁 佳 陈 剑等(954)

**输血管理**

陕西省血液核酸集中化检测的实践和探讨  
..... 段 勇 郭 燕 叶世辉 (957)

**信息窗**

新书介绍(862) 《临床输血进展》购书事宜(869) 关于第 28 届地区性(非欧洲)国际输血大会中文摘要投稿截止日期延期的通知(876) 严正声明(879 968) 《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目(889 943) 中国输血协会新版官网开通(896) 2017 年本刊专题报道(909) 《临床单病种输血》专著出版(916) 血型基因检测开放平台(930) 《中国输血杂志》创刊 25 周年纪念专辑》出版(934) 第三届输血医学高等教育与学科建设发展研讨会成功举办(947) 《中国输血杂志》郑重申明(962) 关于举办中国血液制品行业高峰论坛的通知(974)

**彩 页 索 引**

Compo Select 一次性滤除白细胞型血袋(费森尤斯卡比)(封 二)  
斯达必集血型仪(澳斯邦生物) (首 页)  
ORTHO 血型检测工作站(奥森多医疗) (目次前)  
采供血设备(威高集团) (目次前)  
血浆病毒灭活器材(双威生物) (目次前)  
血小板抗体检测试剂盒(芬瑞生物) (目次前)  
采供血设备(爱康生物) (目 次)  
采供血设备(美国血液技术) (目 次)  
谷丙转氨酶检测系统(艾康生物) (目 次)

中国科技核心期刊收录证书 (目 次)  
采供血设备(兰泰纳生物) (目 次)  
一体化采血系统(达科为医疗) (对 文)  
中国输血杂志简介 (对 文)  
采供血设备(上海若疆生物) (对 文)  
中国输血杂志简介 (对 文)  
采供血设备(美国血液技术) (封 三)  
血浆解冻仪(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 陈会友 陈利民 陈 强 陈勤奋 崔徐江 董伟群 樊 晶  
范道旺 冯觉平 傅 强 傅雪梅 高东英 郭永建 韩 威 黄成垠 纪宏文  
江咏梅 乐爱平 李碧娟 李剑平 李聚林 李 平 李 维 李长清 李忠俊  
练正秋 梁晓华 林东军 刘嘉馨 刘铁梅 刘衍春 栾建凤 罗广平 骆 群  
吕 蓉 马 峰 马 廉 苗天红 聂咏梅 彭 涛 钱宝华 秦 莉 饶绍琴  
任芙蓉 邵超鹏 宋 宁 苏 毅 孙 俊 孙启凤 汪传喜 汪德清 汪新民  
王保龙 王乃红 王 迅 魏 晴 魏亚明 吴 涛 夏 荣 向 东 项红兵  
谢毓滨 邢颜超 许金波 阎 石 杨江存 叶世辉 叶 欣 尹 文 于新发  
于 洋 岳 文 张贺秋 张 曦 张循善 张 燕 章金刚 章 旭 赵国庆  
赵树铭 郑优荣 周 虹 周华友 周 俊 周小玉 周学勇(特邀) 周 英  
朱培元 朱自严 邹汉武 邹峥嵘

**本期责任编辑:**夏 玲 **本期责任校对:**吉昌辉 **英文审校:**KA YI LI(李嘉怡)(美国) 薛 原

**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 8    Aug 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

- Establishing the system of transfusion medicine combined with Chinese  
tradition medicine**  
..... LAN Jiongcai, LIU Zhiwei, DING Zhishan, et al (855)
- Anti-hypoxia mechanism and blood transfusion strategies for new arrivals  
on plateau** ..... LI Cuiying, LI Xiaowei (859)
- Study on the relationship between EPAS1 gene haplotype and high  
altitude hypoxia adaptation**  
..... LI Cuiying, LI Xiaowei, LIU Juan, et al (863)
- Study on the changes of human peripheral erythrocyte morphology in  
healthy crowd after rapidly ascended to plateau**  
..... GU Shunli, LI Cuiying, YIN Wen, et al (867)
- Effects of high altitude environment on human peripheral blood cells**  
..... XIAO Jun, LI Xiaowei, LI Cuiying, et al (870)
- The impact of hypoxia and low pressure in high-altitude on the variation  
of SpO<sub>2</sub>, P<sub>50</sub>, and Hb** ..... LIU Juan, LI Xiaowei, LI Cuiying, et al (872)
- Effect of air transport on RBC energy metabolism and oxygen delivering  
capacity** ..... LIU Jiayu, ZHUO Hailong, LUO Qun, et al (874)
- The correlation of genetic variation and high-altitude hypoxia adaption  
between Tibetans and Han populations** ... LI Xiaowei, LI Cuiying (877)
- The impact of PBT membrane grafting with functional groups on platelet  
adhesion and platelet function**  
..... ZHONG Rui, HE Zeng, WANG Hong, et al (880)
- Culture of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord  
without enzymatic treatment**  
..... LI Suping, WANG Zhen, LV Rong, et al (885)
- Characterizations and analysis of 10% IVIG prepared by chromatography**  
..... XING Yantao, LI Cesheng, HU Yong, et al (890)
- Identification of differentially expressed apoptosis-associated miRNA in  
room temperature-stored apheresis platelets by miRNA plate array**  
..... CHEN Qian, LI Chaohong, TAN Lin, et al (893)
- Efficiency of Procleix Ultrio® plus assay in detecting HBV in blood  
donors compared with Procleix Ultrio® Assay**  
..... DENG Xuelian, ZHOU Yaxuan, LIANG Xiaohua, et al (897)

<b>Voluntary blood donors HIV Testing and regression analysis</b> .....	<i>WANG Limei, CHI Quan, LIN Shou, et al</i> (901)
<b>Confirmation and analysis of the cut-off value in anti-HIV and anti-TP ELISA kits for blood donation screening</b> .....	<i>WANG Qingmin, FENG Chenchen, HUANG Chengyin, et al</i> (904)
<b>Analysis of the results in the external quality assessment schemes in medical laboratories</b> .....	<i>ZHANG Wenjing, QIN Jingmin, XU Qun, et al</i> (907)
<b>Analysis of the formula of blood transfusion during cardiac surgery in our hospital</b> .....	<i>ZHAO Xiaoming, WU Wenjuan, YANG Ji</i> (910)
<b>Analysis of surgery blood ordering and intra-operative blood preparation in a hospital</b> ...	<i>JIANG Ting, CHEN Shoumei</i> (914)
<b>The impact of the storage duration of suspended red blood cells on blood transfusion adverse reactions in gynecological patients</b> .....	<i>YANG Bo, LI Xiaofu</i> (917)
<b>Application of electronic crossmatch in clinical in Dongguan city, China</b> .....	<i>HE Ziyi, CHE Jialin, QI Miaohua, et al</i> (920)
<b>Investigation of blood transfusion on <math>\beta</math>-thalassemia children in Nanning and the establishment of a case-specific blood-supply strategy</b> .....	<i>LU Zhuxuan, LI Bin, MO Qihong, et al</i> (924)
<b>Analysis of genetic polymorphism of 7 kinds of red blood group system in Xinjiang Khalkhas blood donors</b> .....	<i>QIAO Yanhui, Yisamuding Wufuer, Tuerhong Kewer, et al</i> (931)
<b>Nucleic acid test analysis of voluntary blood donors in Shunde District of Foshan</b> .....	<i>XIA Chuanyou, LIU Zhiquan, CHEN Yongfei, et al</i> (935)
<b>Application and amendment of the conception of the blood donation rate in every a thousand population</b> .....	<i>CHANG Ying, ZHANG Yan, ZHAO Fengmian, et al</i> (938)
<b>Accurate assessment and analysis of medical cases on blood transfusion</b> .....	<i>WANG Xiaoping, YANG Junqing</i> (941)
<b>Statistical analysis of the questionnaire of the influencing factors of 2 798 Unpaid Blood Donation in Luoyang</b> .....	<i>MA Hongli, LI Huixia, ZHU Lili, et al</i> (944)
<b>The potential risk behind the mutual aid blood donation in Lhasa during 2013–2015</b> .....	<i>Dejizhuoga</i> (946)
<b>Application of the improved method in the collection of stem cells from peripheral blood</b> .....	<i>AN Yuan, REN Shaoqi, YANG Chao, et al</i> (948)
<b>The results of anti-HPA and anti-HLA- I detections in orthopedic patients going to receive blood transfusion</b> .....	<i>LIANG Jing, GUI Xia, ZHENG Shuxian, et al</i> (951)
<b>The identification of ABO blood group and antibody screening of the patient with autoimmune hemolytic anemia</b> .....	<i>LIU Hongbing, LAN Jiongcai, LI Yanying, et al</i> (953)
<b>Implementation and reflection of centralized blood screening of nucleic acid test in Shaanxi province</b> .....	<i>DUAN Yong, GUO Yan, YE Shihui</i> (957)
<b>Establishment and application of clinical blood transfusion evaluation system</b> ...	<i>HE Guixian, HUANG Jie, XIA Qinqin</i> (959)
<b>Reflection and strategies of the publicity of blood donor recruitment</b> .....	<i>XIA Daiquan, CHENG Lei</i> (963)
<b>Research progress on leucocyte depletion filters and combined cell preservation used in obstetric cell salvage</b> .....	<i>YU Chao, GU Juan, LUO Dong</i> (965)
<b>The main recommendations of UK guidelines on the management of haemorrhage in pregnancy and it's inspiration, part 8: the role of emergency and elective interventional radiology in postpartum haemorrhage and Confidential Enquiry into Maternal Deaths</b> .....	<i>GUO Yongjian, MA Chunhui</i> (969)

# 中国输血杂志®

CHINESE JOURNAL OF BLOOD TRANSFUSION

第七届编辑委员会成员名单

Members of the 7th Editorial Board

## 顾问 Consultants

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

## 名誉主编 Honor Editor-in-Chief

郑忠伟 ZHENG Zhongwei 王憬惺 WANG Jingxing

## 主编 Editor-in-Chief

刘忠 LIU Zhong

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

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

## 编委 Members of Editorial Board

中国 (China)

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

外籍 (International)

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

“中国梦”是如今唱响华夏、扬遍全球的洪亮旋律，因其咏诵的主题是“实现中华民族的伟大复兴”，故而成为近代以来国人梦寐以求之最；因其设定了梦想成真的时点或目标（在中共建党100年“全面建成小康社会”、建政100年“建成富强民主和谐的社会主义现代化国家”），故而举国上下、各行各业竞相逐梦：强国梦、强军梦，航天梦、航母梦，四川梦、湖南梦，……在这“世人皆做中国梦，各个都成梦中人”的大环境中，中国“输血梦”以及中国输血人“追梦者”的位置和身份当然也不可或缺！

由于实现中国梦的唯一路径指项（向）是“走中国道路，扬中国精神，聚中国力量”，于是将输血医学这一中国“最新的学科”（一年前才被中国国家标准纳入学科体系）与中医——从“远古”中国走来，体现中国“气质”，如今再次作为中国“软实力”被推向全球——这一世上“最古老学科”相结合，自然成为我们输血人追求和实现“中国输血梦”的最具现实意义或普世感的愿景和目标之一。本期“专家论坛”《创建中西医结合中国特色的输血医学体系》的28名作者（“追梦人”），共倡输血医学中西医结合的必要性、可行性，提出中医与输血医学结合的思路和切入点，以求未来的输血医学打上“中国特色”的烙印。没错，众专家笃定“越是民族的越是世界的”（不管这话是谁说的或是否“政治正确”），青蒿素便被认为是最好的实绩（例）；而现今梦想、梦时、梦境的宏大布景，包括国家推行“全民健保工程建设规划”、“中医药传承创新工程建设项目”等带来的巨额资金，激发了包括输血人在内的医学科研工作者的无穷想象。据说当年屠呦呦们碰到的那种难逢机遇正以新的形式出现，输血医学工作者若能有效发掘中医药宝藏、找准中西医结合面向国家健保大政方针的课题，不但能够“移船靠岸”，而且一定能获得“里程碑式的原始自主创新”成果来。

输血人的中国梦也好，输血医学的中国特色也罢，关键还是要面向国人，立足于国人生长于斯的土地。我们自小便被灌输中国“幅员辽阔”，乃“世界第一人口大国”，然而山区（山地、高原、丘陵）竟占了国土面积的四分之三，在不足国土面积五成的东南地区却居住着九成以上的国人。占据大半壁江山的西部多处在高海拔地区，尤其是“世界屋脊”青藏高原平均海拔4500千米，接近四分之一的国土面积，使我国成为名副其实的高原大国。尽管人口极稀，但在今日（就在此刻），其战略地位不言而喻。高原输血研究因此具备了

得天独厚的优势，高原输血医学因之或可能最先圆梦输血人的“中国梦”也难说。本期“高原输血与高原耐缺氧机制研究专题”及其“专家述评”《初进高原者耐缺氧机制与高原条件下的输血策略》在这方面作了具有说服力的尝试。尽管作者及其研究对象的身份有其特殊性，但研究课题的现实性和普遍意义显而易见：通过对初进高原者的生理、遗传，特别是血液参数指标（因素）的检测分析，旨在使他们的生存及工作能力尽快适应高原环境；进一步将这种适应能力与他们一旦在高原发生（战）创伤时的输血救治相关联，现照国外高原输血的成果，初步归纳出在中国高海拔地区创伤输血的策略。

说中国梦离不开中国人、中国环境，同样离不开的还有国家的大政方针。计划生育直到今日依然是“基本国策”，也确实为“中国特色”；惜乎与之相关的科学研究（这里仅指自然科学研究）时至今日实在是拿不出可资“梦想”的成果，输血从中可起到的作用更是无从计较。自去年国家结束长达36年的独生子女政策，实施“全面二胎”起，孕产妇，尤其是其中高龄者再生育过程中发生的一些事件开始吸引世人的眼球。且不论如此“特殊的”中国，在世界各国，孕产妇死亡率皆是其经济社会发展和人口健康标志之一。产科出血是孕产妇死亡的元凶，而及时、安全的输血却是有效防止孕产妇死亡的一项必要措施。“血液质量管理论坛”专栏的主事者，凭借高度的敏锐性和人文关怀，从本刊去年第1期开始，以《英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示》为题，已经分七期系统精当地介绍了英国（全球孕产妇安全程度最高的国家之一，2015年孕产妇死亡率 $<9/10$ 万，我国则为 $20.1/10$ 万）产科输血、存在红细胞抗体的孕产妇管理、孕产妇血型和红细胞抗体检测、产科术中血细胞回收、产后出血预防和管理、产后出血管理等六个指南（引），本期的《〈急诊和择期介入放射学在产后出血救治中的作用〉和孕产妇死亡保密调查计划》则揭示了英国在救治产科出血、降低孕产妇死亡率的成功所在[多学科密切合作、各种输（止）血新技术的应用以及周密的孕产妇死亡率调查计划的有效实施（其方法学已成为全球的标杆）]；不仅如此，作为系列的“终篇”，其点题最终落在了中国在产科出血管理方面存在的差距上——无相应指南，难以推动产科出血防治的开展——这便是中国输血现实与梦想之间的距离，也是当下输血人可能破局实现中国输血梦的机缘！

## 创建中西医结合中国特色输血医学体系

兰炯采<sup>1</sup> 刘志伟<sup>2</sup> 丁志山<sup>3</sup> 杨成民<sup>4</sup> 蔡辉<sup>4</sup> 李碧娟<sup>5</sup> 陈进凡<sup>6</sup> 桂嵘<sup>7</sup> 郑山根<sup>8</sup> 于笑难<sup>9</sup> 李晓娟<sup>10</sup> 俞颖<sup>11</sup> 朱培元<sup>12</sup> 乐爱平<sup>13</sup> 邢颜超<sup>14</sup> 梁静<sup>15</sup> 栾建凤<sup>16</sup> 张德梅<sup>17</sup> 王秋实<sup>18</sup> 周世乔<sup>19</sup> 易思华<sup>20</sup> 宋小川<sup>21</sup> 李清<sup>22</sup> 桂霞<sup>23</sup> 吕毅<sup>24</sup> 苏品臻<sup>25</sup> 陈玉平<sup>26</sup> 马建川<sup>27</sup> 马艳<sup>28</sup>

(1.南方医科大学 南方医院,广东广州 510515;2.浙江大学医学院附属邵逸夫医院;3.浙江中医药大学;4.中国医学科学院输血研究所;5.中南大学 湘雅医院;6.甘肃中医药大学第一附属医院;7.中南大学 湘雅三医院;8.解放军武汉总医院;9.沈阳军区总医院;10.兰州大学第二医院;11.浙江中医学大学附属第一医院;12.南京中医药大学第三附属医院;13.南昌医科大学第一附属医院;14.解放军乌鲁木齐总医院;15.新疆医科大学第六附属医院;16.南京军区南京总医院;17.太原血液中心;18.中国医科大学 盛京医院;19.南方医科大学 深圳医院;20.兰州大学第一医院;21.新疆医科大学 第一附属医院;22.新疆医科大学附属中医医院;23.新疆自治区肿瘤医院;24.河南大学附属郑州颐和医院;25.云南昆明血液中心;26.江阴力博医药生物技术股份有限公司;27.北京众瑞欣邦科技有限公司;28.云南君度生物科技有限公司)

**关键词:** 输血医学;中医;中西医结合

**中图分类号:** R457.1 R24 **文献标识码:** C **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0855-04

输血源于西方,其理论和技术属于西医<sup>[1]</sup>。虽然中国、中医历来只有“放血”(疗法),没有输血,但是中医对中华民族几千年繁衍生存的保障功不可没,其博大精深的体系,辨证施治的理论和取用不尽中药宝库,早已成为西医(包括输血)有力的补充。

临床输血的主要原因是机体缺血或缺某种血液成分。由于受历史形成的理念、认识以及实践(技术)条件的不同,中医与西医解决患者缺血的立足点迥异、效果各有长短之处——西医立足于输血,这尤其对严重贫血和大出血患者的疗效可谓立竿见影,但同时难免有传播疾病和引发输血反应之虞;中医立足于促进机体自我造血,不输血避免了输血传播疾病和输血反应,但对重危患者却“远水不解近渴”——而不存优劣之比。输血医学发展到当前所提倡的“血液保护”、“限制性输血”、“无血手术”等崭新的输血观念与古老的中医的一些经典理念不谋而合、相互印证。中西医结合,取长补短,输血医学当大有作为,中华民族的传统医学(中医)也将此而焕发出辉煌的生命力。

### 1 输血医学开展中西医结合的必要性

**1.1 从中医角度看输血医学中西医结合的必要性** 据到 2017 年的不完全统计,全国现有中医药大学(或学院)23 所、中医院 3 229 所,后者都有输血科建制或检验科中设有输血专业组,已然是一支庞大的输血队伍,无论是医院,还是输血工作者都迫切希望发挥中医特点,为输血医学做出贡献。各地中医院都有一些名医都有采用中医方法成功治疗贫血、血小板减少、出凝血等疾患的经验或秘方<sup>[2-4]</sup>,已成为我国输血医学的一笔丰富的民族财富。网上检索到 2017 年为止的中医治疗贫血的相关文献达 11 047 篇,但是因各种原因,这些

文献以个人经验、验方、个案者为多,大宗随机病例的前瞻性研究甚少。看似是不少作者对病例的纳入/排除标准不明确,实际却是对照组或对照组的设立不严谨,疗效判定缺乏实验技术的支持,乏于对中药处方中有效成分的分析,这些问题都制约了中医在输血医学中的成果走出国门被国际公认。

中医能否与输血医学成功结合,有赖于其是否经受过规范化科学验证,从而凸显其“普世价值”(国际公认):1)临床验证病例要有明确的诊断标准和纳入/排除标准。2)中医疗效判定需要建立客观的实验室指标。3)中医治疗与输血有关的某些疾病的个案报告要摒弃“患者自发缓解”的观点<sup>[5]</sup>。对中医疗效的评价要设立科学严谨的对照组,排除同时采用的其他治疗方法,尤其是西医药物的作用。4)应用中医疗法要遵守各项法律法规、符合道德伦理规范。5)中医讲究“辨证施治”,中药讲究“君臣佐使”,一副中药有几味、十几味甚至几十味,必须研究阐明其各自的特效成分、辅助成分、分子结构、药物靶标、药物动力学、作用的分子机制、副作用、体内代谢、半衰期、残留量、远期影响等。6)临床试验前要做动物试验。7)验证中医(药)的临床疗效必须是大样本随机病例的前瞻性研究与追踪随访,统计学处理分析不可缺少。只有通过这 8 个方面的考验,中医的临床经验、科研成果才能为他人重复验证并学习、借鉴,也才能走出国门被世界认可和接受。

**1.2 从西医角度看输血医学中西医结合的必要性** 我国的输血医学已经成为国家(标准)认可的临床医学类“二级学科”,在某些领域已经迈入国际先进行列,但是却鲜见原创性的成果——独立、首创的某种理论或(和)某个方法、某类产品——自诩的“成果”多半是对他(国)人“原创性”的修改和填补,充其量只属于外延性的“改良补充创新”。例如国外先报告了某种血液成分(制剂)4℃保存方法、某项试验添加某

试剂量 0.5 mL, 采用单采血浆治疗某种(些)疾病等等, 国人便马上以改良的室温保存方法、试验只添加 0.1 mL 试剂、采用单采细胞治疗……跟进报道(成果)永远无法企及“原创性”的高度。

回顾与输血医学相关的部分“里程碑式原创性成果”: 1) 免疫血液学方面有血型, 如 ABO 血型、Rh 血型、人类白细胞抗原(HLA)、人类血小板抗原(HPA), 凝集试验、吸收放散试验、抗球蛋白试验(AHG)、不规则抗体筛查、微量淋巴细胞毒试验、单克隆抗体、聚凝胺试验、微柱凝胶卡……2) 输血技术方面有塑料输血袋、多联袋, 血细胞分离机, 血液凝固瀑布学说及抗凝剂, 单采血成分治疗、3 种自身输血方法、PCR……3) 输血治疗方面有新生儿溶血病(HDN)的输血、成分输血, 造血干细胞库、脐血库、稀有血型库、血液预警, 血液保护、细胞治疗、精准输血(医疗)……从中见不到任何中国人的名字与之有联系。由此证明我们平时挂在嘴上的众多“成果”不过是上述国外原创性成果的“补充改良”。

屠呦呦获得诺贝尔奖, 凭的是对古代中医典籍中记载的青蒿作用的推陈出新, 采用乙醚提取方法从黄花蒿(臭蒿)中提取出结晶体——原创性的科研成果抗疟新药青蒿素——并经过规范化的科学验证, 先后确定了青蒿素的分子式、分子结构与绝对构型, 从而被国际医药学界认可、被世界卫生组织迅速推广至全球后治愈了无数疟疾患者。试想如果屠呦呦们当初只是利用中药典籍记载的青蒿“绞汁”, 做成冲剂或片剂(如现在市面上众多出不了国门的“中成药”), 或者改良奎宁的剂型及给药方法, 那么国人翘首以盼中国第一个诺贝尔自然科学奖不知还要等待多久!

我国输血医学要取得“里程碑式原创性成果”, 中西医结合可能是最有希望的突破口之一血液学在这方面的成功经验便是很好的启示。中国血液学走出国门的重大标识(成果)——中国医学科学院血液研究所以靛玉红(青黛)治疗慢性粒细胞白血病<sup>[6]</sup>和上海瑞金医院的三氧化二砷(砒霜)治疗早幼粒细胞白血病<sup>[7]</sup>——便都是中西医结合的产物。“中西医结合”早已是我国医学发展的“既定国策”, 输血医学要显示出“中国特色”来, 当然也只能走中西医结合的道路。

## 2 输血医学中西医结合的可行性

随着我国综合国力的增强, 近期国家加大了扶持中医药研发的力度, 国家发改委 2016 年 11 月发布的《全民健康保障工程建设规划》(发改社会[2016]2439 号文), 明确提出, 给予每个“中医药传承创新工程建设项目”1 亿元以内的中央投资补助。输血医学中西医结合的科研课题必须面向国家健保工作的大政方针“移船靠岸”。

如果从“神农尝百草”算起, 应用中草药的历史已逾 4 800 年, 只算有文字记载的中医历史也已超过 3 000 年。从中国第一个统一朝代秦朝到末代王朝满清, 中医各有里程碑式成果, 独特的医学体系蔚然成型, 树立于世界杏林。按照西医(药理)理论和疾病分类方法, 人们已从中医文献典籍中归纳出多种与治疗血液疾病相关的药物或药物成分(这也可视为中西医结合的范例), 包括: 1) 刺激红细胞增生的药物有鹿茸、鸡血藤、紫河车、阿胶, 黄芪、党参等<sup>[8]</sup>; 2) 刺激网织红

细胞增生的药物有鹿茸、鸡血藤、白花舌草等<sup>[9]</sup>; 3) 刺激血小板增生的药物有当归、白芍、生地、紫河车、枸杞、五味子等<sup>[10]</sup>; 4) 刺激白细胞增生的药物有人参、西洋参、黄芪、党参、当归、阿胶、石斛等<sup>[11]</sup>; 5) 刺激骨髓造血的药物有仙灵脾、菟丝子、巴戟天、当归、丹参、黄芪、阿胶、枸杞、雄黄、虫草等<sup>[12]</sup>; 6) 止血的药物有白芨、三七、大蓟、小蓟、山茶花、山念子、木耳、五灵脂、瓦松、牛角鳃、凤尾草、侧柏叶、柿饼、莲房、藕节、乌贼骨、继木、仙鹤草、白茅根等<sup>[13]</sup>; 7) 介导细胞凋亡的药物有雄黄、青黛、砒霜、柴胡、雷公藤等<sup>[14]</sup>; 8) 抑制细胞凋亡的药物有人参、西洋参、丹参、苦参、黄芪、当归、川穹、麦冬、白芍、莪术等<sup>[14]</sup>; 9) 增强免疫应答的药物有鱼腥草、大蒜、桂皮、淫羊藿、白芍、肉苁蓉、人参等<sup>[15]</sup>; 10) 抑制免疫应答的药物有雷公藤、半枝莲、垂盆草、夏枯草、五味子、益母草等<sup>[16]</sup>。散落在浩繁的中医药文献典籍中治疗与输血相关的药物或技术或远不止于此, 但也难免鱼龙混杂, 必须借助现代科学技术方法(从前述 8 个方面去做规范化的科学验证), 去粗取精、去伪存真。

## 3 输血医学中西医结合的有关思路及切入点

**3.1 中医博大精深但与西医理论体系不同** 以对血(液)的认识为例, 中医所谓“心生血”, “气注于肺脉, 气化而为血”, “水谷于脾生化而为血”, “肝生气血”<sup>[17]</sup>, 如果用西医的解剖、生理、生化术语来解释, 可能双方一时半会达不成“共识”; 再如中医称疟疾为“瘴气”, “瘴气乃蛇虫蜈蚣等尸体腐烂化生之毒气”<sup>[18]</sup>, 如果真去纠缠毒虫尸体如何变成虐原虫, 不但耗时无益, 而且恐难以发现青蒿素这一重要成果。把中医成果应用于输血, 关键是在某些理论上求同存异。

**3.2 借鉴其他学科中西医结合成功的案例有助于开启输血医学中西医结合的思路**

**3.2.1 青蒿素治疗疟疾** 东晋时期的阴阳家、医学家、著名道教人士葛洪(283-343 年)在其编撰的《肘后救卒方》(简称《肘后方》)中首次记载了“青蒿一握, 以水二升渍, 绞取汁, 尽服之”治疗“瘴气”<sup>[19]</sup>。其后 1 000 多年该方剂一直作为中国人治疗疟疾的方法。到了 1693 年清朝康熙皇帝“打摆子”, 太医院以此方给其服用却无效, 在华的法国传教士洪若翰献上随身携带的金鸡纳霜粉则药到病除<sup>[20]</sup>。1820 年 2 位法国化学家佩尔蒂埃(Pelletier)与卡芳杜(Caventou)首次从金鸡纳树(原生地南美印加土语名“quina”)树皮中获得萃取物, 将其命名为奎宁(quinine)。二战期间, 美国 Sterling Winthrop 公司合成了氯奎(chloroquine), 药效良好, 至今仍是最重要的抗疟药物。上世纪 60 年代, 越共领导的北越军队在与美军及南越军队作战时, 饱受热带雨林环境中疟疾的肆虐与困扰, 而时有的常用抗疟药物奎宁已出现耐药性且合成成本高, 阿的平则常引起黄染的副作用, 于是向“同志加兄弟”的中共求援。毛泽东主席、周恩来总理遂亲自下令举全国科技之力, 研制抗疟新药(因在 1967 年 5 月 23 日召开疟防药物研究协作会, 便得名“523 项目”)。在随后的 14 年里, 来自全国 60 家军地机构的 500 名顶级科学家参加协作攻关。中国中医研究院的屠呦呦团队于 1969 年加入, 他们从 2 000 余种中药中筛选出 640 余种可能具有抗疟活性的药

方,并以此所涉的 200 余种植物制成 380 多种提取物,在其他团队的大力帮助下,发现黄花蒿(药用青蒿)有效而本(学)名青蒿者却无效。进一步他们摸索出低温乙醚法提取黄花蒿叶片,并最终从提取物中分离出 1 种无色晶体且测定了其熔点和分子量。在国内另外 2 家药研机构独立重现了这一实验后,该结晶体后被命名为青蒿素,并在 1973 年 9 月首次应用于临床。1975 年初中国中医研究院与中科院上海有机所共同确定了其分子式,是年底中科院上海生物物理所确定了其分子结构和相对构型,随后确定了绝对构型。1981 年 10 月,在北京召开的 WHO 等主办的国际青蒿素会议上,屠呦呦首作《青蒿素的化学研究》报告。2015 年年屠呦呦因发现青蒿素而获得该年度诺贝尔生理学医学奖<sup>[21]</sup>。

上述“絮语”旨在说明:1) 历史久远的中医中药蕴藏着珍贵的宝藏和无限的潜能,但不宜生搬硬套照抄中医古方;2) 治疗疟疾西药有特效药物奎宁、氯喹等,但是青蒿素对中医中药的传承创新同样给疟疾患者带去了福音;3) 只有用西医科学思路挖掘中医宝藏才能得到世界公认。

**3.2.2 靛玉红治疗慢性粒细胞白血病与三氧化二砷治疗早幼粒细胞白血病** 1) 上世纪 60 年代,中国医学科学院血液病医院杨天楹、吴冠芸等发现金代人刘完素著的《黄帝素问宣明论方》中治疗“清血热”的中药汤头“当归芦荟丸”(汤头包括大黄、栀子、青黛、当归、芦荟、甘草等 11 味中药)对慢性粒细胞白血病有一定疗效,经过大量的临床试验,从该古方汤头中筛选出起作用的青黛,再用乙酸乙酯从青黛中提出其中有效成分靛玉红,经过进一步的药物作用机制研究和临床验证后,其治疗慢性粒细胞白血病的临床效果得到国内外学术界公认<sup>[22]</sup>。2) 1971 年暮秋,有人向黑龙江省肿瘤防治办公室反应,林甸县民间流传“以毒攻毒偏方”癞蛤蟆加轻粉和砒霜治疗淋巴结核和某些癌症有效果,这一传闻引起上海瑞金医院的王振义、陈竺师徒二人的高度重视,他们开始了大量的实验,最终从该“偏(秘)方”中提炼出有效成分三氧化二砷,并阐明了其治疗早幼粒细胞白血病分子机理,通过了经临床验证,2012 年全美癌症研究基金会的癌症研究创新成就奖授予陈竺、王振义 2 位中国医学科学家<sup>[23-24]</sup>。这 2 个成果的启示是:1) 借用西医科学理论/技术对中医古方去粗取精、去伪存真,才能取得创新性成果;2) 研究中医治疗方剂(法)及民间“有效”单(偏)方并加以“西医化”的改造仍然可能获得重大成果;3) 临床医院在中西医结合的治疗方向更明确,双方的碰撞更易产生火花(成果)。

**3.3 输血医学中西医结合的切入点** 中医的相关研究在输血医学领域“大有用武之地”,关键是二者充分交流、平等对话。

**3.3.1 将中医对抗细胞凋亡研究所取得的技术成果服务于临床输血** 近年来我国中医界研究抗细胞凋亡所采用的技术与取得的成果都已达到分子水平<sup>[25-26]</sup>。红细胞遗传缺陷的贫血与细胞凋亡有关,慢性再生障碍性贫血也与造血前体细胞凋亡有关<sup>[27]</sup>。西医常规治疗这类疾病离不开长期输血,还有促红细胞生成素治疗,前者往往因时常发生的临床供血短缺而使患者延误了治疗,后者则因价格贵副作用大而限制了其临床应用;另有基因治疗尚处于探索阶段<sup>[28]</sup>。临

床输血从抗细胞凋亡的思路着眼,引进中医机构在这方面所取得的技术成果,将有助于减少慢性再生障碍性贫血、红细胞遗传缺陷的贫血等患者的输血量,输血医学在中西医结合的良性互动中势必得到质的提升。

**3.3.2 将中医应用于调节免疫应答所取得的成果用于安全输血**

**3.3.2.1 把中医(药)中抑制补体活化的药物/技术用于预防输血反应** 溶血性输血反应的经典理论是红细胞血型不相容的输血,抗原与抗体结合,激活补体( $C_3$ 、 $C_5$ ),形成“炮弹”对红细胞“打孔”,导致溶血<sup>[29]</sup>。国外学者的研究显示,对已经发生血型不相容的输血反应,立即采取抑制补体活化的措施,可预防临床发生溶血,并已有治疗成功的案例报告<sup>[30]</sup>。药理学实验证实中药中有不少抑制补体活化的药物,如杜仲、半枝莲、野木瓜、香菇多脂、鸭柘草与核桃楸等<sup>[31]</sup>。研究验证这些药物切断/抑制补体活化途径,有助于临床预防溶血性输血反应的发生。

**3.3.2.2 把中医(药)中具有调节免疫应答作用的药物/用于输血相关领域** 1) 抗器官移植排斥反应的中药有:雷公藤、虫草、青风藤、山茱萸、川穹、茯苓、细辛等<sup>[32]</sup>。2) 调节免疫应答方面的不少中药在增强免疫应答和抑制免疫应答方面都有作用<sup>[33-34]</sup>,而目前临床常用的西医调节免疫应答的药物或者效果不明显、或者副作用大<sup>[35]</sup>;比如把雷公藤,半枝莲,垂盆草,夏枯草,五味子,益母草等中药用于预防新生儿溶血病(HDN)<sup>[36]</sup>,或可抑制 RhD(-)个体被 RhD(+)红细胞血免疫,减少特殊情况输异型血时产生免疫应答或输血反应的风险……有望使输血医学结合中医治疗疾病取得原创性成果。

**3.3.2.3 把中医中具有抗超敏反应作用药物用于临床输血** 现已知益母草、鸡血藤、红花、丹参、当归、女贞子、牡丹皮、金钱草和青蒿素等中药具有抗超敏反应的作用<sup>[36]</sup>。2016 年 SCIENCE 杂志公布的 125 个最具挑战性前沿课题,排在第 20 位的便是“我们能否选择切断某些免疫反应”<sup>[37]</sup>。溶血性输血反应、HDN、AIHA、药物引起的溶血性贫血或血细胞减少都属于超敏反应,西医现有治疗手段和药物对此缺少有效办法。尝试将中医(药)中的抗超敏反应药物解决上述棘手的疾病<sup>[38-39]</sup>,从切断超敏反应入手或能破解 SCIENCE 杂志提出的课题,真能做到的话当然就是“原创性成果”。

**3.3.2.4 把中医中促血细胞生长的药物用于造血功能正常的慢性贫血患者的治疗** 西医已有效应用于临床的促血细胞生长因子有促红细胞生成素(EPO)、血小板生长因子(PDGF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)等,但它们都存在各自的副作用。像 EPO 适用于慢性肾衰性贫血、癌症贫血化疗/放疗贫血以及早产儿贫血等多种贫血症的治疗,但也常伴有高血压、高血压脑病、流感样症状和血栓形成等不良反应。据称具有刺激红细胞生长的中药有鹿茸、鸡血藤、紫河车、阿胶、黄芪和党参等,刺激骨髓造血的药物有仙灵脾、菟丝子、巴戟天、当归、丹参、黄芪等。如果像当年研究青蒿素一样,对这些中药药物加以规范化的科学考(验)证,从中甄选出类似 EPO 功能的药物,就是 1 项自主创新成果,其意义在于:1) 减少临床用血,缓解季节性、地区性或(和)偏型性;

2) 避免血型不合溶血、传播疾病等输血风险。

上面提出输血医学中西医结合 4 个切入点, 仅仅是我们管窥蠡测, 抛砖引玉, 还需要中医界和西医界广大同行参与研讨, 集思广益, 以便发现更恰当的切入点。

#### 4 创建中国特色的输血医学体系

我国地大物博, 有 56 个民族, 不少民族在历史长河中把本民族文化和本地区天然医药资源(植物、动物、矿物)结合, 创建了自己的民族医学体系(藏医、蒙医、维医、傣医等)。尽管其中没有系统输血理论和技术, 但可以从中找出为输血医学服务的切入点, 把民族医学与输血医学结合, 不但会有更具特色的创新, 而且对于提高民族地区医疗水平, 加强民族团结都有深远的意义。

把中医丰富的宝藏开发出来为输血医学服务列为我国输血医学学科建设方向之一, 努力创建中国特色输血医学体系, 一定能获得“里程碑式的原始自主创新”成果, 在世界输血史上谱写出新的篇章!

#### 参 考 文 献

[1] 刘景汉, 庄远. 绪论//刘景汉, 汪德清. 临床输血学. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 2-3.

[2] 杨小梅, 叶蜀晖, 李艳华. 八珍汤治疗癌性贫血探究. 亚太传统医药, 2017(9): 41-42.

[3] 罗秀素. 生血汤治疗原发性血小板减少性紫癜 176 例. 河北中医, 1997(03): 18-18.

[4] 李军英. 红参大枣汤冲服三七粉合并局部冷敷联合缩宫素治疗产后出血疗效观察. 亚太传统医药, 2017, 13(9): 140-141.

[5] 邓家栋. 临床血液学. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 482, 1323.

[6] 冀中, 杨天楹, 李康, 等. 试论靛玉红治疗慢性粒细胞白血病的研究方法. 医学与哲学, 1984(5): 24-26.

[7] 刘志学. 王振义、陈竺获圣捷尔吉癌症研究创新成就奖, 张茅致贺信. 中国医药导报, 2012(6): 1-1.

[8] 王虹, 刘屏, 戴畅, 等. 同名异种鸡血藤对 60Co $\gamma$  射线辐射小鼠外周血象的影响. 中西医结合学报, 2007, 5(2): 189-192.

[9] 王洪波, 房磊. 鹿茸多肽对低氧训练下小鼠红细胞的影响. 吉林农业科技学院学报, 2011, 20(1): 8-9.

[10] 李跃, 刘彩霞. 白芍合剂对慢性特发性血小板减少性紫癜患者血小板计数的影响. 世界中西医结合杂志, 2015(2): 220-222.

[11] 刘小宇, 张欣荣. 浅谈升白细胞中药的有效成分. 药学实践杂志, 1996(5): 266-269.

[12] 陈海琳, 张福鹏, 周永明. 骨髓造血微环境及中药调控作用研究进展. 中成药, 2010, 32(7): 1183-1188.

[13] 何希瑞, 樊鹏程, 李茂星, 等. 常用止血中药及其止血机制研究进展. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 217-221.

[14] 杨永勤, 李素芝. 中药对细胞凋亡作用的研究进展. 西南军医, 2003, 5(6): 31-33.

[15] 胡元亮. 中药增强免疫剂最新研究成果发布. 北方牧业, 2009(20): 30-30.

[16] 钟传青, 曹广祥. 中药来源的免疫抑制剂. 药学研究, 2007, 26(6): 359-360.

[17] 崔姗姗, 崔应珉, 张笑丽. 从五脏功能谈血的生成. 中医学报,

1995(1): 2-4.

[18] 张志庸. 张景岳医学全书. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 1041-1045.

[19] 陈永灿. 葛洪及其《肘后备急方》. 浙江中医杂志, 2016, 51(12): 918-919.

[20] 于静宜. 青蒿素发明前康熙的疟疾是怎么治好的. 三亚日报, 2015-10-1.

[21] YY Tu. The development of new antimalarial drugs: Qinghaosu and dihydro-qinghaosu. Chinese Medical Journal. 1999, 112(11): 17-18.

[22] 冀中, 杨天楹, 李康, 等. 试论靛玉红治疗慢性粒细胞白血病的研究方法. 医学与哲学, 1984(5): 24-26.

[23] 王思力, 赵辉, 韩忠朝. 三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病的机制及方法. 临床血液学杂志, 2005, 18(3): 190-191.

[24] 刘志学. 王振义、陈竺获圣捷尔吉癌症研究创新成就奖, 张茅致贺信. 中国医药导报, 2012(6): 1-1.

[25] 杨永勤, 李素芝. 中药对细胞凋亡作用的研究进展. 西南军医, 2003, 5(6): 31-33.

[26] 蒋佩佩, 卞茂红. 红细胞凋亡在贫血相关疾病中的作用. 国际输血及血液学杂志, 2016, 39(3): 256-259.

[27] 刘清池, 梁冰, 武永吉. 造血前体细胞凋亡与再生障碍性贫血. 临床与病理杂志, 2001, 21(5): 384-385.

[28] 阎石. 血液病与输血//刘景汉, 汪德清. 临床输血学. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 260-263.

[29] Strobel E. Hemolytic transfusion reactions. Transfusion Medicine and Hemotherapy. 2008; 35: 346-353.

[30] Weinstock C, Möhle R, Dorn C, et al. Successful use of eculizumab for treatment of an acute hemolytic reaction after ABO-incompatible red blood cell transfusion. Transfusion. 2014 Sep 23. doi: 10.1111/trf.12882. [Epub ahead of print]

[31] 吴彦, 吴甘霖. 半枝莲多糖抗补体活性研究. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(5): 49-52.

[32] 叶鹏. 中药抗器官移植排斥反应的研究进展. 当代医学, 2011, 17(7): 19-20.

[33] 胡元亮. 中药增强免疫剂最新研究成果发表. 北方牧业, 2009, 8(20): 30-30.

[34] 钟传青, 曹广祥. 中药来源的免疫抑制剂. 药学研究, 2007, 26(6): 359-360.

[35] 镁日斯, 吴二平, 周美卉, 等. 中药茵芪合剂降低新生儿溶血病发病率的临床研究. 中华中医药学刊, 2006, 24(8): 1486-1487.

[36] 朱平, 林文棠. 实用临床免疫学. 北京: 高等教育出版社 2008: 554-555.

[37] Jon Cohen. Can We Selectively Shut Off Immune Responses. SCIENCE, 2005, 309(7): 97-97.

[38] 缪频, 朱桂莲. 中药治疗 ABO 溶血临床疗效观察. 中华中医药学刊, 2016(3): 757-759.

[39] 许毅, 周韶虹, 胡明辉, 等. 黄振翘教授治疗自身免疫性溶血性贫血案举隅. 上海中医药大学学报, 2005, 19(2): 3-4.

[40] 汪德清. 造血生长因子的临床应用//刘景汉, 汪德清. 临床输血学. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 108-116.

(2017-07-11 收稿, 08-23 修回)

本文编辑: 夏玲

## 初进高原者耐缺氧机制与高原条件下的输血策略\*

李翠莹<sup>△</sup> 李小薇(空军总医院 输血科,北京 100142)

**摘要:**高原环境中的低压低氧、寒冷干燥及紫外线强等均是对机体不利的因素,平原人群进入高原难免发生一系列生理改变。平原人群在高原地区负(战、创)伤时,不仅表现为失血耐受能力降低、易发生休克,而且对液体耐受能力更小,使得脑水肿、肺水肿、右心功能不全以及多器官衰竭等较易发生。失血是导致伤者的这些病状,乃至死亡的关键原因,而输血治疗也成为高原战创伤救治中更重要的手段。本文首先对本期“高原输血专题”中涉及的平原人群进入高原后血常规变化、高原适应基因表达改变、红细胞形态及携氧功能差异等方面研究作了评述,并分析总结了其中的变化规律及意义,以提高平原人群高原习服适应能力;其次针对高原低氧环境下藏、汉族人群发生高原战创伤时异于平原地区人群的特征,概述了有关高原失血性休克患者的输血策略、特点及其救治的研究进展,分析了高原适应机制与之的相关性;最后针对高原输血目前存在的困窘与亟待解决的问题,提出并探讨了自己的高原的输血策略。

**关键词:**高原输血策略;高原低氧适应;失血性休克;失血耐受;高原适应基因;红细胞形态;红细胞携氧

**中图分类号:**R457.1 R135.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0859-04

**Anti-hypoxia mechanism and blood transfusion strategies for new arrivals on plateau** LI Cuiying, LI Xiaowei Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China Corresponding author: LI Cuiying

**Abstract:** There are some adverse factors, such as hypobaric hypoxia, cold drying and strong ultraviolet radiation, in the plateau environment. A series of physiological changes will occur in the plain population when migrating into plateau. The plain population is characterized by low blood loss tolerance, easy to shock, small tolerance to fluid, easy to occur brain edema, pulmonary edema, right heart failure and multiple organ failure when the trauma occurs after rush entry into plateau. Blood loss results in these symptoms mentioned above, and even death, thus blood transfusion is a more important strategy for trauma treatment. In order to improve the hypoxia acclimatization of plain people, we first commented on the changes of the blood routine, the hypoxia gene expression, the red blood cell morphology and the oxygen delivering capacity differences after the plain people rush entry into plateau, and analyzed and summarized the rule and significance of these changes. Then, according to the different characteristics between Tibetan and Han population after trauma occurred, we summarized the treatment of hemorrhagic shock, and analyzed its correlation with the plateau adaptive mechanism. Finally, in view of the current problems and difficulties of blood transfusion in the Tibetan Plateau, we explore the plateau adaptive mechanism and the blood transfusion strategy under the plateau condition.

**Key words:** plateau transfusion strategy; high altitude hypoxia adaptation; hemorrhagic shock; blood loss tolerance; high-altitude adaptation gene; red cell morphology; red cell oxygen delivering capacity

我国的高原多位于西部,面积广阔、平均海拔高、居住着多个少数民族,在西部大开发及“一带一路”的格局和背景下,其战略地位更显得尤为重要。但高原地区“低压低氧、空气稀薄,日照充足、紫外线辐射强,低温风大、气候干燥”等相对恶劣的因素,不仅对新进高原的各路人员适应环境、生产生活、作训演练等活动产生不利影响,严重者生命健康也受到威胁。为此,我们一方面通过课题研究和文献复习,总结对比了藏-汉族人高原适应能力的差异,并对平原人群进入高原前后的血液参数、高原适应基因、红细胞形态及携氧功能等方面的改变及其意义做了分析,旨在提高平原人群进入高原后的适应、生存及工作能力;另一方面,梳理了目前国内

外高原输血的研究成果,探讨了平原人群对高原的适应能力与高原输血策略的相关性,归纳出战创伤在高原(低氧环境)与平原(正常环境)中不同的输血策略。

## 1 人的高原适应机制

**1.1 藏族与汉族在适应高原过程中的血液参数变化及其机制** 高原对机体最大的威胁是氧分压较低,引起各个系统机能紊乱,产生相应症状,导致发生“高原反应”。但人体是一个复杂的有机体,对环境具有较强的适应能力。高原低氧环境对平原人群血液系统的影响,主要是对红细胞(RBC)计数、白细胞(WBC)计数以及血红蛋白(Hb)浓度的影响<sup>[1]</sup>。处于高原低氧环境时,机体可通过提高血液中的RBC和Hb来满足各个组织脏器的氧供,且这种提高往往与海拔高度及进入高原的时间长短等有关<sup>[1]</sup>。这也是高原习服的重要机制之一<sup>[2]</sup>。我们研究发现从平原进入海拔4 300 m地区3个

月,人 RBC 和 Hb 代偿性增高,白细胞分类中淋巴细胞和单核细胞计数明显增加,血小板计数(Plt)和血小板压积亦有明显升高<sup>[3]</sup>。其可能的调控机制是:1)机体处于高原低氧环境下,RBC 和 Hb 增加一方面可通过肝、脾等脏器的代偿,另一方面可通过缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)表达升高,刺激红细胞生成素(EPO)合成与释放增加<sup>[4]</sup>。2)高海拔影响从平原新来者的外周血淋巴细胞的比例和脆性,影响其机体免疫功能<sup>[5]</sup>。3)高原低氧环境下 EPO 合成与释放增加,可能促进血小板生成<sup>[6]</sup>,相反促血小板生成素(TPO)升高亦与红细胞生成有关<sup>[7]</sup>,具体机制有待进一步研究。

除了上述血液参数中 Hb 浓度的变化,Hb 结构的改变亦与高原低氧适应密不可分。目前已经发现多种珠蛋白  $\alpha$  和  $\beta$  链变种与氧的结合能力明显提高,其被称为高氧亲和力变种<sup>[8]</sup>。Jessen 等<sup>[9]</sup>利用定点诱变方法使珠蛋白  $\alpha$  链第 119 位脯氨酸被丙氨酸所取代, $\beta$  链第 55 位亮氨酸被丝氨酸所取代,导致 2 个氨基酸之间的间隙增大,空间构型发生变化,使得 Hb 与  $O_2$  亲和力明显增加。另有研究发现 1 名藏族人的编码珠蛋白  $\beta$  链第 143 位密码子 CAC 突变为 CGC,相应氨基酸由组氨酸变为精氨酸(高氧亲和力变种),利于高原低氧环境下 Hb 与  $O_2$  的结合<sup>[10]</sup>。

总之,现有研究成果表明高原低氧环境下藏、汉族表现出不同的适应机制。世居藏族人群在世代进化压力下,RBC 和 Hb 等水平并未增加,但存在 Hb 高氧亲和力变种等遗传特性,以适应低氧环境;而平原汉族人群主要通过 RBC、Hb 及 Plt 等应激性代偿增加满足机体生理需求,适应低氧环境。低氧条件下,平原人群是否存在 Hb 高氧亲和力变种仍值得继续研究。

**1.2 高原低氧对红细胞携氧能力及细胞形态的影响** 平原人群刚进入高原低氧环境,呼吸频率和深度增加、心率加快,红细胞携放氧( $P_{50}$ )能力和红细胞形态变化、血氧饱和度( $SPO_2$ )下降等<sup>[11]</sup>。随着海拔不断升高,红细胞内 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)逐渐增加, $P_{50}$ 升高,Hb 氧亲和力降低, $SPO_2$ 下降。随着高原习服时间的延长,机体酸碱平衡恢复,红细胞内 2,3-DPG 含量下降, $P_{50}$ 降低, $SPO_2$ 增加。Balaban 等<sup>[12]</sup>发现平原人、高原习服者(进入高原 2-3 周)和高原世居者(印第安人)体内氧解离曲线  $P_{50}$  值分别为 30.8、24.8 和 26.5 mm Hg,高原习服者和高原世居者与平原人相比发生左移,Hb 与氧亲和力增加,使其在肺部结合更多氧分子,维持动脉血氧饱和度。

常氧浓度下,红细胞通过糖代谢产生 ATP 和 2,3-DPG 等代谢产物,维持正常双凹圆盘形态;一旦机体发生缺氧,Hb 会通过过渡态转变为 T 型,一部分 NO 从  $\beta^{93}$  半胱氨酸释放后被 Hb 自我捕获,造成 NO 无法正常解离,血管舒张受限,加重缺氧程度,进而影响红细胞形态<sup>[13]</sup>。血液中 NO 合成的关键酶是内皮型一氧化氮合酶(eNOS),现已证实 eNOS 编码基因的转录是由 HIF2 $\alpha$  与 heNOS 启动子上 2 个相邻的缺氧反应元件(hypoxia response element, HRE)相互作用诱导<sup>[14]</sup>。Yi 等<sup>[15]</sup>研究提示内皮 PAS 结构域蛋白 1(endothelial PAS domain protein 1, EPAS1)基因可能增强 eNOS 表达,进而引起 NO 水平升高。另外,缺氧可引起  $K^+$  外流、 $Ca^{2+}$  内流,造成细

胞内  $Ca^{2+}$  浓度增加,且  $Ca^{2+}$  是胞内很多 ATP 酶、蛋白酶和磷脂酶的激活剂,直接参与多项细胞生理活动,ATP 分解增加而合成减少,导致能量匮乏<sup>[16]</sup>。同时蛋白酶和磷脂酶激活后,红细胞膜结构遭到破坏,变形能力降低。一言以蔽之,ATP、2,3-DPG、NO 和  $Ca^{2+}$  等均参与调节红细胞形态和携氧功能。平原人群初进高原后红细胞携氧功能及形态差异可能与个人体质、 $P_{50}$  值、2,3-DPG 浓度、NO 和 ATP 水平,及 EPAS1 基因(HIF2 $\alpha$ )表达等多方面因素相关。

**1.3 高原耐缺氧基因改变** 基于高原低氧环境下的全基因组芯片扫描发现 HIF 通路中的 EPAS1 和 EGLN1 基因序列变异在藏、汉族中存在明显差异,且这种变异与藏族入低 Hb 水平密切相关<sup>[17-19]</sup>。Xu 等<sup>[17]</sup>检测藏、汉族全基因组中 100 万个 SNPs 发现 EPAS1 基因中 25 个 SNPs 和 EGLN1 基因 6 个 SNPs 与高原适应相关,其构成的单体型在藏族中明显高于平原人群。另外,1 项中美学者的合作研究在 70 名藏族入中发现 EPAS1 基因 31 个 SNPs 存在连锁不平衡且与 Hb 浓度相关,主要等位基因纯和突变比杂合突变携带者平均 Hb 浓度降低 0.8 g/dL<sup>[19]</sup>。我们此前的研究同样证实了西藏藏族入 EPAS1 基因 rs13419896 和 rs1868092 等位基因 A 频率(84.6%)明显高于平原汉族(16.7%);同时发现汉族人群初进高原前、后,在 Hb 差值 < 35 g/L、RBC 差值 <  $1 \times 10^{12}$ /L 和红细胞比容(Hct)差值 < 0.1(差值 = 进高原后值 - 进高原前值)的人当中,携带 A-A 单体型(rs13419896 和 rs1868092)者的频率明显高于 Hb 值差值  $\geq 35$  g/L、RBC 差值  $\geq 1 \times 10^{12}$ /L、Hct  $\geq 0.1$  的人( $P < 0.05$ , OR 0.032, 95%CI 0.003-0.382),提示 A-A 单体型者既能更好地适应高原低氧环境,又能降低自身血液黏滞度,利于高原低氧适应<sup>[20]</sup>。

除了基因突变的差异,基因表达水平在藏、汉族中亦有明显不同。Petousi 等<sup>[21]</sup>研究发现藏族入外周血淋巴细胞中 EPAS1 基因表达水平明显低于平原人群( $P < 0.05$ ),而 EGLN1 差异甚微。Peng 等<sup>[22]</sup>的研究则显示携带高原适应变异基因的藏族入脐带内皮细胞和胎盘中 EPAS1 基因表达水平明显低于未携带者;推测可能的调控机制是:1)藏族入人群世代居住在低氧环境下,对低氧压力反应迟钝,故 EPAS1 基因表达水平更低,RBC 和 Hb 均未见增加;2)携带高原适应变异基因的人群,对低氧反应亦迟钝,故 EPAS1 基因表达水平低于未携带变异基因者。一部分平原汉族入人群初进高原会发生严重的高原反应,分析除了个体差异外,可能还与不同遗传背景(EPAS1 基因序列变异及表达差异、Hb 高氧亲和力变种等)有关。因此,平原人群进入高原前,如在高原地区承担基建项目的员工和参加作训演练的军人,建议提前筛查 EPAS1 等基因序列变异状态及表达水平等,以预防急性高原病发生。

## 2 高原输血策略

**2.1 高原战、创伤特点** 高原战创伤休克是驻守高原地区部队减员的重要原因之一,但国内外公开的报道较少。1 项对平原作战与高原作战伤票分析发现,前者创伤性休克比例为 6%,后者则高达 12%,增加了 100%;对比揭示(解释)了原因:前者的失血性休克比例为 39%,后者却高达 71%,增加

了 82%<sup>[23]</sup>。目前国内外对高原创伤休克特点的共识是:伤(病)者失血耐受能力低,易发生休克,失血 300–500 mL 即可能休克;液体耐受能力小,易发生脑水肿、肺水肿及右心功能不全;多器官衰竭发生早;死亡率高等<sup>[24]</sup>。1 项对美军战伤死亡原因的回顾性研究分析显示,在因战伤死亡的伤员中,有 48.6% 可能原本就无法挽救,而 51.4% 有可能救活的伤员中,仍有 80% 死于重度出血<sup>[25]</sup>。可见,失血是导致战创伤死亡的关键原因,而输血治疗是战、创伤救治的重要手段。故在高原地区储备血液,有针对性地开展适合于高原输血的血液采集、供应和储存的研究,对于我国这样 1 个高原大国(仅青藏高原就占国土总面积的 26%),特别是在当下国家经济建设重心西移,西部的战略地位凸显的背景下已成为迫在眉睫的热点和重点。

**2.2 身处高原的不同人群液体耐受差异** 目前国内外战、创伤休克的研究主要来自并针对军方,无论平时发生创伤休克,国内外都主要采用限制性液体复苏、延迟性液体复苏、低温复苏和损伤控制复苏等方法,维持平均动脉压 70 mmHg 下严格控制输血量<sup>[26]</sup>。在高原低氧等特殊环境下,不同人群的创伤休克伤员复苏方案存在差异。如世居高原的藏族人早期可输入 0.5 倍出血量的胶体液,晶胶比约为 4 : 1,耐受快速输液;移居高原人群耐受的晶体液为 1.5–2 倍出血量,晶胶比约为 2 : 1,总量 ≤ 3 倍出血量,输液宜先快后慢;急进高原人群耐受晶体液为 1–1.5 倍出血量,晶胶比约为 1 : 1,总量 ≤ 2.5 倍出血量,慢速输注<sup>[24]</sup>。还有研究提出不同人群出现创伤休克时输血治疗策略亦有所不同:急进高原人群的输血量应是 1/3–1/2 倍出血量,移居高原者则为 1/4–1/3 倍出血量,均高于世居高原藏族人群的 1/5–1/4 倍出血量<sup>[27]</sup>。由此可见,平原急进高原者受伤失血耐受能力低,液体耐受能力更低,故选择高携氧能力的血液对于其后续治疗十分重要。

**2.3 高原战创伤输血策略** 据报道美军战时血液保障体系的输血救治等级分为三级,战备血液主要以冰冻血制品为主<sup>[28]</sup>;我军至今尚未明确战时输血救治等级,战备血液只有通用悬浮红细胞和通用新鲜冰冻血浆,亦无冰冻血液制品<sup>[28]</sup>。目前国内外战备血液储存库主要依据平原的战时特点建立,以 O 型红细胞为主。这种单一的血液成分并不完全适合急进高原的各类人员,尤其是我军高原习服训练时发生创伤性休克的伤病员的输血治疗。因为对于各类急进高原的人群而言,为适应低氧环境,其红细胞和血红蛋白必然代偿性增加;进入的海拔高度越高,时间越长,其 RBC、Hb、全血比黏度、血浆比黏度等增加得越明显。若在高原创伤性休克早期只能输入单一的 O 型红细胞,可能有时不但难以缓解病情,甚至会造成受血者出现红细胞过度增多,致使血液黏稠度加大,血流缓慢,反而加重组织缺血、缺氧及整个病情。因而只有合理有效地输入高携氧能力的血液成分,才能缓解急进高原受血者机体缺氧症状、降低其循环负荷,还可以减少输血量、改善微循环——由此说明高原输血治疗的关键是如何选取何种高携氧能力血液及其成分。

本期“高原输血专题”是我们课题组前期开展的一系列初进高原者适应高原环境相关研究的部分结果,初步得出的

结论是:平原人群进入高原前后 Hb 差值 < 35 g/L,变化的 RBC <  $1 \times 10^{12}$  /L, Hct < 0.1 时,其具有较好的高原低氧适应能力;而携带耐缺氧基因 *EPAS1* 突变(A-A 单体型)的人既能适应高原低氧环境,又可以使血液黏滞度不升高,更能够适应高原低氧环境。相信这一研究对于筛选高携氧能力的血液用于高原输血具有一定的参考价值。

## 参考文献

- [1] 王艳艳, 吴丽娟. 高原低氧环境对驻训人员外周血细胞的影响. 国际检验医学杂志, 2015, 36(19): 2817-2818.
- [2] 张倩, 官立彬, 白志川, 等. 血红蛋白与高原习服适应的研究进展. 重庆医学, 2014, 43(06): 753-755+757.
- [3] 肖军, 李小薇, 雷慧芬, 等. 高原环境对外周血细胞的影响. 中国输血杂志, 2017, 30(8): 870-872.
- [4] Franke K, Gassmann M, Wielockx B. Erythrocytosis: the HIF pathway in control. Blood, 2013, 122(7): 1122-1128.
- [5] 陈亚妮, 王延琦, 万红, 等. 高原高寒环境对人体功能的影响及预防. 职业与健康, 2014, 30(10): 1409-1412.
- [6] 涂强. 红细胞生成素对血小板体外生成的影响. 基础医学与临床, 1990, 10(04): 27-30.
- [7] 裴雪涛, 王立生, 徐黎, 等. 血小板生成素对 CD34<sup>+</sup>造血祖细胞的协同扩增作用. 实验血液学杂志, 1997, 5(03): 229-235.
- [8] 张英. 高原环境血红蛋白变化的若干研究. 高原医学杂志, 2008, 18(02): 62-64.
- [9] Jessen TH, Weber RE, Fermi G, et al. Adaptation of bird hemoglobins to high altitudes: demonstration of molecular mechanism by protein engineering. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(15): 6519-6522.
- [10] 董宏彬, 聂鸿靖, 何贵祥, 等. 高原世居藏族  $\alpha$ 、 $\beta$  珠蛋白编码基因的克隆与测序. 高原医学杂志, 2005, 21(04): 196-199.
- [11] 丁丽, 柏维尧, 柯涛, 等. 高原低氧习服研究进展. 实用预防医学, 2015, 22(03): 379-382.
- [12] Balaban DY, Duffin J, Preiss D, et al. The in-vivo oxyhaemoglobin dissociation curve at sea level and high altitude. Respir Physiol Neurobiol, 2013, 186(1): 45-52.
- [13] Doctor A, Platt R, Sheram ML, et al. Hemoglobin conformation couples erythrocyte S-nitrosothiol content to O<sub>2</sub> gradients. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(16): 5709-5714.
- [14] 薄磊, 赵志文, 刘金秀, 等. 高原适应性的基因学研究进展. 第二军医大学学报, 2014, 35(10): 1126-1132.
- [15] Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. Science, 2010, 329(5987): 75-78.
- [16] 杜彦茹, 赵砚丽. 红细胞生化特性与形态功能的关系. 河北医药, 2008, 30(2): 216-217.
- [17] Xu S, Li S, Yang Y, et al. A genome-wide search for signals of high-altitude adaptation in Tibetans. Mol Biol Evol, 2011, 28(2): 1003-1011.
- [18] Peng Y, Yang Z, Zhang H, et al. Genetic variations in Tibetan populations and high-altitude adaptation at the Himalayas. Mol Biol Evol, 2011, 28(2): 1075-1081.
- [19] Beall CM, Cavalleri GL, Deng L, et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2alpha) associated with low hemoglobin concentration in

Tibetan highlanders. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(25): 11459-11464.

[20] 李翠莹, 李小薇, 刘娟, 等. EPAS1 基因不同单体型与高原低氧适应的相关性研究. 中国输血杂志, 2017, 30(8): 863-866.

[21] Petousi N, Croft QP, Cavalleri GL, et al. Tibetans living at sea level have a hyporesponsive hypoxia-inducible factor system and blunted physiological responses to hypoxia. J Appl Physiol (1985), 2014, 116(7): 893-904.

[22] Peng Y, Cui C, He Y, et al. Down-regulation of transcription and genetic adaptation of Tibetans to high-altitude hypoxia. Mol Biol Evol, 2017, 4(34): 818-830.

[23] 杨志焕. 高原战创伤的特点及其救治. 创伤外科杂志, 2006, 8(4): 289-292.

[24] 阿旺晋美, 黄永红, 宋俊, 等. 高原创伤失血性休克液体复苏及进展. 西藏医药杂志, 2013, 35(3): 27-29.

[25] Eastridge BJ, Hardin M, Cantrell J, et al. Died of wounds on the battlefield: causation and implications for improving combat casualty care. J Trauma, 2011, 71(1 Suppl): 4-8.

[26] 刘良明. 战创伤休克早期救治研究进展. 创伤外科杂志, 2013, 15(2): 100-103.

[27] 殷作明, 李素芝, 林秀来, 等. 高原不同人群创伤失血性休克的综合治疗. 创伤外科杂志, 2006, 8(6): 518-520.

[28] 靳冰, 成海, 李文静, 等. 中美两军战时血液保障模式的比较与启示. 中国输血杂志, 2015, 28(9): 1064-1066.

(2017-02-26 收稿, 08-19 修回)

本文编辑: 蔡辉

## 新 书 介 绍



**内容简介:**《中华输血学》系人民卫生出版社“中华”系列丛书之一,是输血医学领域标准化的高级参考书。该书由百余位知名学者执笔撰写,包括在输血领域奋战数十年并在输血医学发展中有所建树的前辈、对输血专业与血液学、麻醉学等密切相关学科有重大贡献的领军人物以及身居输血第一线并充满奋进精神的后起之秀。

本书内容涵盖现代输血医学领域几乎所有议题。以输血医学的最新理念、最新成果以及最新发展方向为主线,从我国实际需要和学科发展方向出发,全面展示了国际的先进经验,和国内的成功技术和创新。全书由 4 篇 62 章组成。第一篇属基础输血学,包括输血原理、免疫血液学基础、血细胞生物学和保存、组织氧供平衡与氧耗原理、缺血再灌注损伤发生机制与防治、血浆成分及其生化与生理功能、血液流变学与血液携氧释氧动力学、失血性休克病理生理与容量治疗等;第二篇属输血技术学,包括血型血清学检验技术、血型基因检测技术与亲子鉴定、相容性输血及其临床应用、血液成分单采和血液制品制备等;第三篇属献血服务学与输血管理学,包括输血相关法律法规、献血者的招募与管理、采血与输血应用医学伦理学等;第四篇属临床输血学,这部分除了对内、外、妇、儿和肿瘤等患者输血常遇到的疑难问题,予以全面阐述外,又新增了中医与输血、老年患者输血治疗、高原患者输血治疗、战伤血液保障、输血前评估与输血后评价、血液代用品等章节,并重点介绍了临床输血存在的风险及其防治等。

本书的问世,将有益于输血医学及其相关专业的读者群,如果您是一名输血领域工作者,这本书是您必备的工具体,对您作好当前工作与思考未来创新发展提供有益的启示;如果您有志进入输血领域,这本书是您的入门指南;如果您现在就读输血医学或相关专业,这本书对您选择发展方向也是不可多得的参考书。

另讯:经《中华输血学》编委会与有关部门领导和人民卫生出版社商讨初步确定,在 2017 年适当时间将举行输血医学前沿论坛暨《中华输血学》首发式,届时欢迎朋友们参会。有关订书事宜请与人民卫生出版社联系。

· 论著 ·

· 高原输血与高原耐缺氧机制研究专题 ·

## EPAS1 基因不同单体型与高原低氧适应的相关性研究

李翠莹<sup>1△</sup> 李小薇<sup>1</sup> 刘娟<sup>1</sup> 雷慧芬<sup>1</sup> 李景琦<sup>1</sup> 熊梅<sup>1</sup> 甘新宇<sup>2</sup> 肖洁<sup>2</sup> 黄菲<sup>2</sup> 于丽君<sup>2</sup>

(1.空军总医院 输血科,北京 100142;2.成都军区总医院 输血科)

**摘要:目的** 探讨 EPAS1 基因突变位点在世居高原和世居平原人群中的差异,并进一步分析其与世居平原人群进入高原后低氧适应的相关性。**方法** 选择西藏藏族 50 名和平原汉族 100 名作为研究对象,提取 DNA,应用聚合酶链式反应(PCR)技术结合测序进行 EPAS1 基因 2 个单核苷酸多态位点(SNPs)rs13419896, rs1868092 检测。选择 50 名汉族进入高原前后血红蛋白(Hb)差值 $\geq 35$  g/L、红细胞计数(RBC)差值 $\geq 1 \times 10^{12}$ /L 和红细胞比容(Hct)差值 $\geq 0.1$  共 20 名作为观察组,其余 30 名作为对照组,分析 2 组之间携带不同单体型者血液学指标变化。**结果** rs13419896 位点 A 等位基因频率在藏族和汉族中分别为 88.0% 和 27.0%,rs1868092 位点 A 等位基因频率在藏族和汉族中分别为 80.0% 和 10.0%,两组比较均具有统计学差异( $P < 0.000$ )。SHEsis 构建单体型结果发现,观察组中 rs13419896 和 rs1868092 单体型(A-A)显著低于对照组( $P < 0.05$ ,  $OR = 0.032$ ,  $95\% CI = 0.003-0.382$ )。**结论** EPAS1 基因 rs13419896(G>A)和 rs1868092(G>A)位点突变与西藏藏族适应高原低氧环境存在相关性。汉族人群进入高原后,携带 EPAS1 单体型 rs13419896 和 rs1868092(A-A)既能更好地适应高原低氧环境,又可以降低自身血液黏滞度,利于高原低氧习服。

**关键词:** EPAS1 基因,单核苷酸多态性,血液学指标,高原低氧适应

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 R135.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0863-04

**Study on the relationship between EPAS1 gene haplotype and high altitude hypoxia adaptation** LI Cuiying<sup>1</sup>, LI Xiaowei<sup>1</sup>, LIU Juan<sup>1</sup>, LEI Huifen<sup>1</sup>, LI Jingqi<sup>1</sup>, XIONG Mei<sup>1</sup>, GAN Xinyu<sup>2</sup>, XIAO Jie<sup>2</sup>, HUANG Fei<sup>2</sup>, YU Lijun<sup>2</sup>. 1. Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China; 2. Department of Blood Transfusion, the General Hospital of Chengdu Military

**Abstract: Objective** This study aims to explore the difference in EPAS1 gene variation between the Tibetans who are conditioned to live at a higher altitude and individuals conditioned to a normal altitude and oxygen level. We also focus to further analyze the correlation between the EPAS1 gene mutation and hypoxic adaptation for people living at plain areas upon entering hypoxic environment with high altitudes. **Methods** The blood samples were chosen from 50 Tibetans at Tibet high altitude and 100 Han people in Chengdu at 500 m above sea level. Genomic DNA was extracted from these blood samples. The single nucleotide polymorphisms (SNPs) of EPAS1 gene were screened by polymerase chain reaction (PCR) and sequencing. Threshold values were drawn in hemoglobin (Hb) at  $\geq 35$  g/L, red blood cell (RBC) count at  $\geq 1 \times 10^{12}$ /L and hematocrit (Hct) at  $\geq 0.1$  for the 50 Han people entering higher altitudes, yielding an experiment group of 20 cases and the rest 30 samples functioned as the control group. We then analyzed hematological changes in patients with different haplotypes. **Results** The A allele frequency of EPAS1 gene rs13419896 in Tibetans and Han was 88.0% and 27.0%, respectively while the A allele frequency of rs1868092 was 80.0% and 10.0%. These two groups presented significant differences ( $P < 0.000$ ). For SHEsis constructed haplotypes, the results demonstrated that the haplotypes A-A of rs13419896 and rs1868092 in the experiment group were significantly lower than in the control group ( $P < 0.05$ ,  $OR = 0.032$ ,  $95\% CI = 0.003-0.382$ ). **Conclusion** The variation of EPAS1 gene rs13419896 (G>A) and rs1868092 (G>A) were associated with hypoxic adaptation in high altitude in Tibetans. Upon entering higher altitudes, the Han people carrying the EPAS1 haplotype rs13419896 and rs1868092 (A-A) better adapted to the hypoxia environment with reduced blood viscosity, which is beneficial to plateau hypoxia acclimatization.

**Key words:** EPAS1 gene, single nucleotide polymorphisms, hematological indicators, high altitude hypoxic adaptation

高海拔地区氧浓度仅为海平面的 60%,这种低氧压力对

人体生理功能影响巨大,藏族人群世代居住在海拔约 4000 米处高原,对低氧环境适应能力极强,这种适应可能是长期环境和遗传因素共同作用的结果。近年来,低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)的发现为高原低氧适应基因的寻找工作提供了线索。HIF 在低氧反应中起关键作用,其广泛存在于哺乳动物体内,可促进哺乳动物适应高原环境。关

于 HIF 低氧适应研究较多的有内皮 PAS 区域蛋白 1 (endothelial PAS domain protein 1, EPAS1)、脯氨酸羟化酶 2 (egl nine homolog 1, EGLN1) 和过氧化物酶体激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ , PPARA)<sup>[1-3]</sup>。3 个候选基因中 EPAS1 在低氧反应中起核心作用,且与藏族人群中低 Hb 水平密切相关<sup>[4-6]</sup>。

EPAS1 基因表达具有组织特异性,主要表达在与氧转运和代谢相关的组织器官,如胎盘、血管内皮以及肺脏等,且参与多种机体生命活动和疾病的发生发展过程,如代谢、血管生成、炎症以及肿瘤等<sup>[6]</sup>。因此,可以推断 EPAS1 基因在氧感知和氧代谢中具有重要作用。另有研究发现,平原人群中 EPAS1 基因突变亦可导致红细胞增生<sup>[7]</sup>。进一步证实 EPAS1 基因多态性位点在调控 RBC 生成与 Hb 浓度上具有关键作用。研究发现,EPAS1 基因调控区 rs13419896 和 rs1868092 位点突变不仅在藏族人群和汉族人群中存在差异,而且与藏族低 Hb 水平具有相关性<sup>[4]</sup>。本研究运用 PCR (polymerase chain reaction, PCR) 结合直接测序方法检测藏族与汉族人群 EPAS1 基因位点 rs13419896 和 rs1868092 差异,并进一步构建单体型分析汉族人群进入高原后携带不同单体型者血液学指标的变化。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择世居藏族人群 50 名为高原低氧适应组,男 25 名,女 25 名,年龄 18-55 岁,平均年龄 (33.9±8.3) 岁;同时随机挑选平原汉族人群 50 名为对照组,男 26 名,女 24 名,年龄 13-45 岁,平均年龄 (33.6±9.2) 岁。另选择平原汉族 50 名健康男性进入高原,编号为 X010138CD—X010287CD (未连续,共 50 名),年龄 19-23 岁,平均年龄 (20.9±1.0) 岁,并检测其高原前后血液学指标。挑选进入高原前后 Hb 浓度差值  $\geq 35$  g/L, RBC 计数差值  $\geq 1 \times 10^{12}$  /L 和 Hct 差值  $\geq 0.1$ , 共 20 名作为观察组,其余 30 名作为对照组。所有受试者签署知情同意书,并通过个人调查,排除相互之间的血缘关系。

1.2 研究方法

1.2.1 DNA 提取 取 EDTA 抗凝外周血 200  $\mu$ L,根据基因组 DNA 提取试剂盒步骤提取基因组 DNA (天根生化)。

1.2.2 引物设计与合成 通过美国国家生物信息中心 (NC-

BI) 获取 EPAS1 基因序列,根据文献报道综合选择之后,挑选 2 个 SNP (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点,分别为 rs13419896 和 rs1868092<sup>[4, 8]</sup>。根据 Primer Primer Version 5.0 软件设计引物。引物序列及退火温度如下,rs13419896 上游引物:5'-TCATTCCCTGTTCCTCCTCCTT-3',下游引物:5'-GCCAGCTTCCCTTGACCATCTT-3';rs1868092 上游引物:5'-TGAGCTGATAAGACTGGTGA-3',下游引物:5'-AAGTACATGCTGCTGGAATG-3';退火温度均为 60℃。

1.2.3 PCR 反应、电泳及测序 运用 PCR 技术结合直接测序检测 EPAS1 基因上述 2 个 SNPs 位点。PCR 仪 (美国 BIO-RAD) 进行 PCR 扩增,2% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,凝胶成像系统下对 PCR 产物切胶,纯化回收试剂盒进行产物回收 (天根生化),所得纯化后产物直接送诺赛基因进行测序。

1.3 数据分析 SHEsis 在线软件分析基因型分布频数和等位基因频率,并进行 Hardy-Weinberg 平衡检验及单体型构建,组间比较采用 SPSS 16.0 统计学软件的  $\chi^2$  检验完成,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡检验 EPAS1 基因 2 个 SNPs 位点各基因型频数藏、汉比较差异无统计学意义,rs13419896 和 rs1868092 在藏、汉族  $P$  值分别为 0.708 和 0.058、0.377 和 0.432;rs13419896 和 rs1868092 在汉族上高原前后对照组和观察组中  $P$  值分别为 0.171 和 0.055、0.399 和 0.814。所有均符合 Hardy-Weinberg 平衡,且采集的样本群体内所有个体健康且无亲缘关系,因此该样本具有群体遗传代表性。

2.2 rs13419896 与 rs1868092 的基因型及其等位基因频率分布 rs13419896 位点 A 等位基因频率在藏族和汉族中分别为 88.0% 和 27.0%,rs1868092 位点 A 等位基因频率在藏族和汉族中分别为 80.0% 和 10.0%,rs13419896 和 rs1868092 位点 GA 和 AA 基因型频率藏、汉族人群比较差异显著,两组比较均具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。50 例藏族作为对照组,50 例汉族作为观察组, SHEsis 在线软件分析发现藏、汉族中 A-A、A-G 和 G-G 单体型存在显著差异 (表 2)。rs13419896 与 rs1868092 位点琼脂糖凝胶电泳图见图 1,测序图见图 2 和图 3。

表 1 藏族和汉族中 EPAS1 基因 2 个 SNPs 位点基因型和等位基因分布频率与高原适应的相关性分析

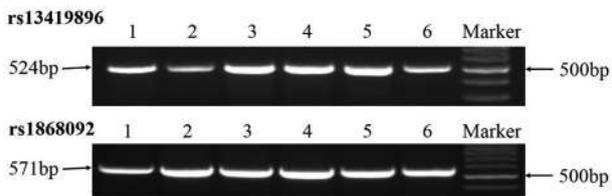
SNPs	SNP 位点相关基因型或等位基因	世居藏族 (%)	平原汉族 (%)	优势比 (95% CI)	P 值
rs13419896 基因型	G/G	1 (2.0)	24 (48.0)	1	/
	G/A	10 (20.0)	25 (50.0)	0.104 (0.012-0.877)	<0.05
	A/A	39 (78.0)	1 (2.0)	0.001 (0.001-0.018)	<0.001
等位基因	G	12 (12.0)	73 (73.0)	1	/
	A	88 (88.0)	27 (27.0)	0.050 (0.024-0.107)	<0.001
rs1868092 基因型	G/G	1 (2.0)	41 (82.0)	1	/
	G/A	18 (36.0)	8 (16.0)	0.011 (0.001-0.093)	<0.001
	A/A	31 (62.0)	1 (2.0)	0.001 (0.000-0.013)	<0.001
等位基因	G	20 (20.0)	90 (90.0)	1	/
	A	80 (80.0)	10 (10.0)	0.028 (0.012-0.063)	<0.001

注:  $P < 0.05$  为具有统计学差异

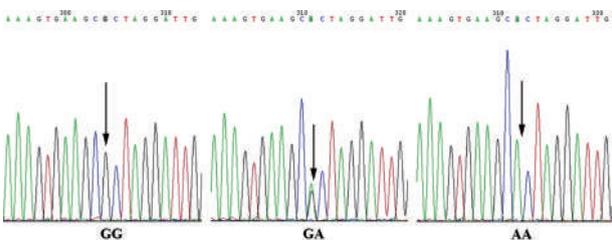
**表 2** 藏族和汉族中 EPAS1 基因 rs13419896 和 rs1868092 位点单体型分析结果

	观察组 (%)	对照组 (%)	$\chi^2$	P 值
A-A	2.35(0.023)	76.61(0.766)	115.420	<0.001
A-G	24.65(0.247)	11.39(0.114)	5.957	<0.05
G-A	7.65(0.077)	3.39(0.034)	1.745	>0.05
G-G	65.35(0.653)	8.61(0.086)	69.056	<0.001

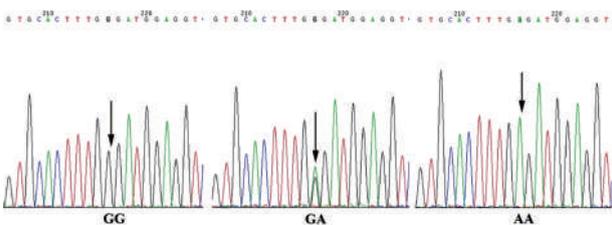
注:  $P < 0.05$  为具有统计学差异



**图 1** EPAS1 基因 SNPs 位点 rs13419896 和 rs1868092 电泳图



**图 2** rs13419896 位点测序结果



**图 3** rs1868092 位点测序结果

**2.3 EPAS1 基因 rs13419896, rs1868092 单体型分析** SHEsis 在线软件分析发现, 汉族人群进入高原前后血红蛋白(Hb)差值  $\geq 35$  g/L、红细胞计数(RBC)差值  $\geq 1 \times 10^{12}$ /L 和红细胞比容(Hct)差值  $\geq 0.1$ , 共 20 名为观察组(表 3)及 30 名对照组(表 4)中携带单体型存在差异, 观察组中 A-A 单体型分布频率显著降低 ( $P = 0.034$ ,  $OR = 0.032$ ,  $95\% CI = 0.003-0.382$ )(表 5)。

### 3 讨论

比较居住在低海拔区域的平原人群, 藏族人群适应高海拔缺氧环境涉及一系列机体的生理改变。第一, 藏族与平原人群具有相似的血红蛋白浓度, 相比平原移居高原人群显著降低<sup>[8]</sup>; 第二, 藏族比较平原人群具有较低的缺氧性肺血管收缩, 它可以引起缺氧性肺动脉高压, 进而导致肺水肿<sup>[9]</sup>; 第三, 藏族人群具有较快的血流速度, 以保证组织正常氧供<sup>[10]</sup>。藏族人群这些特性可能有各自的遗传基础。本研究选择 EPAS1 基因与藏族人群低血红蛋白浓度密切相关的 2 个内含子区 SNPs 进行研究, 并发现携带不同 SNPs 位点单型体的汉族人群进入高原前后的血液学指标差异, 对平原人群高原习

服训练具有一定参考价值。

**表 3** 汉族 20 例观察组进入高原前后 Hb、RBC 及 Hct 数值

观察组编号	Hb (g/L)		RBC ( $10^{12}$ /L)		Hct (L/L)	
	高原前	高原后	高原前	高原后	高原前	高原后
X010143CD	123	172	4.43	6.19	0.38	0.56
X010149CD	130	174	4.33	5.64	0.40	0.55
X010159CD	138	184	4.78	6.38	0.42	0.59
X010168CD	151	207	5.20	6.97	0.46	0.68
X010172CD	150	194	4.83	7.58	0.45	0.64
X010175CD	152	194	5.08	6.50	0.47	0.63
X010181CD	169	217	5.39	7.42	0.50	0.71
X010202CD	126	170	4.19	5.84	0.37	0.54
X010204CD	119	159	5.80	7.77	0.39	0.55
X010205CD	138	187	4.77	6.45	0.42	0.60
X010206CD	142	192	5.04	6.71	0.43	0.61
X010208CD	149	191	5.16	6.52	0.45	0.62
X010239CD	121	158	4.36	5.68	0.37	0.50
X010240CD	150	188	5.30	6.91	0.47	0.62
X010247CD	170	207	5.50	7.13	0.51	0.69
X010248CD	153	192	5.39	6.80	0.47	0.62
X010255CD	139	195	4.74	6.95	0.43	0.64
X010276CD	124	176	5.10	7.42	0.39	0.60
X010285CD	150	208	5.20	7.44	0.46	0.70
X010287CD	135	210	4.69	7.54	0.41	0.70

**表 4** 汉族 30 例对照组进入高原前后 Hb、RBC 及 Hct 数值

	Hb (g/L)		RBC ( $10^{12}$ /L)		Hct (L/L)	
	高原前	高原后	高原前	高原后	高原前	高原后
X010138CD	155	186	5.16	6.33	0.48	0.60
X010139CD	138	170	4.39	5.73	0.41	0.56
X010147CD	154	184	4.78	6.32	0.47	0.58
X010148CD	140	156	4.55	5.28	0.47	0.50
X010150CD	134	156	4.41	5.56	0.40	0.52
X010152CD	131	199	4.71	6.30	0.43	0.50
X010156CD	132	166	4.77	6.37	0.42	0.54
X010158CD	157	165	5.39	5.56	0.51	0.52
X010161CD	165	178	5.36	6.28	0.50	0.58
X010177CD	155	187	5.12	6.65	0.50	0.60
X010182CD	145	179	4.83	6.17	0.45	0.57
X010188CD	135	166	4.63	5.73	0.42	0.54
X010189CD	142	155	5.07	6.44	0.46	0.52
X010192CD	158	170	5.44	5.65	0.50	0.54
X010194CD	153	182	5.23	6.37	0.48	0.59
X010201CD	149	165	4.59	5.44	0.45	0.53
X010227CD	144	161	4.73	6.18	0.45	0.53
X010228CD	136	172	4.98	5.75	0.44	0.54
X010232CD	150	145	5.02	5.12	0.49	0.46
X010233CD	159	193	5.05	6.74	0.47	0.62
X010237CD	151	183	5.10	6.10	0.46	0.59
X010238CD	159	182	5.39	6.30	0.48	0.58
X010244CD	152	184	4.96	6.33	0.49	0.60
X010251CD	179	204	6.24	7.03	0.56	0.68
X010252CD	175	167	5.95	5.82	0.56	0.53
X010253CD	160	177	6.08	6.75	0.50	0.56
X010272CD	132	162	5.11	6.93	0.42	0.54
X010273CD	144	157	5.46	6.13	0.47	0.51
X010275CD	135	145	4.38	6.16	0.39	0.48
X010282CD	165	150	5.50	5.24	0.52	0.48

表 5 EPAS1 基因 SNPs 位点单体型与男性进入高原后红细胞黏滞度增加风险分析

	观察组 (%)	对照组 (%)	$\chi^2$	P 值	优势比 (95% CI)
A-A	0.20 (0.005)	8.00 (0.133)	4.474	0.034	0.032 (0.003-0.382)
A-G	11.80 (0.295)	16.00 (0.267)	0.096	0.756	1.151 (0.473-2.798)
G-A	1.80 (0.045)	0.00 (0.000)	2.110	0.146	2777.161 (127.393-60541.973)
G-G	26.20 (0.655)	36.00 (0.600)	0.308	0.579	1.265 (0.551-2.907)

注:  $P < 0.05$  为具有统计学差异

关于 rs13419896 位点突变研究发现,藏族中等位基因 A 频率显著高于汉族<sup>[10-11]</sup>。与本研究结果一致,藏族人群中 A 等位基因频率为 88.0%,显著高于平原人群 27% ( $P < 0.000$ )。其中 GA 和 AA 基因型分布在藏族、汉族中分别为 20.0%和 50.0%,78.0%和 2.0%,2 组比较均具有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。rs1868092 位点研究表明,A 等位基因频率与藏族适应高原环境相关<sup>[12]</sup>。本文发现 A 等位基因频率在藏、汉族中分别为 80.0%和 10.0%,GA 和 AA 基因型分布为 36.0%和 16.0%,62.0%和 2.0%,2 组比较差异显著 ( $P < 0.000$ )。SHEsis 在线软件发现藏汉族中 rs13419896 和 rs1868092 位点 A-A、A-G 和 G-G 单体型存在统计学差异。由表 1 中统计分析结果,我们推测 A-A、A-G 单体型利于高原低氧适应,G-G 单体型不利于高原低氧适应。以上结果表明,rs13419896 和 rs1868092 位点 A 等位基因是藏族人群低氧适应的有利因素。

接着分析携带 rs13419896 和 rs1868092 位点不同基因型和等位基因的平原人群进入高原前后的血液学指标(如 RBC 计数、Hb 浓度等),未见显著差异。可能是由于基因非编码区单个 SNP 对于基因表达调控的作用较微弱,且有研究发现,EPAS1 基因 rs13419896、rs4953354 和 rs1868092 位点单体型 G-G-G 携带者与男性红细胞增多症发病密切相关<sup>[6]</sup>。因此运用 SHEsis 在线软件分析 2 个 SNPs 构建单体型,发现当平原人群进入高原后血红蛋白(Hb)差值  $\geq 35$  g/L、红细胞计数(RBC)差值  $\geq 1 \times 10^{12}$ /L 和红细胞比容(Hct)差值  $\geq 0.1$  时,携带 A-A 单体型者显著低于对照组。该结果表明 A-A 单体型携带者进入高原后既可以更好地适应低氧环境,也可以降低血液粘滞度,利于高原习服训练。

综上所述,本研究结果证明 EPAS1 基因 rs13419896(G>A)和 rs1868092(G>A)位点突变与藏族适应高原低氧环境存在相关性,GA/AA 基因型和 A-A、A-G 单体型更有利于适应低氧环境。同时本研究发现汉族携带的单体型 A-A 可能通过与更多的调控元件结合或者多个位点的改变影响其 mRNA 结构等方式来调节机体生理反应,包括低红细胞计数、低红细胞比容和低血红蛋白水平等,降低血液粘滞度,使平原人群进入高原后更快适应高海拔低氧环境。

参 考 文 献

[1] Simonson TS, Yang Y, Huff CD, et al. Genetic evidence for high-

altitude adaptation in Tibet. *Science*, 2010, 329(5987):72-75.

[2] Xu XH, Huang XW, Qun L, et al. Two functional loci in the promoter of EPAS1 gene involved in high-altitude adaptation of Tibetans. *Sci Rep*, 2014, 4:7465.

[3] Song D, Li LS, Arsenault PR, et al. Defective Tibetan PHD2 binding to p23 links high altitude adaptation to altered oxygen sensing. *J Biol Chem*, 2014, 289(21):14656-14665.

[4] Beall CM, Cavalleri GL, Deng L, et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2alpha) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(25):11459-11464.

[5] Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *Science*, 2010, 329(5987):75-78.

[6] Chen Y, Jiang C, Luo Y, et al. An EPAS1 haplotype is associated with high altitude polycythemia in male Han Chinese at the Qinghai-Tibetan plateau. *Wilderness Environ Med*, 2014, 25(4):392-400.

[7] Percy MJ, Furlow PW, Lucas GS, et al. A gain-of-function mutation in the HIF2A gene in familial erythrocytosis. *N Engl J Med*, 2008, 358(2):162-168.

[8] 董宏彬,尹昭云. 血红蛋白与高原低氧适应. *国外医学(卫生学分册)*, 2004, (4):220-223.

[9] 丁丽,柏维尧,柯涛,等. 高原低氧习服研究进展. *实用预防医学*, 2015, (3):379-382.

[10] Peng Y, Yang Z, Zhang H, et al. Genetic variations in Tibetan populations and high-altitude adaptation at the Himalayas. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(2):1075-1081.

[11] Hanaoka M, Droma Y, Basnyat B, et al. Genetic variants in EPAS1 contribute to adaptation to high-altitude hypoxia in Sherpas. *PLoS One*, 2012, 7(12):e50566.

[12] Basang Z, Wang B, Li L, et al. HIF2A variants were associated with different levels of high-altitude hypoxia among native Tibetans. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0137956.

(2017-02-06 收稿,修回)

本文编辑:夏玲

## 急进高原后人外周血红细胞形态变化的研究

顾顺利<sup>1</sup> 李翠莹<sup>2</sup> 李小薇<sup>2</sup> 胡兴斌<sup>1</sup> 安群星<sup>1</sup> 肖军<sup>2</sup> 刘娟<sup>2</sup> 尹文<sup>1△</sup>

(1.第四军医大学西京医院输血科,陕西 西安 700032;2.空军总医院)

**摘要:目的** 探讨高原环境下人体外周血红细胞形态与高原反应的关系,为高原反应的预防和治疗提供实验依据。**方法** 设急进高原组:世居海拔约 500 m 平原地区的受试者 25 名,分别于其急进高原前后采集外周血血样各 5 mL/(人)份;久居高原组:受试者 14 名,居住在海拔约 3 600 m 地区 >10 年,包括世居高原的藏族 7 名、居住高原 10-15 年的汉族人 7 名,采集其外周血血样 5 mL/(人)份;调查 2 组的高原反应发生情况,扫描电镜观察 2 组受试者红细胞形态,统计分析 2 组受试者不同形态红细胞数量。**结果** 在海拔约 3 200 及 3 600 m 高原地区,急进高原组均出现不同程度的高原反应,久居高原组则无高原反应情况发生。正常形态的外周血红细胞数量(个/份):急进高原组急进高原前后分别为 471.43±1.35(海拔约 500 m)、263.31±6.16(海拔约 3 200 m)、256.29±13.03(海拔约 3 600 m)( $P<0.01$ ),且畸形红细胞数量明显增加;久居高原组为 368.57±11.26,明显高于急进高原组( $P<0.01$ ),且畸形红细胞数量明显低于急进高原组。久居高原组中藏族和汉族人群的正常形态的外周血红细胞数量相近( $P>0.05$ )。**结论** 正常健康成年人急进高原后,外周血红细胞的畸形化改变可能是高原反应发生的机理之一。

**关键词:**高原反应;红细胞形态;外周血;急进高原者;久居高原者;藏族;汉族

**中图分类号:**R331.1<sup>+</sup>41 R135.6 R446.11<sup>+</sup>3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0867-03

### Study on the changes of human peripheral erythrocyte morphology in healthy crowd after rapidly ascended to plateau

**GU Shunli<sup>1</sup>, LI Cuiying<sup>2</sup>, LI Xiaowei<sup>2</sup>, HU Xingbin<sup>1</sup>, AN Qunxing<sup>1</sup>, XIAO Jun<sup>2</sup>, LIU Juan<sup>2</sup>, YIN Wen<sup>1</sup>.** 1. Department of Transfusion Medicine, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, China. 2. Department of Transfusion Medicine, Air Force General Hospital of the PLA, Beijing, 100142, China. Corresponding author: YIN Wen

**Abstract: Objective** To explore the relationship between human erythrocyte morphology and altitude sickness in plateau environment, and to provide some reference for the prevention and treatment of altitude sickness. **Methods** The experimental subjects were divided into the group whose living in plain (about 500 m in elevation) rapidly ascended to plateau (experimental group) and the group whose residing on plateau (about 3 600 m in elevation) for a long time (incl. 7 Tibetans living on plateau for generations, 7 Han people living on plateau for 10-15 years) (control group). There were 25 subjects in the experimental group, and 14 ones in the control group. 5 mL of peripheral blood was collected before and after the rapidly ascended to plateau from each subject in the experimental group each time, and from each one in the control group. The incidences of altitude sickness were investigated, the erythrocyte morphology were observed by scanning electron microscopy (SEM), and 500 erythrocytes were counted in each sample, the number of different morphology erythrocyte of the 500 erythrocytes were analyzed statistically. **Results** All subjects in the experimental group developed altitude sickness with varying degrees after rapidly ascended to 3 200 m and 3 600 m; There were no altitude sickness in the control group. The number of normal-shaped erythrocytes of the experimental group was 471.43±1.35 (about 500 m), 263.31±6.16 (about 3 200 m) and 256.29±13.03 (about 3 600 m) ( $P<0.01$ ), and the abnormal erythrocytes increased. The number of normal erythrocytes of the control group was 368.57±11.26, which was significantly higher than the experimental group ( $P<0.01$ ), while the abnormal erythrocytes was significantly lower than the experimental group too. There was no significant difference in the number of normal-shaped erythrocytes between the Tibetans and Han people in the control group ( $P>0.05$ ).

**Key words:** altitude sickness; erythrocyte morphology; peripheral blood; subjects rapidly ascending to plateau; subjects long-time reside in plateau; Tibetan; Han people

高原反应是指部分人群急进高海拔地区(<24 h、>2 700 m)后,因缺氧而引起的一系列不良反应,主要表现为心慌、气短、头痛、呕吐和睡眠障碍等,严重者会出现高原肺水肿及

高原脑水肿等并发症<sup>[1-3]</sup>。近年来,高原反应相关研究逐步趋热,但大部分研究仅限于高原反应的预防及治疗,涉及具体的发病机理不多,特别是高原反应与外周血红细胞形态的关系的研究。我们通过对急进高原者外周血红细胞形态的检测与分析,旨在了解人体红细胞形态与高原反应的关系,以便为高原反应的防治提供参考依据,报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 选择健康成年男性人群,分为急进高原组:25 名人,汉族,年龄 19-23(20.7±1.0)岁,从海拔约 500 m 平原地区出发,途经海拔约 3 200 m 高原地区,最后到达海拔约 3 600 m 高原地区,分别在出发前及快速到达海拔约 3 200、3 600 m 时各采集外周血样 5 mL/人(次)(EDTA 抗凝),2%戊二醛 4℃ 过夜固定。久居高原组:常住海拔约 3 600 m 高原地区,其中 7 名为世居高原的藏族人,男性 4 名、女性 3 名,年龄 18-35(24.2±4.1)岁;7 名居住高原 10-15 年汉族人,男性 3 名、女性 4 名,年龄 18-32 岁(25±5.4)岁,分别采集该 14 名受试者外周血样 5 mL(EDTA 抗凝),2%戊二醛 4℃ 过夜固定。采样 7 d 后扫描电镜观察外周血红细胞形态。

**1.2 仪器与试剂** 高速离心机(美国 Sigma 公司,1-13);专用储血冰箱(日本松下公司,MBR-107D);真空冷冻干燥机(美国 Thermo Electron Corporation,Modulyo);细胞离心涂片机(美国 Iris Sample Processing 公司,Cytofuge);扫描电镜(日本日立,S-3400N)。戊二醛(第四军医大学电镜室提供);无水乙醇(批号 20160801,天津市富宇精细化工有限公司)。

**1.3 外周血红细胞电镜扫描** 取 3 mL/份 EDTA 抗凝外周血标本以 3 000 g 离心 5 min,从试管底部吸取浓缩红细胞 20 μL 加入 1 980 μL 4% 戊二醛,4℃ 过夜;吸取固定红细胞 50 μL 滴在盖玻片上,甩片机 40 g 离心 2 min 后自然干燥,PBS 浸洗 3 遍,按 30%、50%、75%、80%、90%、95%、100%乙醇对

标本逐级脱水(10 min/次);将标本玻片转入真空冷冻干燥仪干燥 5 h,放入离子溅射装置喷金 90 s,最后以扫描电镜观察拍照。

**1.4 外周血红细胞形态学分析** 计数并分析红细胞 500 个/份血样,根据红细胞形态不同分为常态和畸形 2 种红细胞,畸形红细胞又根据形态不同细分为棘型(细胞外周有不规则的锯齿状突起)、泡型(细胞膜上有不规则的泡状突起)、褶型(整个细胞呈扭曲褶皱状)和严重畸形等五类,其中严重畸形(同一细胞同时出现棘型、泡型和褶型 2 或 3 种形态)。

**1.5 统计学分析** 数据处理采用 SPSS17.0 统计学软件,计量数据以“均数±标准差( $\bar{x}±s$ )表示,组间比较采用 t 检验,检验前做方差分析, $P<0.05$  为差异有统计学意义

## 2 结果

**2.1 急进高原与久居高原人群高原反应发生情况以及 2 组不同人群外周血红细胞形态、数量统计** 急进高原组从平原进入海拔约 3 200 和约 3 600 m 高原后均出现心慌、气短、头痛、呕吐和睡眠障碍等不同程度的高原反应,而在此时(海拔高度)其外周血中正常形态红细胞数量明显低于平原地区( $P<0.01$ ),畸形红细胞数量明显增加;而久居高原组不仅均无高原反应情况发生,且正常形态红细胞数量明显高于急进高原组( $P<0.01$ ),畸形红细胞数量更少(表 1)。

表 1 急进高原与久居高原(藏、汉族)人群外周血红细胞形态及数量比较 (个/份)

	急进高原组( $n=25$ )			久居高原组( $n=14$ )		
	海拔 500 m	海拔 3 200 m	海拔 3 600 m	世居高原藏族( $n=7$ )	长居高原汉族( $n=7$ )	藏族+汉族
正常形态	471.43±1.35	263.31±6.16*	256.29±13.03**	388.94±10.83	357.14±13.42	368.57±11.26
棘型	4.50±0.63	52.83±7.68	51.22±8.86	24.85±3.25	37.25±6.52	27.94±7.25
泡型	20.01±2.02	86.08±7.49	80.78±9.67	34.81±8.99	32.03±7.62	33.71±3.72
褶型	3.52±0.69	32.13±2.85	30.22±5.81	27.75±3.52	29.51±4.71	27.53±9.13
严重畸形	0	65.5±9.81	91.18±9.92	12.25±4.32	23.51±3.62	18.82±10.43

\*与海拔 500 m 比较, $t$  值分别为 15.91\13.42, $P<0.01$ ;#与久居高原组比较, $t=3.168$ , $P<0.01$

**2.2 急进高原与久居高原人群以及世(长)居高原藏、汉族人的外周血红细胞的电镜扫描** 与在平原地区的正常形态红细胞(图 1-A)相比,急进高原者进入高原后,随着海拔的升高,正常形态的红细胞数量逐渐减少,畸形红细胞数量逐渐增多,且细胞体积明显增大(图 1-B,C);而世居高原的藏族和长居高原的汉族人的红细胞畸形红细胞数量较少且畸形化程度轻(图 1-C,D)。

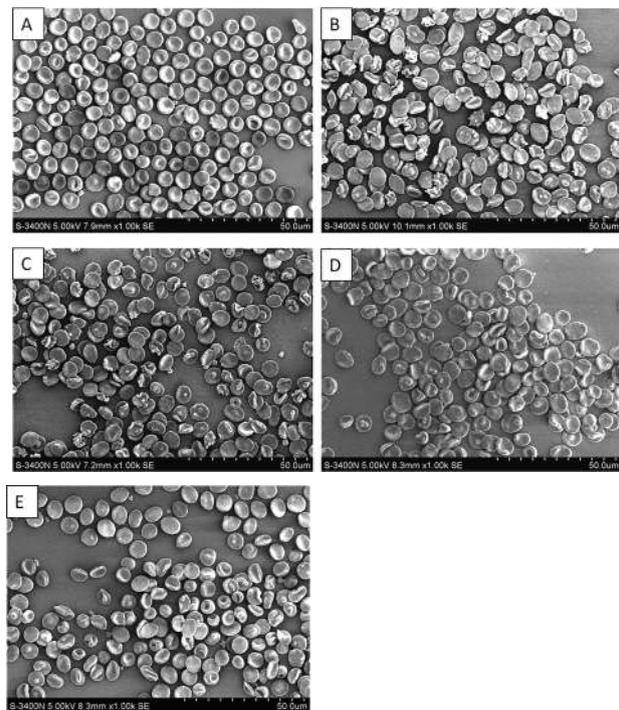
## 3 讨论

高原反应是由于人体进入低氧和低气压的特殊高原环境后,引起机体低张性缺氧,从而导致一系列的临床症状<sup>[4]</sup>。大量研究发现,高原反应的发生率与机体所处的海拔呈正相关,究其原因是随着海拔的升高,大气中的氧分压逐步降低,导致通过肺换气弥散进入肺毛细血管的氧气减少,从而引发机体缺氧,发生高原反应<sup>[5-6]</sup>。在发生高原反应后,机体为了适应这种变化,会代偿性产生更多的红细胞,因此急进高原的人群,红细胞会增多,甚者会发生红细胞增多症<sup>[7-8]</sup>。然而,也有研究认为,红细胞增多会提高血液黏稠度,减低血液

流速,从而降低红细胞的运氧效率<sup>[9]</sup>。

我们的研究发现,久居平原的人急进高原后均出现头晕、头痛、乏力、食欲减退和睡眠障碍等高原反应症状,同时伴有正常形态的外周血红细胞数量减少,畸形的外周血红细胞数量增加(表 1);而久居高原的人,无论是世居藏族和长居汉族不但没有高原反应,其外周血中正常形态红细胞数量相仿,而且与急进高原人群相比,外周血畸形红细胞数量、畸形化程度均低(表 1,图 1)。有报道指出,外周血红细胞变形能力的影响因素主要包括红细胞的形状、细胞质的黏性和细胞膜的力学性质<sup>[10]</sup>,畸形化改变会导致红细胞的变形能力下降<sup>[11]</sup>,难以通过比自身直径小的毛细血管,加重缺氧而引发或加剧高原反应<sup>[12]</sup>。据此或可认为正常健康成年人急进高原后,外周血红细胞的畸形化改变是引起机体缺氧的重要原因。

综上所述,正常健康成年人急进高原后,外周血红细胞的畸形化改变可能是高原反应发生的机理之一。但由于条件所限,未能进一步检测受试者红细胞的变形性,这是本研究的不足之处。



A 急进高原组人群在平原地区; B 急进高原组在海拔约 3 200 m 地区; C 急进高原组在海拔约 3 600 m 地区; D 世居高原的藏族; E 长居高原的汉族

图 1 急进高原与久居高原(藏、汉族)人群外周血红细胞电镜扫描

参 考 文 献

[1] 吴玉, 李鹏, 高钰琪, 等. 不同地区青年男性急性高原反应差异分析. 解放军医学杂志, 2014, 39 (8): 656-659.

[2] Lu H, Wang R, Xiong J, et al. In search for better pharmacological prophylaxis for acute mountain sickness; looking in other directions. *Acta Physiol* 2015, 214(1): 51-62.

[3] Basnyat B. Pro: pulse oximetry is useful in predicting acute mountain sickness. *High Altitude Med Biol*, 2014, 15(4): 440-441.

[4] 陈建, 蒋春华, 黄朝晖, 等. 青海玉树地震某救援部队高原反应发病情况调查. *人民军医*, 2011, 54(6): 468-469.

[5] 张建林, 贾景磊. 青年女性急进高原后急性高原反应发病调查. *解放军预防医学杂志*, 2003, 21 (2): 113-114.

[6] Hsu TYi, Weng YM, Chiu YH, et al. Rate of Ascent and Acute Mountain Sickness at High Altitude. *Clin J Sport Med* 2015, 25 (2): 95-104

[7] 王积福, 郭志坚, 黄慧群, 等. 急进高原不同时间人体血红蛋白与高原反应相关性. *青海医学院学报*, 2010, 31(3): 184-186.

[8] Francis J, Paul S. Migraine headache confounding the diagnosis of acute mountain sickness. *Wilderness Environ Med* 2014, 25(1): 60-68.

[9] 高亮, 崔建华, 马广全, 等. 大豆异黄酮对海拔 5 000 m 以上高原红细胞增多症患者氧自由基代谢的影响. *第三军医大学学报*, 2012, 34(24): 2528-2529.

[10] 周雁林, 刘长琦. 健身运动对老年人红细胞变形能力及胆固醇改善的影响. *中国老年学杂志*, 2013, 3 (3): 2929-2930.

[11] 林宇峰, 韦军, 何建伟. 运动性贫血发生中红细胞变形能力与一氧化氮的关系. *中国运动医学杂志*, 2014, 33(7): 682-686.

[12] 马秀花, 张鑫生, 郝爱旗, 等. 高原健康人缺氧诱导因子-1 $\alpha$  诱导性一氧化氮合酶和一氧化氮的海拔性变化与红细胞变形能力的关系研究. *高原医学杂志*, 2014, 24(4): 1-3.

(2017-02-28 收稿, 08-06 修回)

本文编辑: 蔡辉

《临床输血进展》购书事宜

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

· 论著 ·

# 高原环境对人外周血细胞的影响\*

肖军<sup>1</sup> 李小薇<sup>1</sup> 雷慧芬<sup>1</sup> 祁术元<sup>1</sup> 魏少平<sup>1</sup> 王洪波<sup>1</sup> 李翠莹<sup>1△</sup> 甘新宇<sup>2</sup> 黄菲<sup>2</sup> 杨俊龙<sup>2</sup>

(1.空军总医院 输血科,北京 100142;2.成都军区总医院 输血科)

**摘要:目的** 研究在进入高原前后人外周血血细胞的变化,分析高原环境对人血细胞的影响。**方法** 通过比较在平原和高原习服(90 d)后的血细胞,分析高原环境对个体血细胞的影响。**结果** 高原习服后红细胞、血红蛋白、红细胞压积、平均红细胞容积均明显升高( $P<0.01$ ),而平均血红蛋白浓度和平均血红蛋白含量出现下降( $P<0.01$ );进入高原 90 d 后白细胞计数无明显变化,而淋巴细胞计数和单核细胞计数均有升高( $P<0.01$ ),中性粒细胞计数下降( $P<0.01$ );高原习服后血小板计数显著升高( $P<0.01$ ),而血小板体积分布宽度和平均血小板体积则有所下降( $P<0.01$ )。**结论** 高原习服后血细胞红系、淋巴细胞、单核细胞、血小板指标代偿性升高,以满足机体对高原低氧环境的适应。

**关键词:** 低压低氧;外周血;血常规检查;高原环境

**中图分类号:** R331.1<sup>4</sup> R135.6 E836.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0870-03

**Effects of high altitude environment on human peripheral blood cells** XIAO Jun<sup>1</sup>, LI Xiaowei<sup>1</sup>, LEI Hui fen<sup>1</sup>, FAN Xiu<sup>1</sup>, CONG Xiaoxue<sup>1</sup>, WEI Shaoping<sup>1</sup>, QI Shuyuan<sup>1</sup>, WANG Hongbo<sup>1</sup>, LI Cuiying<sup>1</sup>, GAN Xinyu<sup>2</sup>, HUANG Fei<sup>2</sup>, YU Lijun<sup>2</sup>, YANG Junlong<sup>2</sup>. 1. Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China; 2. Department of Blood Transfusion, The General Hospital of Chengdu Military. Corresponding author: LI Cuiying.

**Abstract: Objective** To analyze human peripheral blood cells before and after entering the plateau in an effort to identify changes between the two stays, which should provide valuable data to evaluate the effect of high altitude environment on human blood cells. **Methods** The effect of high altitude environment on individual peripheral blood cells were analyzed by comparing the peripheral blood cells pre and post entering the plateau area. **Results** The RBC, Hb, Hct, MCV were significantly increased after the acclimatization ( $P<0.01$ ), but the MCHC and the MCH decreased ( $P<0.01$ ); There was no significant change in white blood cell count after the acclimatization at the plateau, but the number of lymphocytes and mononuclear cells increased ( $P<0.01$ ), and the number of neutrophils decreased ( $P<0.01$ ); The Plt count increased significantly after the acclimatization ( $P<0.01$ ), but the platelet volume distribution width and mean platelet volume decreased ( $P<0.01$ ). **Conclusion** The red blood cell line, lymphocytes, monocytes and platelets were compensated for the adaption to the hypoxic environment at high altitude.

**Key words:** hypobaric hypoxia; peripheral blood; blood routine examination; high altitude environment

高原地区具有低温、低氧、紫外线辐射强、营养匮乏等特征,对高原适应、部队作战、训练和劳动生活可产生明显影响。因此,本文对高原习服前后的 138 例人的外周血血细胞变化进行研究,分析其变化及意义,旨在掌握高原低氧环境对血液影响的规律,提高平原人群的适应、生存能力。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 汉族男性青年 138 例,年龄范围 19~42 岁,平均(23.50±3.99)岁,经全面体检身体健康,分别于平原时和进入高原后(海拔 3 800m)90 d 对该人群采集静脉血样。

**1.2 仪器与试剂** 血常规检测采用美国雅培 Cell-DYN 1800 五分类血球仪,仪器由该公司配套校准品校准,按仪器

操作说明书进行全血检测,试剂为该公司配套检测试剂,随标本做质控检测。

**1.3 方法** 采集受试者肱静脉血进行血常规检查,并进行比较。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计量资料符合正态分布(正态检验  $P>0.05$ )的数据以  $\bar{x}\pm s$  表示,进入高原前后血细胞计数采用配对  $t$  检验,  $P<0.05$  为差异有统计学意义;非正态分布 ( $P<0.05$ ) 的数据以中位数 (P25, P75) 表示,进入高原前后血细胞计数比较采用 Wilcoxon 符号秩检验,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 血细胞红系比较** 高原习服后红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、血细胞压积(Hct)、平均红细胞体积(MCV)均高于高原习服前( $t=25.91, P=0.000; t=23.77, P=0.000; t=24.64, P=0.000; z=-4.84, P=0.000$ )。而高原习服后平均血红蛋白浓度(MCHC)和平均血红蛋白含量(MCH)低于高

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.005

\* 基金项目:全军后勤科研重大专项子项(AWS13J004);△通信作者:李翠莹(1969.09-),女,主任技师、主任,主要从事临床输血及免疫血液学方面的研究,电话:010-66928462; Email: licuiying2013@cjbt.com

原习服前 ( $z = -8.93, P = 0.000; z = -4.74, P = 0.000$ ) (表 1)。

表 1 高原前后血细胞红系比较统计分析

	高原前( $n=138$ )	高原习服后( $n=138$ )	$t$ 或 $z$ 值	$P$ 值
RBC( $\times 10^{12}/L$ )	4.99 $\pm$ 0.43	6.36 $\pm$ 0.65	25.91	0.000
Hb (g/L)	144.94 $\pm$ 12.96	180.88 $\pm$ 16.09	23.77	0.000
Hct (L/L)	0.45 $\pm$ 0.041	0.58 $\pm$ 0.056	24.64	0.000
MCHC (g/L)	326.00(320.00,330.00)	311.00(306.00,315.00)	-8.93	0.000
MCH (pg)	29.15(28.00,30.10)	28.70(27.77,29.60)	-4.74	0.000
MCV (fL)	90.00(87.00,93.23)	92.00(89.75,95.00)	-4.84	0.000

2.2 白细胞分类比较 高原习服后淋巴细胞(Lymph)、单核细胞(Mono)较高原习服前升高,差异有统计学意义( $z = -8.30, P = 0.000; z = -6.69, P = 0.000$ ),中性粒细胞计数高原习服后有所下降( $z = -6.56, P = 0.000$ ),而白细胞计数差异无统计学意义( $z = -1.01, P = 0.315$ ) (表 2)。

表 2 高原前后白细胞比较统计分析

	高原前( $n=138$ )	高原习服后( $n=138$ )	$t$ 或 $z$ 值	$P$ 值
WBC( $\times 10^9/L$ )	6.00(5.10,7.30)	6.10(5.20,6.90)	-1.01	0.315
Neut( $\times 10^9/L$ )	3.82(3.20,4.93)	3.10(2.50,3.85)	-6.56	0.000
Lymph( $\times 10^9/L$ )	1.80(1.60,2.11)	2.40(2.10,2.70)	-8.30	0.000
Mono( $\times 10^9/L$ )	0.38(0.30,0.47)	0.50(0.40,0.60)	-6.69	0.000

2.3 血小板比较 高原习服后血小板计数(Plt)和血小板压积(PCT)较高原习服前明显升高,差异有统计学意义( $t = 5.74, P = 0.000; z = -2.61, P = 0.000$ );而高原习服后血小板分布宽度(PDW)和血小板分布体积(MPV)较高原习服前有所下降,差异具有统计学意义( $z = -9.29, P = 0.000; z = -6.10, P = 0.000$ ) (表 3)。

表 3 高原前后血小板比较统计分析

	高原前( $n=138$ )	高原习服后( $n=138$ )	$t$ 或 $z$ 值	$P$ 值
Plt( $\times 10^9/L$ )	173.02 $\pm$ 73.02	198.00 $\pm$ 00.02	5.74	0.000
PDW (fL)	17.00(15.80,18.00)	13.50(12.80,14.80)	-9.29	0.000
MPV (fL)	11.00(10.30,13.10)	10.50(10.30,10.80)	-6.10	0.000
PCT (%)	0.23(0.19,0.26)	0.24(0.21,0.28)	-2.61	0.009

### 3 讨论

高原特殊的自然环境会对人体劳动生理、劳动能力以及身体健康产生较大影响<sup>[1]</sup>。高原低氧环境对健康人血液系统的影响,主要表现在红细胞计数、白细胞计数以及血红蛋白上<sup>[2]</sup>。当处于高原低氧环境,机体可通过提高血液中的红细胞数量和血红蛋白以满足各组织脏器的氧气供应,而这种改变往往与高原缺氧海拔高度与进驻高原时间有关<sup>[2]</sup>,这也是高原习服的重要机制之一<sup>[3]</sup>。本研究结果显示从平原进驻高原 3 个月后,红细胞和血红蛋白代偿性增高。其可能的机制是:1)在成年人体中,红细胞的生成主要由骨髓完成;而当机体处于应激环境时(低氧、骨髓移植、贫血等),红细胞可通过肝、脾等脏器的代偿以满足机体的对红细胞的需求<sup>[4]</sup>;2)与耐缺氧因子(HIF)与红细胞生成素(EPO)升高有关,研究表明,正常氧供时,HIF 表达后会经过脯氨酰羟化酶(PHDs)所羟基化,然后进一步被 von Hippel-Lindau 泛素连接酶所泛素化,最终被降解<sup>[5]</sup>;当处于缺氧环境时,该降解途径被阻断,继而导致 HIF 不断累积增多,稳定性增强,进而转位入核与缺氧反应元件(HRE)结合激活下游 EPO 基因的表达<sup>[6]</sup>。当机体逐渐适应高原低氧环境后,红细胞数量则有所

下降,以改善血液黏度并满足组织氧供,为适应高原环境提供了重要的生理基础。同时,对于常用的贫血分类指标平均血红蛋白含量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)以及平均红细胞体积(MCV)而言,虽然其变化在统计学上具有意义,但是其变化较少,无实际临床意义。

研究表明,高原低氧环境可影响外周血淋巴细胞的比例和脆性,急进高原人员淋巴细胞代偿性升高显著高于常驻高原人员,并与海拔高度密切相关<sup>[7]</sup>,这与本研究观察到的现象一致。与此同时,高原习服后白细胞计数无明显变化,但出现淋巴细胞计数和单核细胞计数升高,中性粒细胞下降的现象,这可能与高原低氧条件对机体免疫功能的调节作用<sup>[8]</sup>。其中,低氧造成的免疫细胞改变以 CD8<sup>+</sup>的 T 淋巴细胞增多为主,同时伴随 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞下降,继而导致免疫调节紊乱<sup>[9]</sup>。同时,低氧也可刺激机体  $\beta$ -内啡肽含量增加<sup>[10]</sup>,通过神经内分泌作用引起机体的免疫抑制<sup>[11]</sup>。本研究还表明,进驻高原一段时间后血小板数量和血小板压积有所升高。Hartmann 等<sup>[12]</sup>研究也证实海拔 1 000~1 822m 生活 1~2 周的受试者中,促血小板生成素(TPO)水平、血小板数目以及 EPO 同步增加,而且 TPO 与 Plt 两者之间成正相关。然而,在高原低氧条件下,TPO 的升高是也与红细胞的生成有关还有待进一步研究<sup>[13]</sup>。

综上所述,高原低氧对血液参数可产生较大改变,甚至对机体免疫功能产生影响。结果显示,进入高原后机体通过提高红细胞以及血红蛋白水平以满足各脏器的氧供,对高原适应具有一定的生理意义;然而在适应高原低氧的同时,这些参数的改变也增加了血液粘度,同时伴随血小板计数升高,则可增加了血栓形成的风险;而且高原低氧条件下,机体免疫功能也可能出现紊乱。针对上述问题,常对需进入高原地区的人群进行低氧习服训练,这有利于其适应更极端的低氧环境,而不出现严重的高原反应。然而,关于平原人群高原低氧适应的治疗和预防措施仍需进一步研究。

### 参考文献

- [1] 王永珍,姜红,张慧忠,等.高原环境对人体劳动力的影响,1995.
- [2] 王艳艳,吴丽娟.高原低氧环境对驻训人员外周血细胞的影响.国际检验医学杂志,2015(19):2817-2818.
- [3] 张倩,官立彬,白志川,等.血红蛋白与高原习服适应的研究进展.重庆医学,2014(6):753-755.
- [4] Franke K, Gassmann M, Wielockx B. Erythrocytosis: the HIF pathway in control. Blood, 2013, 122(7):1122-1128.
- [5] Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, et al. Induction of HIF-1alpha in response to hypoxia is instantaneous. FASEB J, 2001, 15(7):1312-1314.
- [6] Fandrey J, Gorr TA, Gassmann M. Regulating cellular oxygen sensing by hydroxylation. Cardiovasc Res, 2006, 71(4):642-651.
- [7] 谢祥红,王斌,何鹏飞,等.不同海拔高原驻训人员外周血淋巴细胞的变化及意义.武警医学院学报,2011(8):636-638.
- [8] 胡宗海.高原环境对机体免疫功能的影响机制.西北国防医学杂志,2004(2):130-132.
- [9] 周晶萍,顾松琴,彭海,等.海拔 4500m 地区藏、汉人群外周

血淋巴细胞亚群检测.免疫学杂志,2012(9):820-822.

- [10] 谢新民, 孟宪纪, 高玉琴. 高原应激对大鼠脑内  $\beta$ -内啡肽含量的影响. 高原医学杂志, 1996(1):34-37.
- [11] 白海波, 郑筱祥. 急性低氧下  $\beta$ -内啡肽参与对大鼠体液免疫的抑制性调节. 生理学报, 1999(3):20-24.
- [12] Hartmann S, Krafft A, Huch R, et al. Effect of altitude on throm-

bopoietin and the platelet count in healthy volunteers. Thromb Haemost, 2005,93(1):115-117.

- [13] 裴雪涛, 徐黎, 冯凯. 血小板生成素对 CD34<sup>+</sup>造血祖细胞的协同扩增作用.实验血液学杂志,1997(3):229-235.

(2017-02-06 收稿,03-04 修回)

本文编辑:李弘武

· 论著 ·

## 高原低压低氧环境对红细胞携放氧的影响\*

刘娟<sup>1</sup> 李小薇<sup>1</sup> 赵莲<sup>2</sup> 肖军<sup>1</sup> 尤国兴<sup>2</sup> 雷慧芬<sup>1</sup> 范秀<sup>1</sup> 从小雪<sup>1</sup> 周虹<sup>2</sup> 李翠莹<sup>1,Δ</sup>  
(1.空军总医院 输血科,北京 100142;2. 军事医学科学院 野战输血研究所)

**摘要:目的** 分析世居高原、急进高原、高原习服训练、世居平原人群红细胞携放氧的变化。**方法** 应用便携式血氧饱和度检测仪、血氧分析仪、血细胞分析仪,检测世居高原、急进高原、高原习服训练人群血氧饱和度(SpO<sub>2</sub>)、氧亲和力(P<sub>50</sub>)及血红蛋白(Hb)数据并进行比较分析,以观察高原低氧环境对红细胞携放氧的影响。**结果** 急进高原组的氧饱和度显著低于其他3组;氧亲和力数据显示习服组的氧释放能力为4个群组中最高;血红蛋白检测数据显示习服训练组显著高于其他3组,且世居高原人群血红蛋白数据低于其他3组人群。**结论** 世居高原人群对于高原低压低氧环境的适应主要来自于其较高的氧释放能力;世居平原的人群在进入高原初期主要通过血红蛋白值的增加来提高其携氧能力,随着进入高原时间的延长,其释放氧的能力会逐步增加以适应高原低压低氧的环境。

**关键词:** 低压低氧;红细胞携氧;血氧饱和度;血红蛋白

**中图分类号:**R457.1 R331.1<sup>+</sup>4 R135.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0872-02

高原环境下,由于空气中氧分压降低、氧供减少。当平原人群进入这种低压低氧环境中,机体为适应环境变化满足机体需求,会发生一系列的改变<sup>[1]</sup>,其中红细胞与血红蛋白代偿性增多<sup>[2]</sup>,从而提高携氧能力。而血氧饱和度<sup>[3-4]</sup>及红细胞携放氧能力<sup>[5]</sup>的改变是适应高原低氧环境的重要评价指标。本文拟对我国平原人群进入高原及世居高原人群的红细胞携放能力进行系统比较研究,以期探寻不同人群对高原环境适应性改变的机制提供相应的研究依据。

### 1 材料与方 法

**1.1 样本来源** 分别抽取世居高原(世代藏族)、急进高原(上高原1 d,汉族)、高原习服训练(上高原30 d,汉族)、世居成都平原汉族人群各20名志愿者抗凝血标本,志愿者全部为18-50周岁健康男性志愿者。

**1.2 试剂与仪器** 复方甘油溶液(北京博德桑特,批号:H11022503);便携式血氧饱和度检测仪(荷兰飞利浦,型号DB18);血氧分析仪(美国TCSScientificCorp,型号HEMOX-ANALYZER);全自动血细胞分析仪(中国特康科技,型号TEK3600)。

### 1.3 方 法

**1.3.1 标本处理** 采集新鲜全血标本利用EDTA进行抗凝,离心后取压积红细胞利用复方甘油溶液按照1:1的比例保存抗凝血,并将其迅速冷冻入-80℃保存。

**1.3.2 血氧饱和度检测** 使用便携式血氧饱和度检测仪,在志愿者平静的状态下,按照仪器要求测定。

**1.3.3 氧亲和力检测** 利用血氧分析仪HemoX™ analyzer在37℃条件下,测定样品的P<sub>50</sub>值。

**1.3.4 血红蛋白含量测定** 利用全自动血细胞分析仪进行检测。

**1.3.5 数据统计** 检测数据使用excel 2010进行数据录入和整理,使用GraphPad Prism软件处理数据,2组间比较用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 则认为差异具有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 血氧饱和度、氧亲和力、血红蛋白检测结果** 急进高原组的氧饱和度显著低于其他组;习服训练组的氧释放能力为4个群组中最高;习服训练组的血红蛋白显著高于其他3组,且世居高原人群血红蛋白低于其他3组人群,见表1。

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 08. 006

\* 基金项目:全军后勤科研重大专项子项(AWS13J004); $\Delta$ 通信作者:李翠莹(1969.09-),女,主任技师,主任,主要从事临床输血学及免疫血液学研究,电话:010-66928462,Email:licuiying2013@qq.com

表 1 不同群组间血氧饱和度、氧亲和力、  
血红蛋白检测结果比较

	世居平原组	急进高原组	习服训练组	世居高原组
SpO <sub>2</sub> (%)	96.35±1.09	87.8±2.73	90.35±2.92	94.2±3.07
P <sub>50</sub>	23.62±1.69	21.61±2.93	16.86±1.53	18.67±0.57
Hb(g/L)	153.9±8.39	168.4±9.56	172.8±11.4	133.7±17.2

注:世居平原组与急进高原组的氧饱和度比较, $P<0.0001$ ;世居平原组与世居高原组的氧饱和度比较, $P<0.01$ ;世居平原组与世居高原组氧亲和力比较, $P<0.0001$ ;世居平原组与急进组氧亲和力比较, $P<0.05$ ;世居平原组与习服组氧亲和力比较, $P<0.0001$ ;世居平原组与急进组、习服组、世居高原组血红蛋白比较, $P<0.0001$ ;急进组与习服组血红蛋白比较, $P>0.05$

### 3 讨论

本文研究分析世居平原、世居高原、世居平原人群急进高原及在高原习服人群的血氧饱和度、氧亲和力及血红蛋白数据。

结果研究结果显示,世居高原人群的血血红蛋白值较平原偏低,但其血氧饱和度及氧亲和力较低,即该类人群的氧释放能力明显高原平原人群。同时研究发现,急进高原人群的氧饱和度出现降低,同时其氧亲和力降低,提高了释放氧的能力,与此同时,其血红蛋白值较其在平时时显著提高。此外,研究发现习服训练人群相对其刚进入高原时,其释放氧的能力进一步显著增强,甚至出现较世居高原人群要强的情况。

上述数据分析可以发现,世居高原人群对于高原低压低氧环境的适应主要来自于其较高的氧释放能力;对于世居平原的人群在进入高原初期主要通过血红蛋白值的增加来提高其携氧能力,随着进入高原时间的延长,其释放氧的能力会逐步增加以来适应高原低压低氧的环境。

我国地域环境多样,其中海拔超过 1 000 米以上的高原较多,而普通人群进入海拔较高的高原,处于高原低压低氧的环境,容易出现头痛,失眠,食欲减退,疲倦,呼吸困难等多种高原反应,严重者甚至危及生命。红细胞的主要生理功能是运输和携带氧气,其中血氧饱和度、氧亲和力( $P_{50}$ )的数值又是衡量红细胞携放氧能力的重要指标,红细胞的重要成分又是携氧蛋白,红细胞运输氧的功能又是依赖 Hb 实现的。

本研究可以发现,从平原进入高原初期,由于高原低压低氧环境,人体适应性提高了血红蛋白含量及氧释放能力,

但其进入高原早期,体内的血氧饱和度明显低于其在平原,故人体容易出现缺氧症状,此时应建议根据高原反应的不同程度,给予吸氧。此外对于严重缺氧患者及需要治疗的患者输注富含氧的红细胞或放氧能力强的红细胞是否更为有效是一个值得研究的方向。另一方面,我们也发现,世居高原人群的血氧饱和度与平原人群接近,适应高原环境的高原人群氧释放能力显著高原平原人群。文献研究显示,耐缺氧因子(hypoxia inducible factor, HIF)相关基因在藏、汉族人群中存在显著差异,显示在藏族人群高原低氧适应过程中具有重要作用,但是其机制仍未阐明。世居高原藏族中的缺氧诱导因子在细胞低氧应答反应中起重要作用<sup>[6-8]</sup>,是否是由于高原人群体内基因的适应性改变导致这一结果受到了众多科学家的关注,我们在后期的研究中也将其进行进一步的研究探讨。

### 参考文献

- [1] Guyton AC, Hall JE. 医学生理学. 10 版(美). 北京:北京医科大学出版社, 2002:498.
- [2] 吴小东, 杜磊. 高原红细胞增多症. 中国输血杂志, 2013, 26(6):589-592.
- [3] Beau CM. Two routes to functional adaptation: Tibet and Andean high-altitude natives. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(1):8655-8660.
- [4] Bean CM. Detecting natural selection in high-altitude human populations. Respir Physiol Neurobiol, 2007, 15(2-3):161-171.
- [5] 韩玮, 刘景汉, 骆群, 等. 血液保存过程中红细胞对氧的结合及释放能力研究. 解放军医学杂志, 1999(5):380-381.
- [6] 李军, 王纯莹. 缺氧诱导因子对高原应激的影响. 解放军医学院学报, 2010, 31(5):517-519.
- [7] Xu XH, Huang XW, Qun L, et al. Two functional loci in the promoter of EPAS1 gene involved in high-altitude adaptation of Tibetans. Scientific Reports, 2014, 4:7465.
- [8] Simonson TS, Huff CD, Witherspoon DJ, et al. Adaptive genetic changes related to haemoglobin concentration in native high-altitude Tibetans. Experimental Physiology, 2015, 100(11):1263-1268.

(2017-02-06 收稿, 07-20 修回)

本文编辑:闻欣

欢迎赐稿

欢迎订阅

· 论著 ·

# 航空运输对红细胞能量代谢及携氧能力的影响\*

刘家玉<sup>1</sup> 卓海龙<sup>1</sup> 邵春燕<sup>1</sup> 赵丽坤<sup>1</sup> 赵晨君<sup>1</sup> 张菁<sup>1</sup> 骆群<sup>1Δ</sup> 甘新宇<sup>2</sup> 于丽君<sup>2</sup> 李翠莹<sup>3</sup>  
(1.军事医学科学院附属医院 输血科,北京 100071;2.成都军区总医院 输血科;3.空军总医院 输血科)

**摘要:**目的 观察航空运输对悬浮红细胞能量代谢及携氧能力的影响。方法 于成都采集并制备悬浮红细胞 30 袋(2 U/袋),每袋无菌技术分离出 100 mL 置于 4℃ 冰箱作为对照组,实验组成都至拉萨空运往返,在特定保存时间检测两组悬浮红细胞中的乳酸、葡萄糖、K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>、2,3-DPG 的含量。结果 实验组红细胞中 K<sup>+</sup> (20.00±0.00) mmol/L 和 PaCO<sub>2</sub> (109.9±8.15) mmHg 均高于对照组 K<sup>+</sup> (19.78±0.48) mmol/L 和 PaCO<sub>2</sub> (85.33±24.86) mmHg,且差异均具有统计学意义(P<0.05);实验组红细胞中葡萄糖(21.68±3.00) mmol/L 和 PaO<sub>2</sub> (47.97±17.37) mmHg 均低于对照组葡萄糖(22.30±2.40) mmol/L 和 PaO<sub>2</sub> (117.4±79.62) mmHg,且差异均具有统计学意义(P<0.05);实验组与对照组相比,Na<sup>+</sup>、2,3-DPG 含量的差异无统计学意义(P>0.05)。结论 航空运输会对红细胞能量代谢及携氧能力,尤其是 K<sup>+</sup>和乳酸含量有影响。

**关键词:**航空运输;红细胞能量代谢;红细胞携氧能力

**中图分类号:**R331.1<sup>+</sup>41 U8 R457.1 R135.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0874-03

**Effect of air transport on RBC energy metabolism and oxygen delivering capacity** LIU Jiayu<sup>1</sup>, ZHUO Hailong<sup>1</sup>, SHAO Chunyan<sup>1</sup>, ZHAO Likun<sup>1</sup>, ZHAO Chenjun<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>1</sup>, LUO Qun<sup>1Δ</sup>, GAN Xinyu<sup>2</sup>, YU Lijun<sup>2</sup>, LI Cuiying<sup>3</sup>. 1. Department of Blood Transfusion, Affiliated Hospital, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China; 2. Department of Blood Transfusion, the General Hospital of Chengdu Military; 3 Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital. Corresponding author: LUO Qun.

**Abstract: Objective** To observe the effect of air transport on energy metabolism and oxygen delivering capacity of red blood cells suspensions. **Methods** We collected and prepared 30 bags of red blood cells suspensions in Chengdu, then 100 mL were separated from each bags using aseptic technologie, leaved those separated bags in Chengdu and preserved in refrigerator at 4℃ as control group. Others were transported to Lhasa then back to Chengdu by air, as treatment group. The concentration of lactic acid, glucose, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, 2,3-DPG in red blood cells suspension were detected at different time during the shelf life of the RBCs. **Results** The mean level of K<sup>+</sup>(20.00±0.00) mmol/L and PaCO<sub>2</sub>(109.9±8.15) mmHg in treatment group were higher than K<sup>+</sup>(19.78±0.48) mmol/L and PaCO<sub>2</sub>(85.33±24.86) mmHg in control group. The mean level of glucose(21.68±3.00) mmol/L and PaO<sub>2</sub>(47.97±17.37) mmHg in treatment group were lower than glucose (22.30±2.40) mmol/L and PaO<sub>2</sub>(117.4±79.62) mmHg in control group. There was a significant difference(P<0.05) at the value of glucose, K<sup>+</sup>, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, no significant difference(P>0.05) emerged in the value of Na<sup>+</sup> and 2,3-DPG. **Conclusion** Air transport could impact the energy metabolism and oxygen delivering capacity of red blood cells.

**Key words:**air transport;RBC energy metabolism; RBC oxygen delivering capacity

西藏地区是我国西南边防的一道得天独厚的天然屏障,有着十分重要的战略地位。西藏地区海拔高,战创伤病员后失血耐受能力低、易发生休克、多器官衰竭发生早<sup>[1]</sup>,使得做高原卫勤保障重要组成部分的血液保障成为直接关系到战创伤救治能否成功的关键因素之一。血液的航空运输以其方便、快捷等特点,成为高原血液卫勤保障的首选。输血的目的是增加伤病员的红细胞数量,恢复对组织的供氧。因此,红细胞的功能状态尤其是运氧和释放氧的能力至关重要。乳酸、葡萄糖、2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)等指标可以

反映红细胞能量代谢和携氧运氧能力。本次实验研究了航空运输后再保存,是否会对红细胞能量代谢及携氧能力造成影响,同时对现行国标中的红细胞产品质量要求所包含的范围是否满足于航空运输条件下的高原血液保障做出讨论。

## 1 材料与与方法

**1.1 标本来源** 采集成都某部队健康献血者 400 mL 全血 30 人份。采血袋中保存液均为 CPDA 配方。

**1.2 悬浮红细胞的制备** 将全血按照标准流程离心后去除大部分血浆,按每 400 mL 全血离心后加入 100 mL MAP 保存液,制备得到悬浮红细胞。

**1.3 实验分组** 将成都采集制备的悬浮红细胞分成两组,实验组红细胞自成都空运至拉萨再空运回成都(飞行距离 2 525.8 km,运输时间 90 min,贮存容器为运血箱,运血箱温

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 08. 007

\* 基金项目:全军后勤科研重大专项子项(AWS13J004), Δ 通信作者:骆群(1967.07-),男,副主任医师,硕士研究生导师,主要从事临床输血免疫学、血液信息化管理、战时血液动员和运输方面的研究,(Tel)010-66947206,(Email) luogq66@aliyun.com

度 2~10℃),且分别于保存期的 d2、d7、d14 进行检测。对照组置于成都贮存于 4℃ 冰箱,于保存 d14 进行检测。保存 d2 的悬浮红细胞所测的数据视为采集时(运输前)的数据,航空运输后及再保存所测数据均与保存 d2 数据进行比较。

**1.4 仪器与试剂** Radiometer ABL800 型全自动血气分析仪;Thermo MK3 型酶标仪;Thermo Wellwash 型全自动洗板机;2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)ELISA 检测试剂盒(北京奇松生物科技有限公司)。

**1.5 检测方法** 用 Radiometer ABL800 型全自动血气分析仪检测悬浮红细胞中的乳酸、葡萄糖、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PCO}_2$ ;用 Thermo MK3 型酶标仪和 2,3-DPG ELISA 检测试剂盒,按照试剂盒说明书测定悬浮红细胞中的 2,3-DPG,再根据 Hb 值和测得的 2,3-DPG 的含量,计算出每克 Hb 中 2,3-DPG 的含量( $\mu\text{mol/gHb}$ )。

**表 1** 航空运输后再保存悬浮红细胞中乳酸、葡萄糖等检测结果

	乳酸( $\text{mmol/L}$ )	葡萄糖( $\text{mmol/L}$ )	$\text{K}^+$ ( $\text{mmol/L}$ )	$\text{Na}^+$ ( $\text{mmol/L}$ )	2,3-DPG( $\mu\text{mol/g}$ )	$\text{PaO}_2$ ( $\text{mmHg}$ )	$\text{PaCO}_2$ ( $\text{mmHg}$ )
保存 2 d	5.43±1.07	27.70±0.24	5.82±1.51	107.57±3.34	0.13±0.02	43.00±17.78	80.97±10.07
保存 7 d	11.54±1.62	25.99±1.96	13.96±2.11	103.63±2.43	0.12±0.02	44.43±16.68	105.07±8.64
保存 14 d	15.00±0.00	21.68±3.00	20.00±0.00	101.60±1.67	0.11±0.02	47.97±17.37	109.9±8.15

注:乳酸、葡萄糖、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、2,3-DPG、 $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$  值三组悬浮红细胞进行比较的  $F$  值分别为 539.4、64.67、654.3、40.33、2.933、0.6302、241.8,其中除了 2,3-DPG 的  $P=0.0585$  和  $\text{PaO}_2$  的  $P=0.5349$ ,其余各组均为  $P<0.0001$

**2.2 航空运输对悬浮红细胞能量代谢及携氧能力的影响** 分别对成都实验组和对照组保存 14 d 的悬浮红细胞进行检测,结果如表 2 所示。观察可得,实验组和对照组比较, $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、

**1.6 统计学分析** 采用 GraphPad Prism5 进行统计学分析,结果采用“平均值±标准差”表示,2 组数据间比较采用配对  $t$  检验,3 组数据间比较采用单因素方差分析,以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 保存时间和航空运输对悬浮红细胞能量代谢及携氧能力的影响** 分别对成都采集制备的悬浮红细胞在指定保存时间时进行检测,各项检测结果如表 1 所示。观察表 1 可得,随着航空运输和储存时间延长,红细胞中乳酸、 $\text{K}^+$ 、 $\text{PaCO}_2$ 、 $\text{PaO}_2$  的值逐渐增大,而葡萄糖、 $\text{Na}^+$ 、2,3-DPG 的值逐渐减小,除了  $\text{PaO}_2$ 、2,3-DPG 不具有统计学差异,其余各项均具有明显的统计学差异。

**表 2** 航空运输对悬浮红细胞中乳酸、葡萄糖等值的影响

	乳酸( $\text{mmol/L}$ )	葡萄糖( $\text{mmol/L}$ )	$\text{K}^+$ ( $\text{mmol/L}$ )	$\text{Na}^+$ ( $\text{mmol/L}$ )	2,3-DPG( $\mu\text{mol/g}$ )	$\text{PaO}_2$ ( $\text{mmHg}$ )	$\text{PaCO}_2$ ( $\text{mmHg}$ )
实验组	15.00±0.00	21.68±3.00	20.00±0.00	101.60±1.67	0.11±0.02	47.97±17.37	109.9±8.15
对照组	15.00±0.02	22.30±2.40	19.78±0.48	102.27±2.25	0.09±0.01	117.4±79.62	85.33±24.86

注:乳酸、葡萄糖、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、2,3-DPG、 $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$  值成都实验组与对照组相比  $t$  值分别为 1.00、2.19、2.45、0.71、1.01、5.28、6.61, $P$  值分别为 0.33、0.03、0.02、0.48、0.32、<0.0001、<0.0001

## 3 讨论

在血液采集、制备、储运等各个环节,红细胞的生理功能会受到如温度变化、机械损伤等各种因素的影响。本次研究中,我们观察了血液在成都与拉萨之间航空运输对红细胞生理功能的影响。在排除保存时间的影响的基础上,证实航空运输会对红细胞的能量代谢和携氧能力产生影响。

红细胞在离体 4℃ 保存的情况下,其代谢水平虽会明显降低但并未停止。随着 ATP 的不断消耗,红细胞需要通过无氧酵解消耗葡萄糖产生 ATP 来维持自身生理需求。在无氧酵解过程中,同时会产生乳酸、 $\text{CO}_2$  等物质。而且随着红细胞膜的破坏和 ATP 减少,会直接影响膜上钠-钾泵的功能,从而使细胞内  $\text{K}^+$  溢出,造成细胞外保存液中  $\text{K}^+$  升高而  $\text{Na}^+$  降低。因此,本文选择葡萄糖、乳酸、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  做为评价红细胞能量代谢的指标。2,3-DPG 是糖酵解途径的侧枝循环—2,3-二磷酸甘油旁路的中间产物<sup>[2]</sup>,因此随着红细胞代谢的需要,其 2,3-DPG 水平也会发生改变,且 2,3-DPG 的水平受 pH 值的影响,由于红细胞代谢过程乳酸的不断生成,会使 pH 发生改变从而影响 2,3-DPG 的值<sup>[3]</sup>。红细胞中的 2,3-DPG 能与 Hb 结合,来稳定 Hb 的空间构象,从而降低 Hb 对  $\text{O}_2$  的亲合力,促进  $\text{O}_2$  的释放<sup>[4]</sup>。因此,2,3-DPG 常被用来评价红细胞携氧能力的重要指标。此外,本次研究还对悬浮红细胞中

2,3-DPG、 $\text{PaCO}_2$  均有不同程度的升高,但只有  $\text{K}^+$ 、 $\text{PaCO}_2$  具有统计学差异,而葡萄糖、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{PaO}_2$  均有不同程度的降低,其中  $\text{Na}^+$  的变化不具有统计学意义。

$\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$  值进行了检测,用来评估其中游离的  $\text{O}_2$  和  $\text{CO}_2$ 。

航空运输后再保存的过程中,各项检测值的变化规律与之前报道过的随着储存时间延长而呈现的变化规律基本一致<sup>[5-6]</sup>。值得重点关注的, $\text{K}^+$  和乳酸的含量均有着十分显著的升高。其中  $\text{K}^+$  在航空运输再保存的 d2、d7、d14 时平均值分别达到了 5.82 mmol/L、13.96 mmol/L 和 20.00 mmol/L,与文献[7]报道的保存 d3、d16 的悬浮红细胞中  $\text{K}^+$  浓度为 7.37 mmol/L、21.9 mmol/L 基本一致。我们试做如下计算:以保存 d14 的悬浮红细胞中  $\text{K}^+$  浓度为 20 mmol/L 来计算,假设受血者血容量为 4 000 mL,基础血  $\text{K}^+$  浓度为 4.5 mmol/L。如输注 400 mL 上述库存血,在受血者血容量不受其他因素影响的情况下,理论上受血者  $\text{K}^+$  浓度就可增加至 5.9 mmol/L,已经高出正常参考值范围;输注 800 mL 则可增至 7.08 mmol/L;输注 1 200 mL 则可增至 8.07 mmol/L。 $\text{K}^+$  浓度 >8.5 mmol/L,窦房结可能全部被抑制,易发生心室颤动或心脏停搏<sup>[8]</sup>。有研究<sup>[9]</sup>认为,由于库存血输注量较小,血液输入后机体  $\text{Na}^+$ — $\text{K}^+$  泵摄  $\text{K}^+$  释  $\text{Na}^+$ ,使部分血  $\text{K}^+$  进入细胞内,且大量失血的情况下会补充大量液体造成血液稀释,而对血钾的影响不大。但是由于库存血中同时存在着乳酸、酮体等酸性物质。如本次研究表明,保存 d14 的悬浮红细胞中的乳酸含量就会达到 15 mmol/L,为保存初期的 3 倍以上。这是由于红细胞只能通过无氧酵解产生能量,糖酵解时丙酮酸还原成

乳酸, 库存悬浮红细胞中乳酸的含量会随保存时间的延长而增高<sup>[10]</sup>。因此, 大量输注库存血可能会出现代谢性酸中毒。高乳酸血症被认为是严重循环衰竭和休克的标志<sup>[11]</sup>。而且酸中毒时细胞外液氢离子增多, 向细胞内转移, 同时导致钾离子向细胞外转移, 会使血钾有所升高, 尤其是肾功能不全患者肾排钾功能下降, 往往导致高钾血症的发生<sup>[12]</sup>。本次研究通过控制其他变量, 而仅在航空运输的影响下, 航空运输后的悬浮红细胞与贮存于 4℃ 冰箱中的对照组相比, K<sup>+</sup> 浓度有显著性差异, 乳酸检测范围超出检测上限而未能得出确切的数值, 不能排除乳酸值也会在航空运输的影响下发生变化。有文献指出<sup>[13-14]</sup>, 严重创伤应选择控制性复苏治疗; 输注洗涤过的库存红细胞, 可有效降低血钾和乳酸含量, 取得了良好的临床效果。这就对高原创伤大量输血过程中, 如何采取相应措施预防代谢性酸中毒和高钾血症的发生提出了更高的要求。

综上所述, 航空运输及再保存会对红细胞能量代谢及携氧能力方面产生影响, 尤其对反映红细胞代谢的 K<sup>+</sup> 和乳酸浓度的影响最为显著。但是国标中并未对 K<sup>+</sup> 和乳酸等指标作出明确界定。航空运输后的红细胞在战创伤救治过程中大量、快速输注时, 高浓度的 K<sup>+</sup> 和乳酸会给患者造成不良影响。因此, 对航空运输后血液质量的评价, 在国标要求的检测指标的基础上, 应充分考虑评价红细胞生理功能的指标, 尤其是 K<sup>+</sup> 和乳酸的浓度。以期及时的采取缩短保存时间、控制性输注、洗涤等一系列方法, 预防和控制不良反应的发生。本次研究便关注了航空运输后再保存的悬浮红细胞在国标中未涉及的红细胞能量代谢和携氧能力的影响, 并得出确切结论。在符合现有国标所要求的检测指标的基础上, 期望对高原地区充分保障血液输注的安全性方面提供一定的理论参考。

参 考 文 献

[1] 杨志焕. 高原战创伤的特点及救治. 创伤外科杂志, 2006, 8(4): 289-294.

[2] 周武, 汪德清. 红细胞功能检测方法的研究进展. 中国输血杂志, 2010, 23(8): 648-650.

[3] 冯国基, 郑长清, 刘景汉, 等. 海水浸泡对保存血液中 2,3-DPG、ATP 含量与 pH 值影响的实验研究. 实用医药杂志, 2004, 21(10): 910-913.

[4] 李正刚, 范恩勇, 孙海英, 等. 保存时间对库存悬浮红细胞血液指标变化的影响. 实用临床医药杂志, 2016, 20(1): 155-157.

[5] 李遥金, 王翔, 兰珂. 血液保存对红细胞携氧功能及能量代谢的影响. 中国输血杂志, 2009, 22(6): 439-442.

[6] Elliott Bennett-Guerrero, Tim H. Veldman, Allan Doctor, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. PNAS, 2007, 104(43): 17063-17068.

[7] 冯博, 段澜, 王景文, 等. 悬浮红细胞储存时间对制备的洗涤红细胞钾离子和游离血红蛋白含量的影响. 中国输血杂志, 2012, 25(9): 834-836.

[8] 钟慧, 梁雪村, 陈张根, 等. 含血预充液超滤技术在婴儿心脏手术中的应用. 中国胸心血管外科临床杂志, 2010, 17(6): 450-454.

[9] 吴争胜, 杨茜. 不同量红细胞输注血液学指标的监测与探讨. 实用医学杂志, 2009, 25(16): 2679-2681.

[10] 陈文思, 王潭枫, 林美玲, 等. ACD-B 红细胞悬液保存期内生化指标的动态观察. 国际医药卫生导报, 2007, 13(8): 82-86.

[11] 车轰, 赵天力, 杨一峰, 等. 连续动脉血乳酸水平与先天性心脏病手术预后的关系. 中国胸心血管外科临床杂志, 2010, 17(4): 347-349.

[12] 尚丽娟. 大量输血对严重创伤患者血钾的影响. 临床血液学杂志, 2016, 29(6): 468-450.

[13] 曾学平. 大量输血前后血钾浓度变化及高钾血症发生的影响因素. 中国医学装备, 2013, 10(12): 108-110.

[14] de Vroeghe R, Wildevuur WR, Muradin JA, et al. Washing of stored blood cells by an autotransfusion device before transfusion. Vox Sang, 2007, 92(2): 130-135.

(2017-02-06 收稿, 03-06 修回)

本文编辑: 李弘武

## 关于第 28 届地区性(非欧洲)国际输血大会 中文摘要投稿截止日期延期的通知

各省、自治区、直辖市血液中心和科研院所:

由国际输血大会主办、中国输血协会和广州血液中心共同承办的第 28 届地区性(非欧洲)国际输血大会定于 2017 年 11 月 25-28 日在广州白云国际会议中心召开。英文摘要投稿系统已于 8 月 3 日关闭, 感谢您的热情参与和踊跃投稿。应部分作者要求, 经组委会讨论, 本届大会的中文摘要投稿截止时间由原来的 2017 年 8 月 3 日 23 时 59 分延长至 2017 年 8 月 13 日 23 时 59 分, 注册参会截止时间不变。

中文摘要投稿地址: <http://www.isbt-china.com/Data/List/Abstract-Submission>

如有任何问题请及时与我们联系。

联系人: 钟慧斌 罗伟峰

联系电话: 020-83593354 020-83594547

大会组委会

## 藏、汉族中遗传差异与高原低氧适应研究\*

李小薇 李翠莹<sup>△</sup>(空军总医院 输血科,北京 100142)

**摘要:**高海拔低氧是人类面临的严峻环境考验,容易引起高原病发生,而世居高原人群却对其具有独特的适应性。近年来有研究表明,缺氧诱导因子(hypoxia inducible factors, HIFs)相关的 *EPAS1*、*EGLN1/PHD2* 和 *HIF-1A* 基因多态性与表达在藏族、汉族人群中存在显著差异。对于这 3 种基因的深入研究有助于揭示藏族人适应高原的遗传机制。我们总结了近年来国内外关于 *EPAS1*、*EGLN1/PHD2* 和 *HIF-1A* 基因多态性、表达与高原低氧适应之间的关系。

**关键词:**高原低氧;高原适应;高原适应性基因;遗传差异

**中图分类号:**R457.1 P941.74 R394 R135.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0877-03

**The correlation of genetic variation and high-altitude hypoxia adaption between Tibetans and Han populations** LI Xiaowei, LI Cuiying, Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China. Corresponding author: LI Cuiying

**Abstract:** High altitude hypoxia possessed a serious threat for human beings, which may easily lead to high altitude sickness. However, those people lived on the plateau for generations have developed unique adaptability to cope with hypoxia. Recent studies have demonstrated that gene variants related to hypoxia inducible factors (HIFs), such as *EPAS1*, *EGLN1/PHD2* and *HIF-1A* genes, presented significant differences between Tibetan and Han populations. Further studies of these three genes may help to reveal the genetic mechanism of how the Tibetans manage to adapt to the plateau environment. This review focuses on the research investigating the connection between high-altitude hypoxia adaption and gene mutation or expression of *EPAS1*, *EGLN1/PHD2* and *HIF-1A* genes.

**Key words:** high-altitude hypoxia, high-altitude adaptation, high-altitude adaption genes, genetic differentiation

青藏高原平均海拔超过 4 000 m,氧浓度仅约为海平面的 60%,是人类面临最严峻的环境挑战。该地区藏族人具有对抗低氧环境的遗传适应,如低的血红蛋白浓度、高的婴儿出生体重、高的运动后成人血氧饱和度等<sup>[1]</sup>。而平原人急进高原后则会发生一系列生理或病理改变,包括血红蛋白浓度显著升高、红细胞计数增加等,严重者可导致肺水肿、脑水肿等急性高原病<sup>[2]</sup>。这些结果提示高原适应(high-altitude adaptation, HAA)机制可能是环境和遗传共同作用的结果。近年来全基因组连锁分析发现,从分子生物学层面揭示其存在的遗传基础。

低氧诱导因子(hypoxia inducible factors, HIFs)是由可变  $\alpha$  亚基和稳定  $\beta$  亚基组成的异二聚体转录因子,两者均包含 bHLH 结构域、PAS 结构域和羧基末端的反式活化结构域及入核信号。目前认为  $\alpha$  亚基的序列同源性有 3 种,分别是 HIF-1 $\alpha$ 、HIF-2 $\alpha$  和 HIF-3 $\alpha$ ,三者均受氧浓度调节,是调节 HIF 活性的功能亚单位<sup>[3]</sup>;  $\beta$  亚基(又称芳香羟受体核易位子,ARNT)是细胞内稳定存在的结构亚单位。HIF 的发现为高原低氧适应基因的寻找工作提供了线索。其中研究较多的是 HIF-1 和/或 HIF-2 相关的 *EPAS1*、*EGLN1* 和 *HIF-1A* 等基因与 HAA 机制的关系<sup>[4-5]</sup>。本文主要概述高原低氧适应

基因在藏、汉族中的遗传差异。

1 *EPAS1* 基因在藏、汉族中的遗传差异

*EPAS1*(endothelial PAS domain protein 1, *EPAS1*)基因编码低氧诱导因子 HIF2 $\alpha$  蛋白,对于机体应对低氧的转录调控具有重要作用,直接参与下游促红细胞生成素(*EPO*)、血管内皮生长因子(*VEGF*)等相关基因的转录。

近年全基因组关联分析发现,藏族中 *EPAS1* 基因 H1 单体型频率为 89.1%,而东亚人群仅为 3.4%<sup>[6]</sup>;且 *EPAS1* 基因调控区(内含子区和 3'-UTR 区)的遗传变异参与藏族的高原低氧适应<sup>[1]</sup>。

Xu 等<sup>[4]</sup>采用  $F_{ST}$  和 XP-CLR 等方法发现,藏族和汉族中 *EPAS1* 基因启动子区 3 个单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs)(rs56721780: G > C, -742 indel 和 rs13428739: C>T)存在显著差异,且其构成的单倍型在藏族中频率为 34.6%,而汉族中未发现。Peng 等<sup>[7]</sup>运用相同的方法,在藏族和汉族中进行比较,验证 *EPAS1* 的自然选择信号,并发现超过一半的 SNPs 存在显著差异。

Beall 等<sup>[8]</sup>在藏、汉族中进行全基因组 SNPs 分型发现, *EPAS1* 基因下游 366-235 kb 之间 8 个 SNPs 在藏族中普遍存在;且它们构成的单体型在藏族中频率为 46%,而在汉族中仅 2%。同时分析 70 名居住在海拔 4 000 m 以上的藏族人 SNPs 与血红蛋白的关联分析,纯合变异比杂合变异的血红蛋白浓度约低 0.8 g/dL,证实 *EPAS1* 基因 31 个 SNPs 与血红

蛋白浓度密切相关。

藏族中 HAA 研究发现;*EGLN1* 基因缺失变异为有功能的藏族高原适应基因型<sup>[9-10]</sup>;但 *PPARA* 基因外显子、外显子-内含子交界处、启动子区目前均未发现与 HAA 相关序列变异<sup>[11]</sup>; *EPAS1* 基因测序结果显示与 HAA 相关的位于编码区的功能变异较少<sup>[12]</sup>。

基于前人研究, Lou 等<sup>[13]</sup>发现 *EPAS1* 基因存在 TED (Tibetan-enriched deletion) 拷贝数变异 (CNVs) 与 HAA 相关。TED 位于 *EPAS1* 基因下游 80 kb 处, 藏族中 90% 携带 TED, 50% 为纯合缺失; 而世界其他人群仅有 3% 携带 TED, 0% 为纯合缺失。同时, TED 与 *EPAS1* 变异 (rs1447563 和 rs4953388) 存在强烈的连锁不平衡, 与血液中血红蛋白浓度的减少密切相关。低的血红蛋白浓度可促进血液流动, 降低血液粘滞性, 利于高原低氧适应。

此外, *EPAS1* 基因 mRNA 表达在藏、汉族中亦存在显著差异。Petousi 等<sup>[14]</sup>研究发现藏族人 (处于平原时) 外周血淋巴细胞中 *EPAS1* 基因表达水平显著低于平原, 而 *EGLN1* 未见差异。另 Peng 等<sup>[15]</sup>结果显示携带高原适应变异的藏族脐带内皮细胞和胎盘中 *EPAS1* 表达水平显著低于未携带者。这些结果揭示适应高原的 *EPAS1* 基因变异可通过调节基因转录水平促进藏族适应高原。可能的调节机制是高原低氧环境下藏族中 HIF2 $\alpha$  表达量低于汉族, 下游基因 (*EPO*、*VEGF* 等) 转录水平被抑制, 则机体内生理指标如红细胞和血红蛋白等不会持续升高, 因此可减少红细胞过度增生导致的血液黏滞度增加。

## 2 *EGLN1/PHD2* 基因在藏、汉族中的遗传差异

*EGLN1* (egl nine homolog 1, *EGLN1*), 又被称为 PHD2, 编码脯氨酸羟化酶 2, 在低氧诱导因子的羟基化调节中起重要作用, 被认为是“核心氧感受器”。当氧含量正常时, *EGLN1* 特异性羟化 HIF 可变  $\alpha$  亚基, 由泛素蛋白酶解系统的 E3 泛素连接酶复合物识别并降解; 当含氧量低时, 脯氨酸基的羟化作用减弱,  $\alpha$  亚基不能被降解, 则进入胞核与 HIF- $\beta$  形成二聚体, 与目标基因的低氧反应元件结合, 间接参与 HIF 下游靶基因转录 (*EPO*、*VEGF* 等)<sup>[5]</sup>。

李骞等<sup>[16]</sup>研究发现, *EGLN1* 基因的 6 个 SNPs 位点 (rs2066140、rs2808584、rs2491405、rs2486741、rs2486734 和 rs21533646) 的纯合基因型在藏族和汉族间均具有统计学差异。同时, 单倍型分析显示藏族中单倍型“G-G (rs2066140 和 rs2808584)”和“G-C (rs2486741 和 rs2486734)”显著高于汉族, 单倍型“C-A (rs2066140 和 rs2808584)”和“C-T (rs2486741 和 rs2486734)”显著低于汉族。该研究结果提示, *EGLN1* 基因 6 个 SNPs 位点的纯合基因型和所构建的单倍型与藏族人低氧适应密切相关。

Zhang 等<sup>[17]</sup>搜集 190 例急性高原病 (acute mountain sickness, AMS) 患者和 190 例对照样本 DNA, *EGLN1* 和 *HIF-1AN* 基因型分析结果发现, *EGLN1* 基因 5'-UTR rs12406290 的“AG”和“GG”基因型, rs2153364 的“AG”和“GG”基因型与 AMS 发病频率增加相关。校正年龄和吸烟因素后, LD 系数分析发现 *EGLN1* 基因 5'-UTR rs12406290-rs2153364 上单倍

型“G-G”改变转录因子结合位点, 影响 *EGLN1* 基因表达, 进而影响 HIF-1 $\alpha$  调控, 与急性高原病发病密切相关。

Lorenzo 等<sup>[10]</sup>发现藏族中 *EGLN1* 基因外显子 1 上遗传变异 c. (12C>G; 380G>C) 频率接近 100%, 而非藏族突变频率约为 20%, 提示该变异表型利于藏族人适应高原低氧环境。其调节机制是 *EGLN1* 基因变异可以引起低氧诱导因子 HIFs 降解; *EGLN1* p. (Asp4Glu; Cys127Ser) 变异表现为缺氧 Km 值, 促进低氧条件下 HIF 降解增加。 *EGLN1* c. (12C>G; 380G>C) 变异抵消低氧诱导和 HIF 介导的红细胞生成增多, 为藏族人高原环境下免受红细胞增多症困扰提供分子机制的依据。

## 3 *HIF-1A* 基因在藏、汉族中的遗传差异

*HIF-1A* 基因编码低氧诱导因子 HIF-1 $\alpha$ , 是低氧条件下的主要转录因子, 与 HIF-2 $\alpha$  一起通过调控 *EPO*、*VEGF*、诱导型一氧化氮合酶 (*iNOS*) 等下游基因表达, 提高氧的利用率, 进而增强机体对低氧的耐受性。

刘坤祥等<sup>[18]</sup>研究结果表明, *HIF-1A* 基因 SNP 位点 G1790A 的 GG、GA 和 AA 基因型在藏族和汉族中的分布频率分别为 60.47% 和 75.56%、36.05% 和 21.11%、3.48% 和 3.33%, 藏族中 GG 基因型频率显著低于汉族, 而 GA 基因型频率显著高于汉族, 提示 GA 基因型可能与低氧适应相关。熊辉霞等<sup>[19]</sup>研究发现, 青海地区藏族中 *HIF-1A* 基因 rs11549465 位点 CT 基因型和 T 等位基因频率均显著高于汉族, 表明 T 等位基因利于高原低氧适应。

Gelfi 等<sup>[20]</sup>研究发现, 4 000 m 以上居住的藏族在低海拔时, 与低海拔处 1 300 m 汉族相比, HIF-1 $\alpha$  mRNA 表达水平下降 60%。另关巍等<sup>[21]</sup>研究发现, HIF-1 $\alpha$  蛋白水平在中度海拔藏、汉族之间无显著差异; 高海拔汉族明显高于平原和中度海拔汉族; 同一海拔藏、汉族之间无显著差异。

## 4 小结与展望

综上, 多项研究均发现耐缺氧基因 *EPAS1*、*EGLN1* 和 *HIF-1A* 遗传变异及表达水平在藏、汉族中存在显著差异, 提示在藏族高原低氧适应过程中具有重要作用, 但是 HAA 的遗传机制仍未阐明。这些基因多态位点的差异使得高原低氧条件下藏族等人群可以适应极端环境, 而平原人群中某些人同样存在这种基因多态性, 但是对于高原低氧环境的生理表现型却迥然不同, 这表明高原低氧适应是遗传差异与自然选择压力共同作用的结果。

此外, 目前许多研究主要集中在藏族和低海拔人群的遗传差异及与血红蛋白浓度的相关性, 但低氧条件下不同人群中耐缺氧基因表达水平是否直接与下游靶基因表达水平及有效红细胞数目成正比未见报道。同时, 目前研究仍存在许多不足, 如样本量较小, 未进行生理功能验证, 以及缺乏流行病学研究等。

虽然在高海拔居民低氧适应研究领域有了很大进步, 但耐缺氧基因功能性编码区序列变异的证据仍不足, 因此除需将研究重点放在努力阐述存在于基因编码区的基因及功能基础上, 更应该进行高原低氧条件下表现型、生理功能等方

面验证。

### 参 考 文 献

- [1] Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *Science*, 2010, 329 (5987):75-78.
- [2] 张玉华, 赵敬湘, 王瑛, 等. 急进高原高海拔地区高原反应发生情况分析及紧急献血可行性初步探讨. *军事医学*, 2014, 38 (09):672-674.
- [3] Wang GL, Jiang BH, Rue EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(12):5510-5514.
- [4] Xu XH, Huang XW, Qun L, et al. Two functional loci in the promoter of EPAS1 gene involved in high-altitude adaptation of Tibetans. *Sci Rep*, 2014, 4:7465.
- [5] Song D, Li LS, Arsenault PR, et al. Defective Tibetan PHD2 binding to p23 links high altitude adaptation to altered oxygen sensing. *J Biol Chem*, 2014, 289(21):14656-14665.
- [6] Xu S, Li S, Yang Y, et al. A genome-wide search for signals of high-altitude adaptation in Tibetans. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(2):1003-1011.
- [7] Peng Y, Yang Z, Zhang H, et al. Genetic variations in Tibetan populations and high-altitude adaptation at the Himalayas. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(2):1075-1081.
- [8] Beall CM, Cavalleri GL, Deng L, et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2alpha) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(25):11459-11464.
- [9] Xiang K, Ouzhuluobu, Peng Y, et al. Identification of a Tibetan-specific mutation in the hypoxic gene EGLN1 and its contribution to high-altitude adaptation. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(8):1889-1898.
- [10] Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nat Genet*, 2014, 46(9):951-956.
- [11] Pineda TI, Jamshidi Y, Flavell DM, et al. Characterization of the human PPARalpha promoter: identification of a functional nuclear receptor response element. *Mol Endocrinol*, 2002, 16(5):1013-1028.
- [12] Huerta-Sánchez E, Jin X, Asan, et al. Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA. *Nature*, 2014, 512(7513):194-197.
- [13] Lou H, Lu Y, Lu D, et al. A 3.4-kb Copy-Number Deletion near EPAS1 Is Significantly Enriched in High-Altitude Tibetans but Absent from the Denisovan Sequence. *Am J Hum Genet*, 2015, 97(1):54-66.
- [14] Petoussi N, Croft QP, Cavalleri GL, et al. Tibetans living at sea level have a hyporesponsive hypoxia-inducible factor system and blunted physiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* (1985), 2014, 116(7):893-904.
- [15] Peng Y, Cui C, He Y, et al. Down-Regulation of EPAS1 Transcription and Genetic Adaptation of Tibetans to High-Altitude Hypoxia. *Mol Biol Evol*, 2017, 4(34):818-830.
- [16] 李骞, 刘舒媛, 林克勤, 等. EGLN1 基因 6 个单核苷酸多态性与高海拔低氧适应的相关性. *遗传*, 2013, 35(08):992-998.
- [17] Zhang E, Zhang J, Jin J, et al. Variants of the low oxygen sensors EGLN1 and HIF-1AN associated with acute mountain sickness. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(12):21777-21787.
- [18] 刘坤祥, 孙学川, 王圣巍, 等. HIF-1 基因 C1772T、G1790A 多态性与藏族人群高原低氧适应关系的研究. *生物医学工程学报*, 2007, 24(03):654-658.
- [19] 熊辉霞, 李占全, 崔森, 等. 青海地区汉族和藏族人群 HIF-1α 基因 rs11549465 多态性与慢性高原病的关系. *环境与健康杂志*, 2014, 31(11):999-1002.
- [20] Gelfi C, De Palma S, Ripamonti M, et al. New aspects of altitude adaptation in Tibetans: a proteomic approach. *FASEB J*, 2004, 18(3):612-614.
- [21] 关巍, 许金花, 王晋, 等. 低氧诱导因子-1α、血管内皮生长因子及胎盘生长因子在不同海拔世居藏族及移居汉族青年中的水平及意义. *实用医学杂志*, 2013, 29(23):3889-3892.

(2017-02-06 收稿, 08-10 修回)

本文编辑:李宜蔓

## 严 正 声 明

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

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

特此声明,谢谢大家!

## 接枝不同官能团的聚酯材料对血小板黏附及其功能的影响研究\*

钟锐 贺曾 张学俊 韩玘玘 刘嘉馨 王红<sup>△</sup>(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** 考察接枝不同官能团(-COOH、-OH、两性基团)的聚对苯二甲酸丁二醇酯(PBT)膜对血小板黏附及血小板功能的影响,选择适用于过滤去除浓缩血小板中白细胞的材料。**方法** 利用紫外改性的方法,将不同单体包括丙烯酸(AA)、丙烯酸羟乙酯(HEA)和 N-(3-磺丙基)-N-甲基丙烯酸基氧乙基-N,N-二甲铵内铵盐(SMDB)接枝到 PBT 表面,得到接枝不同官能团的 PBT 膜,包括 PBT-AA(-COOH)、PBT-HEA(-OH)、PBT-SMDB(两性基团);通过傅里叶红外光谱、水接触角及表面粗糙度等指标对改性 PBT 的理化性能做表征,采用扫描电镜观察改性 PBT 对血小板的黏附,并通过检测 PBT 改性前后的血小板聚集率、低渗休克相对变化、CD62p 表达率等指标,考察改性 PBT 对血小板功能的影响。**结果** 在红外光谱的 1 047 和 1 043 cm<sup>-1</sup>处出现了 C-O-C 的弯曲振动峰和 O=S=O 的对称伸缩振动峰,提示 HEA 和 SMDB 接枝到了 PBT 膜表面。扫描电镜显示:未改性的 PBT 膜表面黏附的血小板数明显多于改性 PBT 膜表面,且可以观察到明显的伪足。血小板黏附数在接枝不同官能团的 PBT 膜表面顺序为:-COOH>两性基团>-OH。未改性 PBT 组(n=6)与对照组(未接触材料的血小板)(n=6)比较;血小板最大聚集率(%)为 87.22±2.10 vs 82.36±2.11,低渗休克相对变化率(%)为 79.33±1.27 vs 77.12±1.09,CD62p 表达率增加(%)为 9.78±0.58 vs 17.45±1.25(P<0.05)。在接枝不同官能团的改性 PBT 膜中,PBT-HEA(n=6)对血小板聚集和血小板活化等功能影响最小[血小板最大聚集率(93.34±1.45)%、血小板低渗休克相对变化率(81.26±1.48)%、CD62p 表达率(12.51±0.85)%]。**结论** 表面接枝 HEA 的聚酯对血小板的黏附及功能影响明显小于接枝其他官能团的材料,或可作为用于浓缩血小板过滤去除白细胞的新材料。

**关键词:**聚对苯二甲酸丁二醇酯;血小板黏附;血小板聚集;低渗休克;CD62p 表达;浓缩血小板;白细胞过滤

**中图分类号:**TQ349.92 R331.1<sup>+</sup>43 R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0880-05

**The impact of PBT membranegrafting with functional groups on platelet adhesion and platelet function** ZHONG Rui, HE Zeng, ZHANG Xuejun, HAN Dingding, LIU Jiaxin, WANG Hong. Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Chengdu 610052, China. Corresponding author: WANG Hong.

**Abstract: Objective** To evaluate the effects of polybutylene terephthalate (PBT) membrane grafting with different functional groups(-COOH, -OH and zwitterionic sulfobetaine group) on platelet adhesion and platelet function, and select suitable filter material for depletion leukocyte from platelet concentrations(PCs). **Methods** PBT-AA(-COOH), PBT-HEA(-OH), PBT-SMDB(zwitterionic sulfobetaine groups) membranes obtained by UV radiation with monomers including acrylic acid(AA), hydroxyethyl acrylate(HEA), N-(3-sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethylammonium betaine(SMDB). The physical and chemical properties of modified PBT was characterized by attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectra(FITR), water contact angle, zeta potential and surface roughness. Platelet adhesion was observed by SEM, and platelet aggregation, platelet hypotonic shock rate(HSR) and platelet activation(expression of CD62P) were investigated. **Results** The new absorption at 1 047 cm<sup>-1</sup> was ascribed to symmetric and antisymmetric C-O-C stretching vibration of HEA, and 1 043 cm<sup>-1</sup> was belonged to asymmetric O=S=O stretching vibration of SMDB, which was confirmed that HEA and SMDB had been grafted on the surface of PBT successfully. SEM results showed that PBT adhered much more platelet than other modified membranes, and protrusions of platelet was obvious. The number of platelet adhesion to membrane decreased in the order: the surface bearing COOH > the surface bearing sulfobetaine group > the surface bearing OH. Furthermore, compared with the native control(n=6), the max platelet aggregation ratio(%) (control vs PBT was 87.22±2.10 vs 82.36±2.11, P<0.05) and HSR(%) (control vs PBT was 79.33±1.27 vs 77.12±1.09, P<0.05) decreased, and CD62p(%) positive expression rate (control vs PBT was 9.78±0.58 vs 17.45±1.25, P<0.05) increased significantly. Among the modified PBT membranes, PBT-HEA(n=6) almost had no impact on platelet function[ max platelet aggregation

ratio was (93.34±1.45)%, HSR was (81.26±1.48)%, CD62p positive expression rate was (12.51±0.85)%].

**Conclusions** PBT-HEA adhered minimal platelet and has little impact on platelet function, which is expected to be used as a new material for the removal of leukocyte from PCs.

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.009

\* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目 51403238); △通信作者:王红(1968.12-),女,副主任技师,主要从事生物医用材料与器具、血液保存和血液代用品等研究,电话:028-61648511, Email: smile9918@126.com

**Key words:** PBT, platelet adhesion, platelet aggregation, platelet hypotonic shock, CD62P positive expression rate, platelet concentrates, leukocyte filtration

血小板浓缩制剂 (platelet concentrates, PCs) 已成为治疗和预防血小板减少症和血小板功能障碍出血的重要手段。有研究显示,当 PCs 残留的白细胞数 (WBC)  $< 5 \times 10^6 / L$ , 就能避免人白细胞抗原系统 (human leukocyte antigen, HLA) 同种免疫反应,当  $WBC \leq 1 \times 10^4 / L$ , 则可能不产生抗-HLA<sup>[1]</sup>; 因此过滤去除白细胞是临床输血常用的方法。聚酯纤维无纺布由于较大的比表面和多孔性,已被用作白细胞过滤材料,由于它是 1 种疏水材料,血液相容性差,必须做亲水性改性。早期常在聚酯材料表面涂覆或接枝丙烯酸及其衍生物,再用作全血或红细胞悬液白细胞过滤材料,尽管大大提高了材料的亲水性和白细胞去除率,但由于其羧基含量高,对血细胞功能有一定的影响<sup>[2-3]</sup>。近年有人研究在聚酯无纺布接枝聚丙烯酸的基础上,再向材料表面沉积羟基磷灰石,在高效去除白细胞的同时红细胞回收率也较高,但问题是血小板黏附也较多<sup>[4]</sup>。虽然采用磷脂酰胆碱基团改性后的聚酯无纺布明显提高了血小板的回收率,但其对血小板功能的影响同样值得探讨<sup>[5-8]</sup>。有研究者对羟乙基纤维素及其同系物涂层改性聚酯,如 Poly (butylene terephthalate, PBT) 溶喷材料亲水性的实验显示,羟乙基纤维素涂层后材料亲水性得到了改善<sup>[9]</sup>。国外有人采用在材料表面涂覆或接枝与白细胞受体特异性结合的配体 (如多肽类),过滤时间减少,白细胞去除率明显增加,但这些研究同样未涉及材料对血小板黏附及血小板功能的影响<sup>[10-11]</sup>。我们先前曾将氧气等离子体活化后接枝聚乙炔吡咯烷酮和紫外接枝两性基团 N-(3-磺丙基)-N-甲基丙烯酸基氧乙基-N,N-二甲基铵内铵盐 [N-(3-sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethylammonium betaine (SMDB)] 的聚酯 (PBT 无纺布滤材),证实二者的白细胞去除率均高于改性的丙烯酸,对红细胞损伤小 (溶血率远低于国家标准规定的 5%),但前者血小板回收率低且对血小板聚集功能有一定影响,后者血小板回收率增加但白细胞去除率却随之有所降低<sup>[12-14]</sup>。血小板的激活可促进白细胞黏附,但同时也可能导致血小板发生形变,出现黏附、聚集和释放反应,形成聚集体并进一步形成血栓<sup>[15]</sup>。由此可见,如何在高效去除白细胞的同时减少血小板黏附,且对血小板功能影响小,是 PCs 用白细胞过滤材料研究的难点和关键点。我们采用紫外光照使 PBT 膜表面分别接枝  $COOH$ 、 $OH$ 、两性基团 3 种官能团,考察不同它们对血小板黏附及血小板功能的影响,旨在选择适用于 PCs 过滤去除白细胞的材料,报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验材料与试剂** 新鲜 O 型合格全血 3 袋 (300 mL/袋,德阳市中心血站提供,2015 年 12 月采集,CPDA 抗凝,保存于 4℃,采集 4-6 h 后用于实验);PBT 平板膜 (东莞市联胜塑胶材料有限公司,1 卷,长 50 m,宽×厚 = 20 cm×0.2 mm)。二苯甲酮 (BP) (批号 20120426)、丙烯酸 (acroleic acid, AA) (批号 20120406) (上海国药集团);丙烯酸羟乙酯 (hydroxy-

ethyl acrylate, HEA) (批号 S74894-159)、SMDB (批号 BCBF1864V) (美国 SIGMA);三氯化铁 ( $FeCl_3$ ) (批号 20080825,天津市博迪化工有限公司);丙酮 (批号 941230,广东新宁化工厂);无水乙醇 (批号 20140720,成都科龙化工试剂厂) (以上试剂均为分析纯);腺苷二磷酸 (ADP) (批号 11-15-5366)、肾上腺素 (批号 5-15-5367) (美国 Helena Laboratories);CD62-FITC (批号 4155637)、IgG-PE (批号 3354875)、CD62P-PE (批号 4197881) (美国 BD)。

**1.2 主要仪器** 紫外辐照装置 (自制,紫外灯购自成都纳普光电公司,200 w);傅立叶变换红外光谱仪 (Spectrum 100,美国 PE);视频光学法接触角测量仪 (OCA20,德国 Dataphysics);原子力显微镜 (Nanoscope 3D multimode,美国 veeco);扫描电镜 (Inspect S50,美国 FEI);zeta 电位分析仪器 (Delsa™, Nano C,美国 Beckman Coulter);全波长酶标仪 (Epoch,美国 Biotek);血小板聚集仪 (AggRAM™,美国 Helena Laboratories);流式细胞仪 (FACS Calibur,美国 BD)

**1.3 PBT 表面紫外改性** PBT 平板膜改性前需预处理:将 PBT 平板膜裁剪成 6 cm×6 cm,并依次浸泡于丙酮、无水乙醇和超纯水各超声 10 min 后,烘箱 40℃ 烘干至恒重,存放于常温待用。

**1.3.1 AA 接枝** 将上述处理好的 PBT 材料浸泡于传统光引发剂 BP 溶液 (0.05 mol/L,无水乙醇配制) 中,静置 0.5 h;再将材料自然风干,置于 AA 溶液 (超纯水配制) 中,在氮气 (99.999%) 环境中,紫外辐照 30 min 后,将改性的 PBT 依次置于丙酮中洗涤 2 h,超纯水超声洗涤 10 min,除去残余单体及均聚物;最后将样品烘干至恒重。

**1.3.2 HEA 接枝** 将处理好的 PBT 材料浸泡于引发剂溶液 (0.33 mol/L BP, 0.000 7 mol/L  $FeCl_3$ , 丙酮配制) 中,静置 0.5 h 后将材料自然风干,置于 HEA 溶液 (超纯水:乙醇 = 1:1) 中,在氮气 (99.999%) 环境中,紫外辐照 (200 w) 30 min;洗涤方法同上;最后将样品烘干至恒重。

**1.3.3 SMDB 与 AA 共聚接枝** 除 PBT 材料是置于 SMDB 和 AA 溶液 (超纯水:乙醇 = 1:1) 外,其他实验材料程序、步骤同 1.3.2。

**1.4 红外光谱** 将接枝好的各样品真空干燥 2 h,采用 FTIR 红外仪检测材料表面 (光谱分辨率为  $2 \text{ cm}^{-1}$ )

**1.5 静态表面接触角** 将接枝好的各样品水平置放于静态接触角测量仪载物台上,使用超纯水作为接触液体,滴水量 0.02 mL/次。

**1.6 电动电势 (zeta potential, zeta 电位)** 将接枝好的各样品洗涤干净并烘干至恒重,按照 zeta 电位分析仪说明书规范的步骤装好样品台,注入测试固体表面电位工作液,保证无气泡后,开始检测。

**1.7 表面粗糙度 (Ra)** 采用原子力显微镜的轻敲模式扫描接枝不同官能团的 PBT 膜表面,扫描频率为 1.0 Hz,扫描面积为 50  $\mu\text{m}$ 。

**1.8 血小板黏附** 取新鲜全血 200 mL 于 180 g 离心 15

min, 得到上层即富血小板血浆 (PRP); 选取亲水性相近的接枝不同官能团的 PBT 膜 [静态水接触角为  $(40 \pm 5)^\circ$ ], 根据文献 [16] 的要求, PBT 与 PRP 的比例为  $6 \text{ cm}^2/\text{mL}$ , 将 2 片  $1 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$  的 PBT 放入 2 mL PRP 中,  $37^\circ\text{C}$  浸泡 1 h 后取出 PBT 膜, 用 PBS 清洗 3 次, 0.2% 戊二醛固定 2 h, 采用梯度 (25%、50%、70%、85%、90%、100%) 酒精脱水后冻干、喷金, 采用 SEM 观察血小板黏附情况。每种材料观察 6 份 ( $n=6$ )。

1.9 血小板功能评价

1.9.1 样品制备及分组 取新鲜全血 200mL 于 180 g 离心 15 min, 得到上层 PRP; 1 500 g 离心 10 min 得到上层贫血小板血浆 (PPP)。选取亲水性相近的接枝不同官能团的 PBT 膜 [静态水接触角为  $(40 \pm 5)^\circ$ ], 根据文献 [16] 的要求, PBT 与 PRP 的比例为  $6 \text{ cm}^2/\text{mL}$ , 将 2 片  $1 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$  的 PBT 放入 2 mL PRP 中, 每种改性的 PBT 平行制备 6 份 ( $n=6$ ), 同时以空白 PRP 为对照组 (未放入材料),  $37^\circ\text{C}$  浸泡 1 h。浸泡结束后取出材料, PRP 分别做血小板最大聚集率、低渗休克相对变化率及 CD62p 表达率的测定。

1.9.2 血小板聚集功能 血小板聚集用 PPP 调零点, 将 225  $\mu\text{L}$  PRP 加入测试石英比色管中, 加入磁子,  $37^\circ\text{C}$  预热 5 min 后加入 25  $\mu\text{L}$  致聚剂, 反应 5-10 min 至曲线平稳, 记录血小板聚集曲线, 并由仪器自带的 HemoRAM1.2 软件计算血小板最大聚集率。致聚剂采用的是 100  $\mu\text{mol/L}$  ADP + 150  $\mu\text{mol/L}$  肾上腺素。

1.9.3 血小板低渗休克的测定 按照文献 [17] 方法检测血小板低渗休克相对变化率 (HSR)。

1.9.4 血小板活化率的测定 参照文献 [18] 方法, 每个样品累计检测 10 000 个血小板, 并计算 CD62p 阳性率。

1.10 统计学分析 采用 SPSS17.0 统计学软件, 定量数据以“均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ )”表示, 除血小板黏附检验数据的处理采用独立样本  $t$  检验外, 其余均为配对  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 接枝官能团改性后的 PBT 膜红外光谱 FTIR 检测: 接枝反应后, PBT-AA 并未增加新的官能团, 因此红外谱图变化不大; PBT-HEA 在  $3362 \text{ cm}^{-1}$  处出现了  $-\text{OH}$  的伸缩振动吸收峰 [19],  $1047 \text{ cm}^{-1}$  处出现 C-O-C 的弯曲吸收峰, 显示此为 HEA 的特征吸收峰; PBT-SMDB 在  $1043 \text{ cm}^{-1}$  处出现 O=S=O 的对称伸缩振动吸收峰, 为 SMDB 的特征峰 (图 1)。

2.2 接枝不同官能团的 PBT 膜物理化学性质 见表 1。

2.3 接枝不同官能团的 PBT 膜血小板黏附 见图 2。

2.4 接枝不同官能团的 PBT 膜血小板聚集 见图 3。

2.5 接枝不同官能团的 PBT 膜血小板低渗休克和活化 见图 4-5。

3 讨论

目前, 国内外已就白细胞过滤材料表面官能团及其理化性质对白细胞和血小板黏附的影响做了不少深入细致的研究。例如通过在不同的模型材料表面涂覆或接枝不同的官能团 (甲基、羟基、羧基、氨基等), 并比较官能团对白细胞和

血小板的黏附作用发现, 在亲水官能团中, 羟基化材料表面黏附的白细胞最多而血小板最少; 原因可能是白细胞表面的糖苷基团富含羟基, 与材料表面的羟基通过氢键作用而被黏附, 也可能是羟基很强的补体激活能力造成白细胞的黏附; 而羧基改性的材料表面黏附的血小板少于疏水材料, 但明显高于其他亲水基团改性的材料 [20-22]。但这些研究却较少关注血小板功能所受影响。我们以 PBT 平板膜为基材, 通过紫外光照使膜表面接枝  $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$  和两性基团 3 种官能团, 考察它们对血小板的黏附及血小板功能的影响。

本组实验数据显示, 随着官能团单体浓度的增加, PBT-AA 和 PBT-HEA 的表面粗糙度增加, 静态水接触角减小, 亲水性增加; 随着 SMDB 与 AA 比例的增加, PBT-SMDB 的表面粗糙度增加, 静态水接触角减小, 亲水性增加。4 种材料亲水性依次为 PBT-HEA > PBT-SMDB > PBT-AA > PBT (PBT 是未改性基材)。PBT 和 PBT-SMDB 表面以正电荷为主 (0.80 mV), 且随着 SMDB 比例的增加, PBT-SMDB 表面的正电荷密度增加; PBT-AA 和 PBT-HEA 则都带有不同程度负电性, 且随着单体浓度增加, 电负性增加 (表 1)。

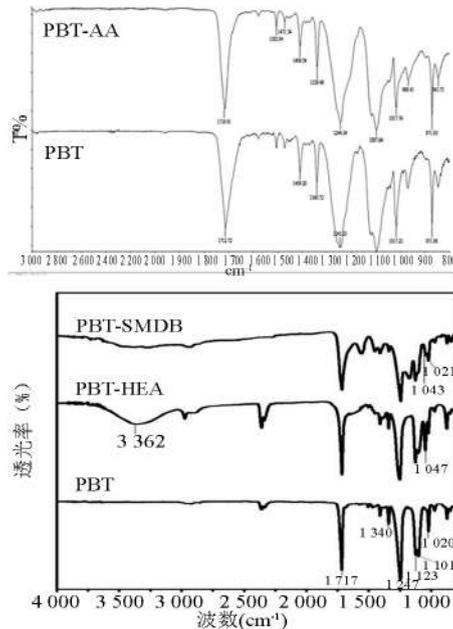
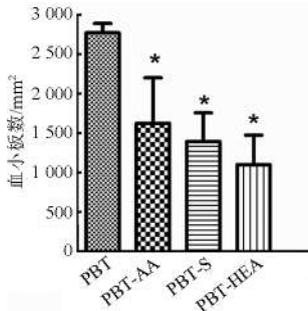
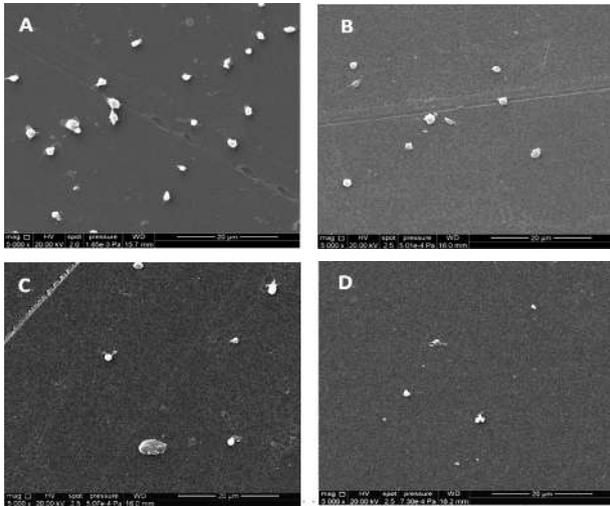


图 1 PTB 接枝 3 种官能团改性后膜的红外光谱

表 1 接枝不同官能团的 PBT 膜表面物理化学性质 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

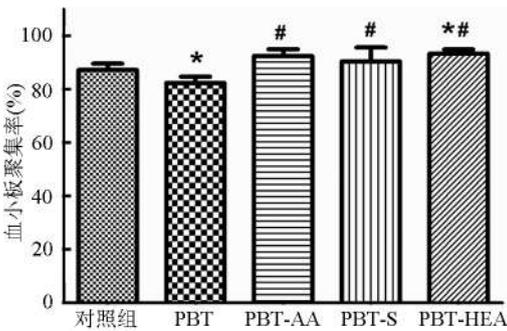
	表面粗糙度 (Ra) (nm)	水接触角 ( $^\circ$ )	Zeta 电位 (mv)
PBT	$6.09 \pm 1.54$	$72.1 \pm 3.6$	$0.80 \pm 0.17$
PBT-AA-1	$17.54 \pm 2.21$	$55.7 \pm 5.3$	$-9.66 \pm 0.53$
PBT-AA-2	$84.71 \pm 23.96$	$45.8 \pm 4.5$	$-10.86 \pm 1.09$
PBT-AA-3	$291.98 \pm 53.44$	$43.2 \pm 4.2$	$-16.96 \pm 2.75$
PBT-HEA-1	$15.67 \pm 4.26$	$40.5 \pm 5.2$	$-7.57 \pm 1.68$
PBT-HEA-2	$32.73 \pm 2.87$	$36.6 \pm 10.2$	$-10.67 \pm 3.74$
PBT-HEA-3	$75.23 \pm 8.44$	$29.0 \pm 7.1$	$-13.04 \pm 2.59$
PBT-SMDB-1	$20.21 \pm 6.42$	$47.5 \pm 7.1$	$22.22 \pm 7.24$
PBT-SMDB-2	$79.15 \pm 6.94$	$41.3 \pm 5.7$	$23.34 \pm 5.61$
PBT-SMDB-3	$277.27 \pm 17.73$	$30.8 \pm 8.4$	$26.05 \pm 3.05$

注: PBT-AA-1、AA-2、AA-3 分别是 AA 为 5%、10%、15% 时的改性 PBT 膜; PBT-HEA-1、HEA-2、HEA-3 分别是 HEA 为 5%、10%、15% 时的改性 PBT 膜; PBT-SMDB-1、SMDB-2、SMDB-3 分别是 SMDBAA 的比例分别为 1:2、1:1、2:1 时的改性 PBT 膜



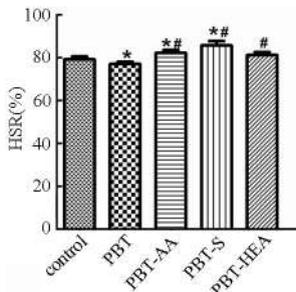
A 未改性 PBT 膜; B PBT-AA; C PBT-SMDB; D PBT-HEA; \* 与未改性 PBT 相比,  $t$  值分别为 5.317、9.862、11.659,  $P < 0.05$

图 2 接枝不同官能团的 PBT 膜的血小板黏附 ( $n=6$ )



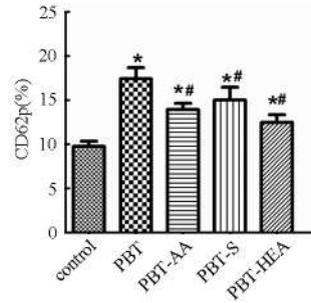
\* 与对照组相比,  $t$  值分别为 5.701、-4.077,  $P < 0.05$ ; # 与 PBT 组相比,  $t$  值分别为 -5.097、-3.552、-10.115,  $P < 0.05$

图 3 接枝不同官能团的 PBT 膜的血小板聚集 ( $n=6$ )。



\* 与对照组相比,  $t$  值分别为 4.170、-3.882、-5.437,  $P < 0.05$ ; # 与 PBT 组相比,  $t$  值分别为 -6.736、-7.366、-5.803,  $P < 0.05$

图 4 接枝不同官能团的 PBT 膜血小板低渗休克 ( $n=6$ )



\* 与对照组相比  $t$  值分别为 -4.625、-3.656、-3.340、-3.227,  $P < 0.05$ ; # 与 PBT 组相比,  $t$  值分别为 3.420、2.665、3.753,  $P < 0.05$

图 5 接枝不同官能团的 PBT 膜 CD62p 阳性表达率 ( $n=6$ )。

电镜扫描结果显示,未改性的 PBT 膜表面黏附的血小板较多,血小板呈不规则状铺展,且可以观察到明显的伪足,说明血小板在 PBT 表面上被激活(图 2)。血小板黏附与材料表面亲疏水性密切相关,当材料表面亲水性增加,血小板黏附下降<sup>[23-24]</sup>。PBT 表面接枝不同官能团后,亲水性增加,黏附的血小板数量有所降低,其中接枝 HEA 的 PBT 膜表面黏附的血小板数量最少,且未伸出伪足,被激活的程度最低,这与其 CD62p 阳性表达率的一致;接枝不同官能团的 PBT 膜与 PRP 接触后,CD62p 阳性表达率均有所增加,其中未改性的 PBT 膜的 CD62p 表达率最高,接枝 HEA 的 PBT 膜的 CD62p 表达率相对其他改性 PBT 膜最低(图 5)。材料与血液接触时,首先吸附在材料表面的是血浆蛋白,细胞通过蛋白质层的介导而附着、黏附,进而铺展在材料表面,因此黏附蛋白对血小板黏附具有十分重要的作用<sup>[25-26]</sup>。材料表面的化学性质则决定了吸附蛋白的种类、数量和构型<sup>[27]</sup>。Lestelius 等<sup>[28]</sup>发现接枝 OH 的表面吸附的促血小板黏附蛋白,如 Fg、Fn 等明显少于接枝 COOH 和 SO<sub>3</sub>H 的材料表面,因此其血小板黏附也相对较少。

血小板在诱导剂的作用下发生聚集,导致透光率增加,通过测定血小板的最大聚集率可以反映血小板的聚集功能。本组数据显示,相对于对照组,未改性 PBT 膜对血小板聚集功能有所影响,表现为血小板最大聚集率明显降低;而 PBT 表面接枝不同官能团后,血小板聚集功能有所恢复,其中表面接枝 HEA 的 PBT 膜对血小板聚集功能影响最小(图 3)。

HSR 表示血小板在低渗环境中体积膨胀后恢复其正常体积的能力,HSR 恢复率越高,血小板正常功能维持就越好,与血小板体内存活率密切相关<sup>[29]</sup>。本组数据显示,未改性的 PBT 膜的 HSR 较对照组有所降低,而接枝了不同官能团后,HSR 有所回升,其中接枝了 SMDB 的 PBT 膜的 HSR 最高,但所有材料之于对照组的相对 HSR < 10%,说明材料对血小板 HSR 影响不大(图 4)。

总之,在 PBT 膜表面接枝上述 3 种官能团后,PBT 表面的亲水性增加,血小板黏附明显减少,对血小板功能的影响也明显降低。其中接枝 HEA 的 PBT 膜黏附的血小板数最少,亦即对血小板功能的影响最小,有望进一步开发作为用于浓缩血小板过滤去除白细胞的新材料。研究样品数较少,且未评价材料的白细胞黏附情况,这是我们在后续研究中需要改进完善与着力的方向。

## 参 考 文 献

- [1] Fisher M, Chapman JR, Ting A et al. Alloimmunisation to HLA Antigens following Transfusion with Leucocyte Poor and Purified Platelet Suspensions. *Vox Sang*, 1985, 49(5):331-335.
- [2] Mari G, Veronesi S, Mathieu B. Filter for the removal of substances from blood products. US Patent, 7524425[P]; 2009.
- [3] Mari G, Verri P, Ori A. Filter for the depletion of leukocytes from blood products. US Patent, 0180542[P]; 2006.
- [4] Kim EJ, Yeo GD, Pai CM et al. Preparation of surface-modified poly(butylene terephthalate) nonwovens and their application as leukocyte removal filters. *J Biomed Mater Res Pt B: Appl Biomater*, 2009, 90(2):849-856.
- [5] Lewis AL, Cumming ZL, Goreish HH et al. Cross linkable coatings from phosphorylcholine-based polymers. *Biomaterials*, 2001, 22(2):99-111.
- [6] Lewis AL. Phosphoryl choline-based polymers and their use in the prevention of biofouling. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2000, 18(3-4):261-275.
- [7] Iwasaki Y, Yamasaki A, Ishihara K. Platelet compatible blood filtration fabrics using a phosphoryl choline polymer having high surface mobility. *Biomaterials*, 2003, 24(20):3599-3604.
- [8] Lewis AL, Freeman RNT, Redman RP et al. Wettable phosphoryl choline-containing polymers useful in blood filtration. *J Mater Sci: Mater Med*, 2003, 14(1):39-45.
- [9] 高敬玮, 陈颖, 胡盼盼. 溶喷 PBT 非织造布血液滤材表面涂层改性. *纺织学报*, 2004, 25(4):9-11.
- [10] Gérard E, Bessy E, Salvagnini C. Surface modifications of polypropylene membranes used for blood filtration. *Polymer*, 2011, 52(5):1223-1233.
- [11] Gerard E, Bessy E, Henard G. Surface modification of polypropylene nonwovens with LDV peptidomimetics and their application in the leukodepletion of blood products. *J Biomed Mater Res Pt B: Appl Biomater*, 2012, 100(6):1513-1523.
- [12] Yang C, Sun K, Liu JX et al. Zwitterionic sulfobetaine-modified non-woven fabric for blood filtration. *Polymer Intern*, 2010, 59(9):1296-1302.
- [13] Yang C, Cao Y, Sun K et al. Functional groups grafted nonwoven fabrics for blood filtration- The effects of functional groups and wettability on the adhesion of leukocyte and platelet. *Appl Surface Sci*, 2011, 257(7):2978-2983.
- [14] Cao Y, Liu JX, Zhong R et al. Surface modification of PBT nonwoven fabrics used for blood filtration and their blood compatibility study. *Artif Cells Blood Substit Biotechnol*, 2012, 40(5):317-325.
- [15] 钱仁怡, 魏国清, 孟照辉. 血小板-白细胞相互作用在心血管疾病中的研究进展. *临床医学*, 2015, 35(6):113-115.
- [16] 国家质量技术监督局. GB/T 16886.12-2000. 医疗器械生物学评价 第 12 部分: 样品制备与参照样品.
- [17] 国家食品药品监督管理局. YY0329-2009. 一次性使用去白细胞滤器.
- [18] 王红, 刘嘉馨, 雷宇, 等. 2 种国产血小板滤器滤除白细胞对体外血小板功能的影响. *中国输血杂志*, 2011, 24(4):323-326.
- [19] Varguin E, Usanmaz A. Polymerization of 2-hydroxyethyl acrylate in bulk and solution by chemical initiator and by ATRP method. *J Polymer Sci Pt A: Polymer Chem*, 2005, 43(17):3957-3965.
- [20] Tsai MY, Lin JC. Surface characterization and platelet adhesion studies of self-assembled monolayer with phosphonate ester and phosphonic acid functionalities. *J Biomed Mater Res*, 2001, 55(4):554-565.
- [21] Barbosa JN, Barbosa MA, Aguas AP. Adhesion of human leukocytes to biomaterials: An in vitro study using alkanethiolate monolayers with different chemically functionalized surfaces. *J Biomed Mater Res Pt A*, 2003, 65(4):429-434.
- [22] Sperling C, Schweiss RB, Streller U et al. In vitro hemocompatibility of self-assembled monolayers displaying various functional groups. *Biomaterials*, 2005, 26(33):6547-6557.
- [23] J.H. Lee, H.B. Lee. Platelet adhesion onto wettability gradient surfaces in the absence and presence of plasma proteins. *J Biomed Mater Res*, 1998, 41(2):304-311.
- [24] Yuan J, Zhu J, Zhu CH et al. Platelet adhesion on a polyurethane surface grafted with a zwitterionic monomer of sulfobetaine via a Jeffamine spacer. *Polymer Intern*, 2004, 53(11):1722-1728.
- [25] Elizabeth M, Srokowski, Woodhouse AK. Evaluation of the bulk platelet response and fibrinogen interaction to elastin-like polypeptide coatings. *J Biomed Mater Res Pt A*, 2014, 102A(2):540-551.
- [26] Xu LC, Siedlecki CA. Protein adsorption, platelet adhesion, and bacterial adhesion to polyethylene-glycol-textured polyurethane biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res Pt B: Appl Biomater*, 2015, 105(3):668-678.
- [27] Hylton DM, Shalaby SW Jr, Latour RA. Direct correlation between adsorption-induced changes in protein structure and platelet adhesion. *J Biomed Mater Res Pt A*, 2005, 73(3):349-358.
- [28] Lestelius M, Liedberg B, Tengvall P. In vitro plasma protein adsorption on  $\omega$ -functionalized alkanethiolate self-assembled monolayers. *Langmuir*, 1997, 13(22):5900-5908.
- [29] Raymond PG, Junzhi L, Henry P et al. Correlation of in vitro platelet quality measurements with in vivo platelet viability in human subjects. *Vox Sang*, 2006, 90(4):279-285.

(2016-12-05 收稿, 2017-08-17 修回)

本文编辑: 蔡辉

## 人脐带非酶解法培养 MSCs 的方法建立\*

李素萍<sup>1</sup> 王震<sup>1</sup> 王超<sup>1</sup> 王永珍<sup>2</sup> 周学勇<sup>1</sup> 吴学忠<sup>1</sup> 杨宏友<sup>3</sup> 吕蓉<sup>△</sup>

(1. 安徽省血液中心, 安徽合肥 230031; 2. 解放军第 105 医院; 3. Global Cryoscientific, Vancouver, Canada)

**摘要:**目的 建立从人脐带 Wharton's jelly 组织中直接培养间充质干细胞(MSCs)的方法。方法 将人脐带切成 5 cm 左右的片段,纵向剖开,剔除血管,把富含 Wharton's jelly 组织的脐带面置于 10 cm<sup>2</sup> 塑料培养皿的培养面上,加入含 20%FBS 的 LG-DMEM 培养基连续培养 10 d; 移去脐带组织后,培养皿中的细胞继续培养至 80%–90% 融合。传代和扩增 3 代(次)后,以倒置光学显微镜观察细胞形态,流式细胞仪检测细胞免疫表型及细胞周期,用含有成骨细胞诱导剂、脂肪细胞诱导剂对传代培养至第 3 代的细胞分别定向诱导分化为成骨细胞、脂肪细胞,并对诱导后细胞用碱性磷酸酶检测试剂、Von-Kossa 染色检测试剂和茜苏红染色试剂作细胞生物学检测。结果 脐带组织在贴壁培养 5 d,组织周围可见有少量细胞贴壁生长,主要呈“成纤维样”,形状不规则,移去脐带组织后继续培养至 14–15 d 时,细胞达到 80%–90% 汇合;细胞表面表达 CD73、CD105、CD90、CD44、CD29、CD71 及 CD13,不表达 CD34、CD14、CD133、CD45、HLA-DR;培养至第 4 代时约 72.724% 的细胞处在 G<sub>1</sub> 期, S 期细胞占 18.069%,第 6 代时,G<sub>1</sub> 期细胞约为 83.875%、S 期细胞仅为 9.606% 左右。细胞经成骨细胞诱导分化后,碱性磷酸酶染色显示呈强阳性,茜苏红染色和 Von-Kossa 染色显示细胞有钙盐沉积并形成钙结节;细胞经脂肪细胞诱导分化后,油红 O 染色呈红色,显示胞浆内有大量甘油三酯的聚集。**结论** 采用非酶解法从人脐带 Wharton's jelly 中分离及培养扩增的细胞具备 MSCs 的基本特性,具有分化为成骨细胞和脂肪细胞的能力。

**关键词:**间充质干细胞;人脐带;Wharton's jelly;成骨细胞;脂肪细胞;非酶解法

**中图分类号:**R457.2 R332.2<sup>+</sup>7 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0885-05

**Culture of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord without enzymatic treatment** Li Suping<sup>1</sup>, WANG Zhen<sup>1</sup>, WANG Chao<sup>1</sup>, WANG Yongzhen<sup>2</sup>, ZHOU Xueyong<sup>1</sup>, WU Xuezhong<sup>1</sup>, YANG Hongyou<sup>3</sup>, LV rong<sup>1</sup>. 1. Anhui Provincial Blood Center, Hefei 230031; 2. 105th Hospital Department of PLA; 3. Global Cryoscientific, Vancouver, Canada. Corresponding author: LV Rong

**Abstract: Objective** To establish a method to culture mesenchymal stem cells (MSCs) derived from Wharton's jelly in human umbilical cord without enzymatic treatment and characterize the related biological properties. **Methods** Human umbilical cord sample segments (5cm each) were cut open longitudinally to expose the Wharton's jelly while blood vessels were removed. The Wharton's jelly surface of the umbilical cord were placed against a plastic dish surface for 10d in LG-DMEM medium with 20% FBS. After removing the cord segment, the culture was carried on using in petri dishes until the cells reached 80–90% subconfluence. These cells were passaged and proliferated to the third generation for cell morphology observation with an inverted microscope. Cell phenotype and cycle were examined by flow cytometry. The third generation cells were then induced to differentiate into osteoblasts or adipocytes with conditioned culture medium and evaluated the induced cells' bio-characteristics with ALP detection reagent, Von-Kossa Staining detection reagent and Xisu red staining reagent. **Results** 5d into the adherent culture of the umbilical cord tissue, representative samples of the typical "fibroblast-like" cells can be observed with irregularly shaped cell surface. After removing the cord segment, the culture was carried on to d14–15 till the cells reached 80%–90% subconfluence. Cells surface expressions of CD73, CD105, CD90, CD44, CD29 and CD13 were detected with no expressions of CD34, CD14, CD133, CD45, HLA-DR; The cell cycle test showed that the cells of P4 were about 72.724% in the G<sub>1</sub> phase, 18.069% in the S phase; the cells of P6 were about 83.875% in the G<sub>1</sub> phase and 9.606% cells were in the S phase. Alkaline phosphatase staining presented strong positive results, the Xisu red stained and Von-Kossa stained cells showed calcium deposits and formation of calcium nodules. The Oil red O staining was red, which showed large triglyceride accumulation within the cytoplasm. **Conclusion** The cells isolation from Wharton's jelly in human umbilical cord without enzymatic treatment present the basic characteristics of mesenchymal stem cells and the ability to differentiate into osteoblasts and adipocytes.

**Key words:** mesenchymal stem cells; human umbilical cord; from Wharton's jelly; osteoblasts; adipocytes; nonenzymatic treatment

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.010

\* 基金项目:合肥市卫生计生委 2016 年应用医学研究项目 (hwk2016zc020), △通信作者:吕蓉(1969.06-),女,主任技师,主要从事临床输血与检验研究,电话:0551-65355236, Email:Lvrong612@126.com

近年来人脐带华顿胶或沃顿胶 (Wharton's jelly, WJ) 源间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 成为干细胞领域的研究热点。因为研究发现, 作为一种原始的多潜能干细胞, 这种 MSCs 具有较强的自我更新及多向分化潜能, 且无致肿瘤性, 而具有较低的免疫原性, 因而成功避开了使用胚胎干细胞和骨髓 MSCs 的诸多限制, 在临床前期多种疾病的防治中发挥了较好的作用<sup>[1-2]</sup>。在已有研究成果的基础上, 2006 年国际细胞治疗协会 (International Society for Cellular Therapy, ISCT) 对 MSCs 生物学特点初步制定了 1 个统一标准<sup>[3]</sup>; 但是因组织来源、试剂使用、培养条件、血清使用、添加细胞因子种类、细胞培养接种密度等的不同, 造成了不同实验室同一组织来源干细胞的细胞表型、起始细胞异质性、分化能力、增殖能力、长期培养后的细胞功能等存在较大差异, 直接影响到 MSCs 的临床应用。鉴于此, 我们尝试建立了 1 种快速、简便、高效地从人脐带 Wharton's jelly 中分离 MSCs 的方法, 并对该法分离培养出的细胞数量、表型和细胞分化能力作了评价, 现报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要仪器和试剂

CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (Thermo 3111, 美国 Thermo); 离心机 (Rotofix32, 德国 Hettich); 倒置显微镜 (Olympus IX51, 日本 Olympus); 流式细胞仪 (BD FACSCalibur™ Flow Cytometer, 美国 BD); 离心机 (GT-Fresco 17, 德国 Heraeus); LG-DMEM 培养基、HG-DMEM 培养基、PBS 缓冲液 (批号分别为 1033070、1098869、1036949, 美国 Gibco 公司); T25 培养瓶 (25 cm<sup>2</sup>) 和培养皿 (10 cm<sup>2</sup>) (中国 Corning Incorporated); 特级胎牛血清 (批号 110819, 杭州四季青生物制品公司); 0.25% 胰蛋白酶 (批号 1D355, 美国 Sigma); FITC 标记的鼠抗人抗-CD29、抗-CD14、抗-CD13、抗-CD90、抗-CD73、抗-CD45 (批号 E031566、5061122081、E027355、E12169-1630、4233747、35633, 美国 eBioscience 及 BD Biosciences); PE 标记的鼠抗人抗-CD34、抗-CD105、抗-HLA-DR (批号 89701、24501、31033、35633, 美国 BD Biosciences); 碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 和表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) (批号 051008、11519、0409AF05、K1209, 美国 Pepro); 细胞周期分析试剂盒 (批号 C1052, 美国 BD Biosciences); 多聚甲醛 (批号 20091105, 天津市大茂化学试剂厂); 异丙醇试剂 (批号 T20110914, 国药集团化学试剂有限公司); 地塞米松粉剂、胰岛素、β-甘油磷酸钠、抗坏血酸 (维生素 C)、吡啶美辛粉剂、1-甲基-3-异丁基黄嘌呤、油红染色粉剂 (批号 S2BB118XV、20110330215、020100107001、A5960、077K0671、BCBF 4310V、O0625, 美国 Sigma); 碱性磷酸酶检测 (ALP) 试剂、Von-Kossa 染色检测试剂和茜苏红染色试剂 (批号 1-426511-10、1-428111-10 和 YY1129B056W, 中国 GenMed 公司)。

### 1.2 人脐带 Wharton's jelly 组织的 MSCs 分离和培养

2014 年 10 月与 2015 年 9 月, 本中心与解放军 105 医院妇产科协作, 获得在该科待产的初产孕妇或 (和) 其直系亲属知情同意 (均填写了《知情同意书》) 后, 在妊娠剖宫产时采集足月健康胎儿脐带 10 例, 6-12 h 处理: 将无菌取得的脐带置于无

菌培养基中, 用 75% 医用酒精漂洗 30 s, 再用 pH 7.4 PBS 充分洗涤 2 次; 无菌剪将脐带剪成 5-10 cm 的片断, 纵向剖开脐带, 剔除血管后, 充分暴露出脐带 Wharton's jelly 部分并将其置于 10 cm<sup>2</sup> 塑料培养皿培养, 加入含 20% FBS、2 mmol/L 左旋谷氨酰胺 (L-Glu)、10 ng/mL bFGF、10 ng/mL EGF、1 000 U/mL 青霉素与 100 μg/mL 链霉素的 LG-DMEM 培养基, 置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中, 每隔 3 d 更换培养液 1 次, 培养 7 d 时移去脐带组织继续培养。

### 1.3 MSCs 传代和扩增

培养细胞贴壁生长至 80%-90% 汇合后, 以 0.25% 胰酶消化处理, 收集所得细胞悬液, 用 PBS 冲洗, 在室温下以台盼蓝染色法评估细胞活性, 按 1:2-1:3 传代培养。每日在倒置显微镜观察细胞形态变化并拍照。

### 1.4 MSCs 细胞周期的测定

取培养至第 3 代细胞 2×10<sup>5</sup> 个/mL, 70% 冰乙醇固定 24 h, PBS 洗涤 2 次, 加 1 mg/mL RnaseA200 μL, 37℃ 水浴 30 min, 再加 50 μg/mL PI 染色液 500 μL 避光反应 30 min, 以流式细胞仪检测, ModFit LT™ Version3.0.1 软件分析细胞周期。

### 1.5 MSCs 免疫表型分析

取培养至第 3 代、贴壁生长达到 80%-90% 汇合的细胞, 用 0.25% 胰酶消化后, PBS 洗涤, 制成 1×10<sup>6</sup> 个/mL 的细胞悬液, 分成 10 管 (约 50 μL/管), 各管分别加入 PE 标记的鼠抗人抗体 CD105、CD44、CD34、CD71、HLA-DR、FITC 标记的鼠抗人抗体 CD29、CD13、CD90、CD45、CD73 各 10 μL 及其相应同型对照标记细胞, 于 4℃ 避光孵育 20 min, 加入 PBS 1.5 mL/管混匀, 300 g 离心 5 min, 弃上清, 加入 500 μL PBS, 以流式细胞仪检测, BD Cell Quest™ Pro Version6.0 软件分析; 每个标本至少分析 10 000 个细胞。

## 1.6 MSCs 诱导分化

### 1.6.1 向成骨细胞诱导分化

取对数生长期第 3 代细胞, 以 0.25% 胰蛋白酶消化, 制备成 5×10<sup>4</sup> 个/mL 接种于 6 孔培养板中, 其中 3 孔作为诱导组, 另 3 孔作为对照组; 加入 LG-DMEM 完全培养基培养过夜后, 诱导组: 培养板孔中换成含骨细胞诱导培养液 (10<sup>-8</sup> mol/L 地塞米松、10 mmol/L β-甘油磷酸钠、50 mg/L 抗坏血酸、5 ng/mL bFGF 和 5 ng/mL TGF-β) 的 HG-DMEM 完全培养基共 10 mL; 对照组: 仍采用 LG-DMEM 完全培养基继续培养细胞。2 组置于 5% CO<sub>2</sub> 37℃ 恒温培养箱, 每隔 3-4 d 换液 1 次, 培养过程中用倒置相差显微镜观察细胞形态变化, 诱导培养至 21 d 做骨细胞分化鉴定, 比较 2 组细胞的染色情况。

### 1.6.2 向成脂细胞诱导分化

取对数生长期第 3 代细胞, 按 1×10<sup>5</sup> 个/cm<sup>2</sup> 细胞数接种于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶中, 待细胞长至 70%-80% 汇合时, 诱导组: 细胞培养液换为含脂分化诱导培养液含有体积分数为 10% 胎牛血清、5 mg/L 胰岛素、1 mmol/L 地塞米松、50 mmol/L 1-甲基-3-异丁基黄嘌呤、40 mmol/L 吡啶美辛 HG-DMEM 培养基共 10 mL; 对照组: 仍采用不含诱导因子的培养液培养细胞。2 组置于 5% CO<sub>2</sub> 37℃ 恒温培养箱, 每隔 3-4 d 换液 1 次, 连续培养 21 d, 每日在倒置显微镜下观察 2 组细胞生长及诱导情况并拍照。

## 1.7 MSCs 诱导培养后生物学鉴定

### 1.7.1 碱性磷酸酶活性检测

采用 GenMed ALP (碱性磷酸酶) 检测试剂盒染色, 操作严格按照试剂盒说明书。

**1.7.2 成骨细胞钙结节形成检测** 茜素红染色法采用 GenMed Von-Kossa 检测试剂盒染色和,操作严格按试剂盒说明书。

**1.7.3 油红 O 染色检测** 将 2 组的单层细胞用 PBS (pH 7.4) 洗涤 2 次,然后用 3.7% 中性福尔马林固定 5 min,0.5% 油红 O 贮存液(溶于异丙醇)与水按 3:2 体积比稀释,0.45 μm 滤膜过滤,固定后的细胞用此稀释液室温孵育 1 h,蒸馏水漂洗细胞 3 次,倒置显微镜下拍照。

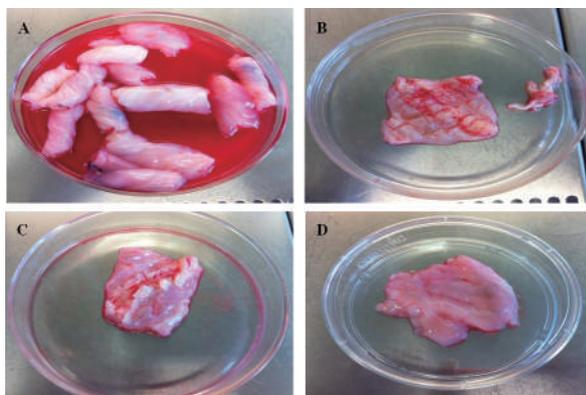
**2 结果**

**2.1 脐带组织 Wharton's Jelly 直接贴壁培养** 将无菌处理后的人脐带剪断成 5-10 cm 长(图 1-A),再纵向将脐带剪开,分离脐带内血管(图 1-B),充分暴露出脐带组织中 Wharton's jelly 部分(图 1-C),将富含 Wharton's Jelly 的脐带组织转移至 10 cm<sup>2</sup> 塑料培养皿中,与塑料培养皿直接接触培养(图 1-D)

**2.2 MSCs 分离和扩增** 镜下观察:脐带组织 Wharton's jelly 在塑料培养皿中接触培养 5 d 时,在组织块周围贴壁生长出少量形态不规则细胞(图 2-A);换液后继续培养至 8 d 时,清晰可见细胞形态呈纺锤形、多角形(图 2-B);10 d 时移去组织块,可见每个细胞形成 1 个集落,增殖生长(图 2-C);培养约 14-15 d 的原代细胞可达到 80%-90% 汇合(图 2-D)。

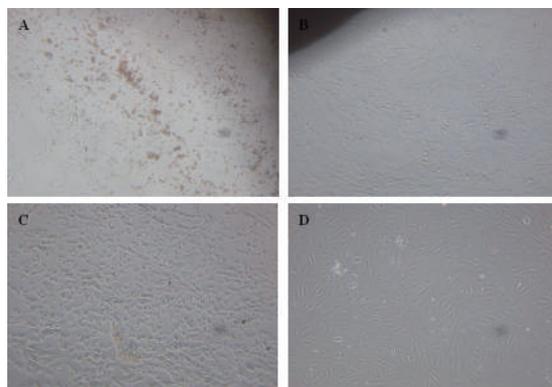
**2.3 脐带 MSCs 免疫表型分析** 流式细胞仪检测:从脐带 Wharton's jelly 培养出的细胞表面高表达 CD73、CD105、CD44、CD29、CD90、CD71 及 CD13,低表达或不表达造血细胞表面标志物 CD14、CD34、CD133、CD45 和主要组织相容性复合物 II 类分子 HLA-DR。说明从脐带 Wharton's jelly 贴壁培养出纤维样形态细胞具有 MSCs 的免疫表型特征,初步判

断其为脐带 Wharton's jelly 源 MSCs。



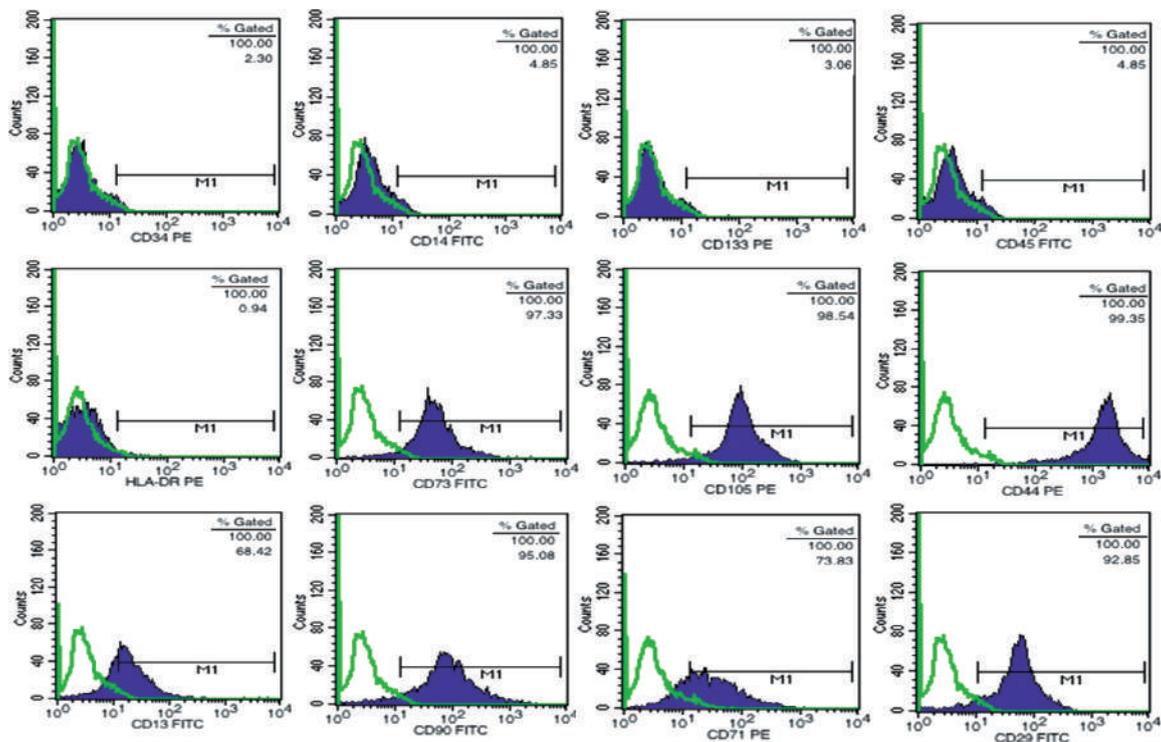
A 5-10 cm 长的人脐带节; B 剪开后分离出血管的脐带; C 脐带组织中的 Wharton's jelly 部分; D 脐带组织 Wharton's jelly 贴壁培养

**图 1 脐带组织 Wharton's jelly 直接培养示意**



A 培养 5 d; B 培养 8 d; C 培养 10 d; D 培养 2 周

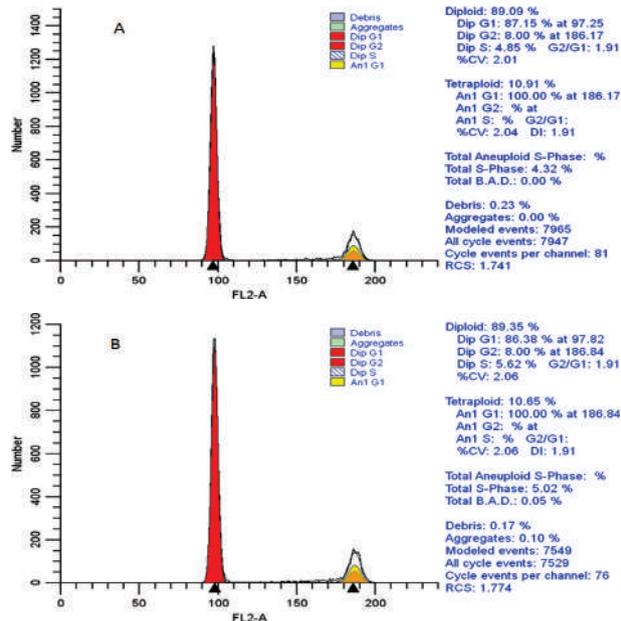
**图 2 脐带 Wharton's jelly 源 MSCs 的细胞形态 (×100)**



注:绿色线区域代表同型对照标记细胞表达量;紫色线区域代表细胞表面抗原表达量

**图 3 脐带 Wharton's jelly 源 MSCs 免疫表型**

**2.4 MSCs 细胞周期分析** ModFit LT™ Version3.0.1 软件分析:第 3 代细胞的 G<sub>1</sub> 期约为 87.15%、S 期约为 4.85%(图 4-A); 到第 4 代时 G<sub>1</sub> 期细胞约为 89.35%、S 期为 5.62%。说明人脐带 (human umbilical cord, HUC)-MSCs 大部分处于相对不活跃的静止期,只有小部分处于活跃的增殖状态(图 4-B)。这基本符合干细胞的生长特性:高比例的 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞具有高度的分化潜能。

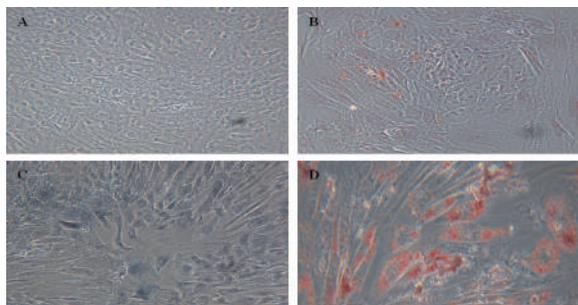


A 第 3 代细胞处于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期的比例; B 处于静止期和活跃增殖期的 MSCs

**图 4** HUC-MSCs 的细胞周期 ModFit LT™ Version3.0.1 软件分析

**2.5 脐带 Wharton's Jelly 源 MSCs 成骨分化鉴定** MSCs 经成骨分化培养基诱导培养 21 d 时, Von-Kossa 染色:出现大量的钙化结节(图 5-A);茜素红染色:细胞被染成红色,呈强阳性,染色区域有钙化结节形成(图 5-B);ALP 染色:细胞均被染成深蓝色,呈强阳性。说明染色区域有很强的碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase activity detection, ALP) 活性(图 5-C)。

**2.6 脐带 Wharton's Jelly 源 MSCs 成脂分化鉴定** MSCs 经成脂分化培养基诱导培养 21 d 时,镜下观察:细胞内有细小闪亮的颗粒存在;经油红 O 染色:细胞被染成红色,显示胞浆内有大量甘油三酯的聚集(图 5-D)。



A Von-Kossa 染色;有钙化结节;B 茜素红染色;红色为强阳性钙化结节;C ALP 染色;深蓝色为强阳性钙化结节;D 油红 O 染色;红色说明胞内聚集甘油三酯

**图 5** 脐带源 Wharton's jelly 源 MSCs 向成骨及成脂诱导分化后染色检测

**3 讨论**

MSCs 是干细胞家族的重要成员,源于发育早期的中胚层和外胚层,属于多能干细胞,最初发现于骨髓中,现证实存在于多种组织,如骨髓、脐带血、脐带、胎盘和脂肪等中,不仅可向成骨、成软骨及成脂肪细胞等中胚层组织细胞分化,而且具有向内胚层组织细胞(如心肌细胞、肝细胞)和外胚层组织细胞(如神经细胞)分化的潜能,以及独特的细胞因子分泌功能<sup>[4]</sup>。Wharton's jelly 是包裹脐带血管胶样结缔组织,富含胶质和葡萄糖胺聚糖,形成了成纤维细胞周围的水凝胶样缓冲基质使脐带免于受压;具有一定干细胞特性与多向分化潜能、自我修复功能<sup>[5]</sup>。Wharton's jelly 源-MSCs 具有独一无二的胎源性 MSCs 特性:1) 快速的扩增潜能<sup>[6]</sup>;2) 细胞表面表达 HLA-I 类但不表达 HLA-II 类表面抗原<sup>[7]</sup>;3) 低水平表达一些仅在小鼠和人的胚胎干细胞中发现的转录因子<sup>[8]</sup>,这些因子在调节多潜能和自我修复方面发挥着重要作用。因此,脐带 Wharton's jelly 源-MSCs 在组织工程和细胞替代治疗方面具有广泛的应用前景。

我们采用胶原酶 IV 和胰蛋白酶消化法从人脐带 Wharton's jelly 组织中成功培养出贴壁生长的细胞(图 2)<sup>[9]</sup>,所培养细胞经生物学检测基本符合关于人 MSCs 鉴定的最低标准<sup>[3]</sup>;在标准的培养条件下 MSCs 能贴塑料瓶壁生长,能表达 CD105、CD29、CD44、CD90 而不表达 CD45、CD34 及 HLA-DR 表面分子(图 3),在体外能向成骨细胞分化等(图 5)。然而,酶解法消化脐带组织加工处理的过程至今尚无系统化、统一化的操作标准。酶解法需要在消化前加工处理脐带组织,剔除血管、剪切脐带至 1 cm<sup>2</sup>大小组织块,不但耗时、费力,酶解孵化时间长短不一(4~24 h),而且组织消化不好,还有可能会造成部分组织中细胞的丢失,而组织过量的消化则可能导致细胞活力减少,细胞表面受体的退化和细胞功能的改变<sup>[10]</sup>。

有研究认为在 Wharton's jelly 内层, MSCs 分离来自于 3 个相对明显的区域:血管周围,血管内,羊膜下<sup>[11]</sup>。我们利用 MSCs 在塑料表面具有黏附性及迁移性的特性,采用非酶解、非组织剪碎的简单分离方法,只将无菌收集来的脐带剪断成 5 cm 长的片段,纵向剖开剔除血管,直接置于塑料培养皿中培养(图 1)。这样既缩短了细胞培养前脐带加工处理的时间,减少加工过程中污染的机会,又避免了用异源性蛋白酶处理脐带的问题,降低了过敏反应发生的可能性;同时也利于脐带加工程序上的统一性和便于脐带源 MSCs 培养标准化操作程序的制定。在本次实验中,我们采用这种方法共处理了 10 例人脐带,从每根脐带中都获得了 MSCs。越来越多的研究证明 MSCs 具有各种各样的治疗功能:向靶组织归巢、修复损伤细胞、刺激宿主细胞再生、自分泌/旁分泌/内分泌效应和免疫调节功能<sup>[12]</sup>。目前临床上已将 MSCs 用于一些难治性疾病,如脊髓损伤、脑瘫、肌萎缩侧索硬化症、系统性红斑狼疮、系统性硬化症、克隆氏病、中风、糖尿病、糖尿病足、肝硬化等的治疗<sup>[13-15]</sup>。

本次实验中,我们仅仅是建立了 1 种快速的脐带 Wharton's jelly 组织加工、MSCs 培养及其临床应用前的制备等一

系列标准化操作方法,尚需结合 MSCs 作用机制做进一步的研究,这将会为 Wharton's jelly 源 MSCs 细胞治疗和再生医学方面必将会拥有更为广泛的应用前景。

### 参 考 文 献

[1] Hsieh JY, Fu YS, Chang SJ, et al. Functional module analysis reveals differential osteogenic and stemness potentials in human mesenchymal stem cells from bone marrow and Wharton's jelly of umbilical cord. *Stem Cells Dev*, 2012, 19(12):1895-1910.

[2] Fan CG, Zhang QJ, Zhou JR. Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord. *Stem Cell Rev Rep*, 2011, 7(1):195-207.

[3] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy*, 2006, 8(4):315-317.

[4] Chatterjee D, Marquardt N, Tufa DM, et al. Role of gamma-secretase in human umbilical-cord derived mesenchymal stem cell mediated suppression of NK cell cytotoxicity. *Cell Commun Signal*, 2014, 12:63. doi: 10.1186/s12964-014-0063-9.

[5] la Rocca G, Anzalone R, Corrao S, et al. Isolation and characterization of Oct-4+/HLA-G+ mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix; differentiation potential and detection of new markers. *Histochem Cell Biol*, 2009, 131(2):267-282.

[6] Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cells Rev*, 2006, 2(2):155-162.

[7] Troyer DL, Weiss ML. Concise review: Wharton's Jelly-derived cells are primitive stromal cell population. *Stem Cells* 2008, 26(3):591-599.

[8] Angelucci S, Marchisio M, Di Giuseppe F, et al. Proteome analy-

sis of human Wharton's jelly cells during in vitro expansion. *Proteome Science*, 2010, 8:18. doi: 10.1186/1477-5956-8-18.

[9] 刘忠,李素萍,杨宏友,等.人脐带间充质干细胞体外分化成骨细胞的研究.中国输血杂志,2011,24(5):376-382.

[10] Turinetto V, Vitale E, Giachino C. Senescence in human mesenchymal stem cells: functional changes and implications in stem cell-based therapy. *Int J Sci*, 2016, 17(7): pii: E1164. doi: 10.3390/ijms17071164.

[11] Subramanian A, Fong CY, Biswas A, et al. Comparative characterization of cells from the various compartments of the human umbilical cord shows that the Wharton's jelly compartment provides the best source of clinically utilizable mesenchymal stem cell. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0127992. doi: 10.1371/journal.pone.0127992.

[12] Davies JE, Walker JT, Keating A. Concise review: Wharton's jelly: the rich, but enigmatic, source of mesenchymal stromal cells. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(7):1620-1630.

[13] Wang D, Li J, Zhang Y, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in active and refractory systemic lupus erythematosus: a multicenter clinical study. *Arthritis Res Ther*. 2014, 16(2): R79. doi: 10.1186/ar4520.

[14] Liu WH, Song FQ, Ren LN, et al. The multiple functional roles of mesenchymal stem cells in participating in treating liver diseases. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(3):511-520.

[15] Hu J, Zhao G, Zhang L, et al. Safety and therapeutic effect of mesenchymal stem cell infusion on moderate to severe ulcerative colitis. *Exp Ther Med*, 2016, 12(5):2983-2989.

(2016-08-18 收稿, 2017-07-03 修回)

本文编辑:蔡辉

## 《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目

《临床输血进展》46.00 元/册;《中国输血杂志》合订本:88 年、89 年、90 年卷每卷均 21.00 元,99 年卷 30 元/本,2000 年卷(含增刊)40 元/本,2001 年卷 48 元/本,2002 年卷、2003 年卷、2004 年卷每本均为 51 元,2005 年卷 60 元/本,2006 年卷 70 元/本,2007 年卷 80 元/本,2008 年卷上册 100 元、下册 100 元,2009 年卷上册 100 元、下册 100 元,2010 年卷上册 100 元、下册 100 元,2011 年卷上册 100 元、下册 100 元,2012 年卷上册 120 元、下册 120 元,2013 年卷上册 120 元、下册 120 元,2014 年卷上册 130 元、下册 130 元,2015 年卷上册 130 元、下册 130 元,2016 年卷上册 130 元、下册 130 元;增刊:1994 年 2.5 元/本,1996 年 4 元/本,2001 年 98 元/本,2004 年 20 元/本,2008 年 5 元/本,2010 年 35 元/本,2012 年 38 元/本。2015、2016 年《中国输血杂志》15.00 元/期,全年订价 180.00 元。2017 年《中国输血杂志》16.00 元/期,全年订价 192.00 元,可直接汇款至本刊编辑部邮购(地址:610052 四川省成都市东三环路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 ·

# 全层析工艺制备 10% 静注人免疫球蛋白及检测分析\*

邢延涛 李策生<sup>△</sup> 胡勇 李陶敬 周志军 彭焱 林连珍 陈克金 邓志军 李娟 詹睿 岳胜兰  
(国药集团武汉血液制品有限公司,湖北 武汉 430207)

**摘要:目的** 试验研究全层析法结合超滤透析等步骤,并辅以 3 步病毒灭活/去除工艺制备 10% 静注人免疫球蛋白的可行性。**方法** 运用全层析工艺纯化制备 10%IVIG,计算工艺回收率,并参照《中华人民共和国药典》及《欧洲药典》8.0 静注人免疫球蛋白质量标准对其关键指标进行了检测;用散射比浊法对终产品 IgA、IgM 杂质蛋白及 IgG 亚类等指标进行检测分析。**结果** IgG 总回收率平均值为 60.86%,变异系数为 0.7%表明工艺具有良好的重复性;纯度、分子大小分布等关键指标到达《中华人民共和国药典》及《欧洲药典》8.0 要求;杂质蛋白 IgA、IgM 含量较低,IgA<2.87 mg/L,IgM<0.15 mg/L;4 个亚类构成比(%)分别为 55.1±2.5、35.8±2.3、5.39±0.93 和 3.66±0.16。**结论** 本公司全层析工艺能高效制备满足国际标准的 10%IVIG 产品。

**关键词:**全层析工艺;10%静注人免疫球蛋白;检测分析

**中图分类号:**R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0890-04

**Characterizations And Analysis of 10% IVIG Prepared by Chromatography** XING Yantao<sup>△</sup>, LI Cesheng, HU Yong, LI Taojing, ZHOU Zhijun, PENG Yan, LIN Lianzhen, CHEN Kejin, DENG Zhijun, LI Juan, ZHANG Qian, YUE Shenglan. Sinopharm Wuhan Plasma-derived Biotherapies Co.,Ltd., Wuhan, China 430207

**Abstract: Objectives** This study aims to assess the feasibility to prepare 10% IVIG using a series of separations performed by chromatography and UF/DF with a three-phase virus inactivation/removal protocol. **Methods** 10% IVIG was prepared by chromatography, and the final products were characterized according to both Chinese and European Pharmacopoeia (8.0). The BN ProSpec<sup>®</sup> System was adopted to detect contaminating proteins(IgA、IgM) and IgG subtypes. **Results** The IgG recovery rate was 60.86% with a variation coefficient of 0.7%, indicating that the process was stable. 10% IVIG obtained in this study cleared all critical compendial tests. The impurity profile fell into the lower level range: IgA<2.87 mg/L, IgM<0.15 IgG. IgG subtype components ratio(%) of the final products are as follows, IgG1; 55.1±2.5, IgG2;35.8±2.3, IgG3;5.39±0.93, IgG4;3.66±0.16. **Conclusion** The preparation of high quality 10% IVIG is achieved by this novel approach with a high recovery rate from human plasma.

**Key words:**Chromatograph process; 10% Human immunoglobulin for intravenous injection (IVIG); Characterization and Analysis

静注人免疫球蛋白(IVIG)是指以健康人血浆为原料采用先进的生物分离技术并结合必要的病毒灭活/去除方法制备的人血浆蛋白制剂,临床上用于治疗原发性免疫缺乏症、继发性免疫缺陷病、自身免疫性疾病(如:川崎病、特发性血小板减少性紫癜)的有效药物,有着其它药品不可替代的作用<sup>[1]</sup>。IVIG 产品的生产方法经历了大半个世纪的发展,国内生产企业多采用传统的“低温乙醇法”,鲜有“全层析工艺”。柱层析技术作为当前生物制药行业常用分离纯化技术,在国外已经广泛应用于 IVIG 生产。本工艺采用国内首创的全层析法结合超滤透析等步骤,并辅以 3 步病毒灭活/去除工艺制备 10%IVIG。

## 1 材料及方法

**1.1 材料与仪器设备** 树脂:Pg 亲和树脂,型号:Plasminogen Adsorbent;Fg 亲和填料,型号:Fibrinogen Adsorbent;A2P 亲和填料(IgG 亲和填料),型号:MAbsortents<sup>®</sup> A2P;DEAE 离子交换填料,型号:PuraBead HF;所涉及填料均购自加拿大 Prometic 公司;主要试剂:药用级枸橼酸(湖南尔康);药用级枸橼酸钠(湖南尔康);药用级甘氨酸(日本 KYOWA HAKKO);药用级氯化钠(天津海光);药用级醋酸钠(台山新宁);超级纯 Tris(美国陶氏);药用辅料级辛酸钠(北京师化)。仪器设备:过滤器(Sartorius 公司);层析系统(荷兰 Proxycs);径向流层析柱(荷兰 Proxycs);BPG 层析柱(美国 GE)。特定蛋白检测仪及配套试剂(型号:BN ProSec<sup>®</sup> System,德国西门子),配套免疫浊度法检测试剂、控制品、标准品均购自西门子。检测试剂包括散射比浊法的常规蛋白抗体试剂:IgG、IgA、IgM、IgG1、IgG2 以及乳胶增强试剂 IgM(Latex)、IgA、(Latex)、IgG3n、IgG4n 等<sup>[2]</sup>。

## 1.2 IVIG 制备工艺

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.011  
\* 基金项目:国家 863 计划《重组血液制品等相关产品及关键技术研发》(2012AA021904);重大科技创新计划(产业化类)项目《特异性免疫球蛋白系列产品产业化》(2013ACC001);武汉市国际科技合作计划《血浆蛋白层析分离中试研究》(2015030809020360);△通信作者:李策生(1961.01-),男,研究员,研究方向:血液制品研发,电话:027-86634235,Email:licesheng@aliyun.com

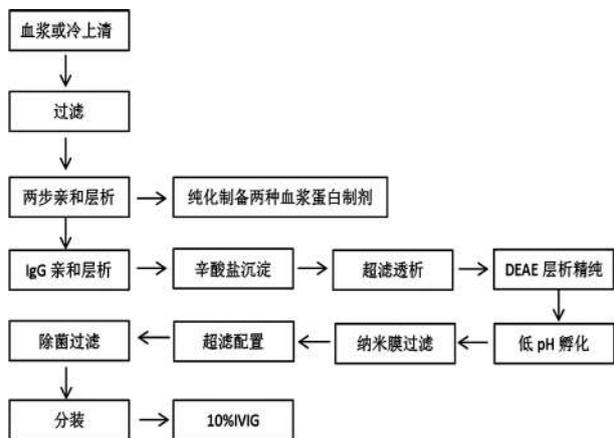


图 1 全层析工艺制备 10%IVIG 工艺路线

本试验以 50-100 L 血浆或血浆冷上清为原料,进行 10%IVIG 生产工艺可行性研究。血浆融化过滤后,依次进行 2 步亲和层析(Pg 亲和层析和 Fg 亲和层析,分别用于分离人纤维蛋白溶解酶原和人纤维蛋白原),Fg 亲和层析流穿液(pH7.0-8.0)经过 A2P 亲和填料捕获 IgG,流穿液用于制备白蛋白等血制品,IgG 洗脱后进行辛酸盐沉淀[辛酸盐浓度(10-40)mmol/L],沉淀上清再经过超滤透析、DEAE 层析精纯、低 pH 孵化、纳米膜过滤、超滤透析及除菌过滤分装等步骤,最终制备出 10%IVIG(见图 1),全层析工艺制备 10%IVIG 工艺路线。

**1.3 特定蛋白检测仪检测 IgG, IgA, IgM, 和 IgG 亚类等含量** 检测原理:在免疫化学反应中,人体液标本中含有的蛋白与特异性抗体形成免疫复合物。这些免疫复合物会使穿过标本的光束散射。散射光的强度与标本中相关蛋白的浓度成比例。与已知浓度的标准值对比即可得出结果。检测过程按照本公司相关标准操作规程进行,定标后将样品取出,室温下融化混匀后,放于仪器样品架。在软件中按待检项目及样品分别设置相应稀释度,进行检测。若蛋白重复检测结果的 CV 超出 10%,则重新稀释样品进行检测<sup>[2]</sup>。

**1.4 各步骤样品 IgG 含量检定以计算各步骤回收率** 特定蛋白检测仪检测各步骤样品 IgG 含量,计算各步骤 IgG 回

收率。

**1.5 成品关键指标检测** 10%IVIG 成品关键指标检测参照《中华人民共和国药典》(2015 版)3 部<sup>[3]</sup>及《欧洲药典》8.0<sup>[4]</sup>(European Pharmacopoeia 8.0)“静注人免疫球蛋白(pH4)”的方法和标准进行。

**1.6 成品中 IgA、IgM 杂质蛋白含量检测** 将本工艺生产的 10%IVIG 成品与某血制厂家已商品化的 3 批 5%静注人免疫球蛋白(pH4)进行 IgA、IgM 杂质蛋白含量比对检测,均采用血浆特定蛋白检测仪。

**1.7 成品 IgG 亚类分析** 将本工艺生产的 10%IVIG 成品与某血制厂家已商品化的 3 批 5%静注人免疫球蛋白(pH4)进行 IgG 亚类检定分析,均采用血浆特定蛋白检测仪。

**2 结果**

**2.1 关键步骤回收率** 3 批制备过程关键步骤 IgG 浓度按散射浊度法测量,计算每步 IgG 的步回收率,结果见表 1。3 批 IgG 总回收率分别为 60.37%、60.79%和 61.42%,平均值为 60.86%,变异系数为 0.7%表明工艺具有良好的重复性。

表 1 关键工艺步骤 IgG 浓度和步回收率

	试验批 1		试验批 2		试验批 3	
	IgG 浓度 (g/L)	回收率 (%)	浓度 (g/L)	回收率 (%)	浓度 (g/L)	回收率 (%)
原料血浆	9.84	—	9.54	—	10.6	—
过滤	8.01	91.34	9.34	97.90	10.00	92.85
第 1 步亲和层析	7.84	98.77	9.12	98.25	9.47	97.86
第 2 步亲和层析	5.96	91.14	5.98	94.71	3.93	91.10
A2P 层析	4.81	90.50	3.36	89.98	4.52	87.45
辛酸盐沉淀	3.82	89.20	2.7	88.85	3.39	90.57
UF/DF	16.7	99.90	14.2	98.27	23.45	98.71
DEAE 层析	7.24	95.54	6.46	88.76	8.52	99.70
超滤透析	94.4	95.30	94.2	95.69	94.8	95.20

**2.2 关键指标** 按《中华人民共和国药典》三部及《欧洲药典》8.0 标准对本工艺生产的 10%IVIG 检测显示:外观、不溶性颗粒、可见异物、热稳定性试验、纯度、分子大小分布、激肽释放酶原激活剂、抗补体活性等关键指标均符合药典要求,具体结果见表 2。

表 2 10%IVIG 的成品关键指标检定

	批号			《药典》标准*	
	试验批 1	试验批 2	试验批 3		
外观	合格	合格	合格	应为无色或淡黄色澄明液体	
可见异物	合格	合格	合格	白点、细小蛋白质絮状物或蛋白质颗粒不多于 3 个	
热稳定性试验	合格	合格	合格	肉眼观察应无凝胶化或絮状物	
不溶性微粒	≥10 μm ≥25 μm	1860 个/瓶 75 个/瓶	1710 个/瓶 205 个/瓶	335 个/瓶 25 个/瓶	≤6000 个/瓶 ≤600 个/瓶
蛋白质含量 (%)	9.52	9.52	9.48	标示量的 9%-11%	
分子大小分布 (%)	99.9	99.79	99.8	单+双 ≥ 95.0%	
纯度 (%)	98.2	97.6	98.0	≥ 95%	
激肽释放酶原激活剂(IU/mL)	8	9	8	≤35 IU/mL	
抗补体活性 (%)	10	10	10	≤ 50%	

\* 综合《中华人民共和国药典》三部及《欧洲药典》8.0 标准

**2.3 IgA、IgM 杂质蛋白分析** IgA 和 IgM 是当前国内外 IVIG 制品重点关注杂质蛋白,其存在会影响制品疗效并产生副作用(如过敏反应)<sup>[5]</sup>。采用散射比浊法检测本工艺制备 3 批制品及某血制厂家已商品化的 3 批 5%IVIG 中 IgA 和

IgM 含量,结果见表 3。

对比结果显示本工艺生产的 10% IVIG IgA 和 IgM 含量明显低于某血制厂家 5% IVIG 及国内 IVIG 制品平均值<sup>[6]</sup>;与国外 Baxter 公司 Gammagard Liquid(10%)相比,IgA 含量

也属于低水平。

表 3 IgA 和 IgM 杂质对比

	IgA(mg/L)	IgM(mg/L)
10% 3 批平均值	<2.87	<0.15
某血制厂家 5% 3 批平均值	314.0±48.5	0.9±0.01
国内制品均值	154.1±30.8	7.6±1.5
Gammagard Liquid(Baxter 公司,10%)	37	痕量

**2.4 亚类分析** 采用散射比浊法检测分析本工艺制备 3 批制品及某血制厂家已商品化的 3 批 5% IVIG IgG 亚类构成比,结果见表 4。本工艺制备的 3 批制品亚类构成与某血制厂家 5% 制品及国内 15 批 IVIG IgG 亚类<sup>[7]</sup> 相比有一定区别,其中 IgG1 占比例稍低于国内及某血制厂家产品,IgG4、IgG2 要稍高,而 IgG3 介于两者之间。

表 4 IgG 亚类组成对比

		IgG1(%)	IgG2(%)	IgG3(%)	IgG4(%)
本工艺 3 批制品	试验批 1	56.63	35.75	4.09	3.53
	试验批 2	51.55	38.69	6.20	3.56
	试验批 3	57.13	33.09	5.89	3.89
	$\bar{x}\pm s$	55.1±2.5	35.8±2.3	5.39±0.93	3.66±0.16
某血制厂家 3 批 5% 制品	样品-1	60.22	35.64	2.40	1.75
	样品-2	60.07	35.62	2.55	1.76
	样品-3	58.94	33.36	5.36	2.33
	$\bar{x}\pm s$	59.7±0.6	34.8±1.1	3.43±1.36	1.94±0.27
国内 15 批 IVIG IgG 亚类	$\bar{x}\pm s$	58.0±2.5	33.4±2.1	7.4±2.0	1.2±0.6

### 3 讨论

随着人们对 IgG 治疗认识的不断加深,IVIG 新的临床适应症不断发现,国内外对 IVIG 的需求也在一直增加。作为血液制品生产厂家有必要升级生产工艺,开发更能满足市场需要的高质量 IVIG 产品。

免疫比浊法检测 IgG, IgA, IgM, 和 IgG 亚类等含量:目前该已广泛用于人血浆、血清和其他体液蛋白质含量检测。特定蛋白检测仪是以免疫比浊法原理设计的全自动蛋白分析仪,已被国内外广泛接受并运用<sup>[8-9]</sup>。Bayer 公司运用该方法对其生产的 10% IVIG 产品进行人血白蛋白、IgG, IgA, IgM、IgG 亚类等含量分析<sup>[10]</sup>。类似于凝血因子活性检测仪器,全自动特定蛋白检测仪先用于医院,后用于血液制品蛋白组分检测。

传统的“低温乙醇法”制备 IVIG 主要存在的问题:1) IgG 回收率低,每千克血浆产 4.5 g IgG(回收率 50%左右)<sup>[11]</sup>,不能充分利用宝贵的血浆资源;2) 产品质量不能满足更高要求,制品安全性得不到充分的保障。IgG 浓度 5% 为主,病患输注时间长、输注体积大;制品辅料以糖类作稳定剂,对于一些特殊病人有一定风险;IgA、IgM 等杂质蛋白含量高,副作用大;2 步病毒灭活工艺(50 纳米过滤和低 pH 孵化)制品安全性得不到充分的保障<sup>[12]</sup>。

全层析工艺能有效解决“低温乙醇法”存在的问题:1) IgG 回收率高,能充分利用宝贵的血浆资源。IgG 总回收率平均值为 60.86%,较传统“低温乙醇工艺”有较大提高,同时变异系数为 0.7% 表明工艺具有良好的重复性。2) 制品安全性有保障:本工艺生产的 3 批 10% IVIG 制品关键指标:外观、不溶性颗粒、可见异物、热稳定性试验、纯度、分子大小分

布、激肽释放酶原激活剂、抗补体活性等均符合《中华人民共和国药典》三部及《欧洲药典》8.0 对 IVIG 的要求。

IgG 浓度为 10%,输注时间短,能有效增加使用患者福利;国外 10% IVIG 产品多以氨基酸为稳定剂,本品选择甘氨酸为稳定剂,糖尿病等患者也能安心使用。

制品杂质蛋白 IgA 和 IgM 含量低,能有效降低副作用。与国内外上市产品相比具有明显的优势。IVIG 中少量的 IgA,能够引起先天性缺乏 IgA 患者输注 IVIG 后产生抗-IgA,并且约 40% 的 IgA 缺乏患者本身既有抗-IgA。这就使 IgA 成为缺乏 IgA 患者首要不安全因素,可能引起过敏反应<sup>[6]</sup>。欧洲药典依规定 IVIG 制品必须标明 IgA 含量。目前《中华人民共和国药典》并未要求测定 IgA 含量。IgM 作为 IVIG 产品另 1 种杂质蛋白,国外有公司的 IVIG 标准要求低于 100 mg/L,本工艺制品及国内其他制品均低于这个标准。

IgG 亚类更加接近于血浆中 IgG 亚类构成。本工艺制备的 3 批制品亚类构成与某血制厂家 5% 制品及国内 15 批 IVIG IgG 亚类相比有一定区别,其中 IgG1 占比例稍低于国内及某血制厂家产品,IgG2、IgG4 要稍高,而 IgG3 介于两者之间。造成这一结果可能是由于纯化方法不一样。蓉生公司的研究者对其 8 个单采血浆站的 8 批混合血浆 IgG 亚类构成比( $\bar{x}\pm s$ ) (%) 检测结果<sup>[8]</sup> 显示 IgG1:51.6±1.4、IgG2:35.5±1.3、IgG3:9.1±0.5 和 IgG4:3.8±1.0,对比此结果不难发现本工艺制备的 10% IVIG 更加接近于血浆中 IgG 亚类构成。2015 版《中华人民共和国药典》三部要求 IVIG 制备工艺能使制品中 IgG 亚类齐全,其比值与正常人血清 IgG 亚类分布相近。由此可见本工艺制备的 10% IVIG 制品更能满足药典要求。

本工艺选择 3 步病毒灭活/去除工艺,辛酸盐沉淀、低 pH 孵化和 20 纳米膜过滤,相较于低温乙醇法仅有 2 步病毒灭活/去除工艺,更能保证终产品安全性考虑目前初始规模较小(50-100 L 血浆或血浆冷上清),设备设施匹配等(过滤器等)问题的存在,对放大到生产规模的回收率和关键指标有待进一步分析研究。总而言之,本公司首创的制备 10% IVIG 全层析工艺稳定可行、重复性好,3 步病毒灭活/去除工艺安全性有保障,产品质量达到国外同类产品水平。

### 参考文献

- [1] 周海云,江丽君.静注人免疫球蛋白的研究与应用.微生物学免疫学进展,2009,37(4):70-74.
- [2] 李策生,周志军,胡勇,等.血浆特定蛋白检测在 IgG 层析法中试纯化工艺中的应用.中国生物制品学杂志,2013,26(11):1663-1669.
- [3] 中华人民共和国药典(3 部).2015:268-269.
- [4] 欧洲药典(8.0).2013:2423-2425.
- [5] 赵铠,章以浩,李河民.医学生物制品学.2 版.北京:人民卫生出版社,2007:1216-1224.
- [6] 孙盼,马莉,刁戈,等.国内 7 个厂家静注人免疫球蛋白产品成分分析.中国输血杂志,2014,27(1):40-42.
- [7] 刘波,吴强,鲁涛,等.国内静脉注射人免疫球蛋白产品 IgG 亚类构成比研究.中国输血杂志,2013,26(12):1245-1247.
- [8] 周博,范霞,赵连爽,等.免疫散射比浊法检测 IgG 的性能验证.

现代检验医学杂志, 2015, 30(3): 133-135.

- [9] Sitharungsri R, Bunupuradah T, Vilaiyuk S, et al. Nephelometry determined serum immunoglobulin isotypes in healthy Thai children aged 2-15 years. *Microbiology and Immunol*, 2012, 56: 117-122.
- [10] Lebing W, Remington KM, Schreiner C, et al. Properties of a new intravenous immunoglobulin (IGIV-C, 10%) produced by virus inactivation with caprylate and column chromatography. *Vox Sang*,

2003(84): 193-201.

- [11] 张峰, 藏恒昌. 静注人免疫球蛋白工艺优化及工程设计. 2013; 15-16.
- [12] 段星宇. 静注人免疫球蛋白的生产工艺、病毒灭活和临床应用. 2013, 中国生物制品年会.

(2016-12-05 收稿, 2017-08-10 修回)

本文编辑: 夏玲

## · 论著 ·

# 应用微孔板芯片分析机采血小板常温保存过程中 凋亡相关 miRNA 的表达改变\*

陈倩<sup>1△</sup> 李朝红<sup>2</sup> 谭琳<sup>3</sup> 张志亮<sup>1</sup> 唐秋萍<sup>1</sup> 许开宁<sup>1</sup> 符策瑛<sup>1</sup>

(1. 海南省血液中心 海南 海口 570311; 2. 中山大学中山医学院; 3. 中国热带农业科学院 海口实验站)

**摘要:目的** 分析机采血小板在常温保存过程中凋亡相关 miRNA 的表达改变。**方法** 应用 miRNA 微孔板芯片技术研究常温保存机采血小板在不同保存时间凋亡相关 miRNA 的差异表达谱, 采用生物信息学软件预测发生差异表达的 miRNA 可能的靶基因及相关生物学功能。**结果** 与新鲜血小板相比, 常温保存 7 d 的血小板, 有 7 种 miRNA 发生了显著变化。其中 miR-16、Let-7b、miR-26 和 Let-7c 的表达上调, miR-7、miR-145 和 miR-197 的表达下调。**结论** 筛选出的差异表达 miRNA 可能参与了血小板的保存损伤过程。

**关键词:** miRNA 微孔板芯片; 机采血小板; 凋亡; miRNA

**中图分类号:** R457.1 R331.1<sup>+</sup>43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0893-04

**Identification of differentially expressed apoptosis-associated miRNA in room temperature-stored apheresis platelets by miRNA plate array** CHEN Qian<sup>1</sup>, LI Chaohong<sup>2</sup>, TAN Lin<sup>3</sup>, ZHANG Zhiliang<sup>1</sup>, TANG Qiuping<sup>1</sup>, XU Kaining<sup>1</sup>, FU Ceying<sup>1</sup>. 1. Hainan Blood Center, Haikou 570311, China; 2. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University; 3. Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences. Corresponding author: CHEN Qian

**Abstract: Objective** To explore the variant expression profile of apoptosis-related microRNA (miRNA) in apheresis platelets during room temperature storage. **Methods** miRNA plate array was used to investigate the apoptosis-associated miRNA profile of apheresis platelets after different storage periods at room temperature. Various biological information software and databases were utilized to predict target genes and molecular functions of the selected miRNA. **Results** After room temperature storage for 7 days, as compared with fresh platelets, seven miRNA demonstrated high expression such as miR-16, Let-7b, miR-26, and Let-7c, which were significantly upregulated, and miR-7, miR-145 and miR-197, which were downregulated. **Conclusion** The differentially expressed miRNA in this study may play an important role in the development of platelet storage lesion.

**Key words:** miRNA plate array; apheresis platelets; apoptosis; miRNA

血小板在保存过程中, 会发生一系列态、功能和代谢上的改变, 即所谓的“血小板保存损伤” (platelet storage lesion, PSL), 这会严重影响血小板输注后体内恢复率及寿命, 削弱临床治疗效果, 甚至引起输注无效。因此, 对 PSL 机制的研究将有助于延长血小板保存周期, 提高血小板保存质量。新的研究发现, 血小板保存期间的损伤机制, 除了受保存体系

中的代谢消耗以及血小板的体外活化影响外, 由于与促凝功能相关的生物学和形态学改变与凋亡 (apoptosis) 密切联系<sup>[1]</sup>, 血小板的保存期限主要受到血小板凋亡的调控<sup>[2-3]</sup>, 凋亡是血小板体外保存损伤的重要因素之一。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类机体内源性表达的小分子非编码单链 RNA, 广泛参与基因转录后水平的调控。最近的研究表明, 人类血小板含有大量和多样的 miRNA<sup>[4]</sup>, 它们涉及参与了血小板的生成、黏附、激活和聚集等多种调控过程。为了解以 miRNA 为基础的分子调控机制在 PSL 中所起的作用, 我们拟利用 miRNA 微孔板芯片技术, 分析常温保存过程中血小板凋亡相关 miRNA 的表达改变, 并通过生物信息学预

doi: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.012

\* 基金项目: 海南省自然科学基金 (814366)、海南省卫计委医学科课题资助项目 (2013052); △ 通信作者: 陈倩 (1978.10-), 女, 副主任技师, 主要从事免疫血液学及血液保存研究, 电话: 0898-68658571, Email: cqzy4682@126.com

测和分析靶基因,探索 miRNA 与 PSL 的内在联系,以期为 PSL 的研究提供新思路,现报告如下。

### 1 材料与方 法

1.1 标本采集与处理 滤白机采血小板随机选择自 2015 年 3 月本中心 6 例机采血小板捐献者,其中男 3 例,女 3 例。机采血小板标准:符合国家规定的献血者健康检查要求 (GB18467-2011),捐献血小板前 1 周内未服用过阿司匹林类药物,Plt 均  $\geq 150 \times 10^9/L$ 。每份血小板样品按照:新鲜对照组、常温保存 5 d 组,常温保存 7 d 组均分为 3 等分,置于  $22 \pm 2^\circ C$  血小板保存箱内水平振摇,按照预定时间分别收集各组血小板。850 g 离心 10 min 以进一步去除残留的红细胞和血小板;3 000 g 离心 10 min 收集高度纯化的血小板,分别加入 1 mL 游离 RNA 提取试剂,  $-80^\circ C$  储存,待提取血小板总 RNA。

1.2 仪器与试剂 游离 RNA (血清血浆尿液等)提取试剂盒 (北京康为世纪公司),凋亡相关 miRNA 微孔板芯片 (美国 Signosis 公司),Nanodro 2000 微量紫外-可见光分光光度计 (美国 Thermo 公司),GloMax<sup>®</sup> 96 微孔板发光检测仪 (美国 Promega 公司)。

### 1.3 方 法

1.3.1 血小板总 RNA 提取 采用游离 RNA (血清血浆尿液等)提取试剂盒提取血小板总 RNA,实验步骤严格按照说明书进行。提取总 RNA 后用 Nanodro 2000 微量紫外-可见光分光光度计检测总 RNA 在 260 nm 和 280 nm 的 OD 值,计算总 RNA 的浓度和纯度,并利用琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性。提取好的总 RNA 溶解在 20  $\mu L$  无 RNase 的 DEPC 水中,储存于  $-80^\circ C$  以备后用。

1.3.2 凋亡相关 miRNA 微孔板芯片分析 凋亡相关 miRNA 微孔板芯片分析由美国 signosis 公司完成。30  $\mu g$  血小板总 RNA 与 5.5 mL hybridization buffer 和 2.5  $\mu L$  biotin detection oligo 混合,以 100  $\mu L$  为单位分至各反应孔,  $45^\circ C$  杂交过夜。加入 200  $\mu L$  预温的 1 $\times$ plate hybridization wash buffer 洗涤 3 次。加入 200  $\mu L$  blocking buffer 室温孵育 15 min;弃去上清液。加入 100  $\mu L$  streptavidin-horseradish peroxidase (HRP) conjugate 室温孵育 45 min。用 1 $\times$ detection wash buffer 洗板 3 次,加入 95  $\mu L$  substrate solution 室温孵育 1 min。应用 GloMax<sup>®</sup> 96 微孔板发光检测仪进行检测分析。

微孔板芯片数据经总体归一化后和对数转换后采用 SAM (significance analysis of microarrays, SAM) 2.1 软件挑选差异表达基因,筛选条件假基因检出率 (false discover rate, FDR)  $< 0.05$ ,同时差异倍数 (Fold change) 为 2 倍以上。使用 HemI 1.0 软件进行聚类分析<sup>[4]</sup>。

1.3.3 生物信息学分析 运用互联网上 miRNA 靶基因预测软件在线服务站点,对得到的差异表达的 miRNA 进行靶基因预测,取至少 3 个软件预测到的基因作为靶基因。

## 2 结 果

2.1 机采血小板常温保存过程中凋亡相关 miRNA 的表达变化 实验共检测了血小板中 48 种与凋亡相关的 miRNA

表达情况 (表 1),通过微孔板芯片技术分析发现,与新鲜血小板相比,常温保存 5 d 的血小板表达上调 2 倍以上的 miRNA 仅有 miR-16;保存 7 d 的血小板,共有 7 种 miRNA 发生了明显变化,其中上调大于 2 倍的 miRNA 有 4 种,分别为:miR-16、Let-7b、miR-26 和 Let-7c,下调大于 2 倍的有 3 种,分别为 miR-7、miR-145 和 miR-197。应用聚类分析法将 48 种凋亡相关 miRNA 芯片数据导入 HemI 1.0 得到聚类图 (图 1)。

表 1 微孔板芯片检测的 48 种凋亡相关 miRNA

所检测的 miRNA					
Let-7a	miR-16	miR-142	miR-155	miR-202	miR-337
Let-7b	miR-21	miR-144	miR-182	miR-204	miR-338
Let-7c	miR-24	miR-145	miR-184	miR-210	miR-345
miR-1	miR-25	miR-148	miR-188	miR-214	miR-368
miR-7	miR-26	miR-150	miR-193a	miR-216	miR-369-5p
miR-10a	miR-96	miR-151	miR-193b	miR-218	miR-369-3p
miR-15a	miR-101	miR-152	miR-196a	miR-224	miR-371
miR-15b	miR-133b	miR-153	miR-197	miR-296	U6

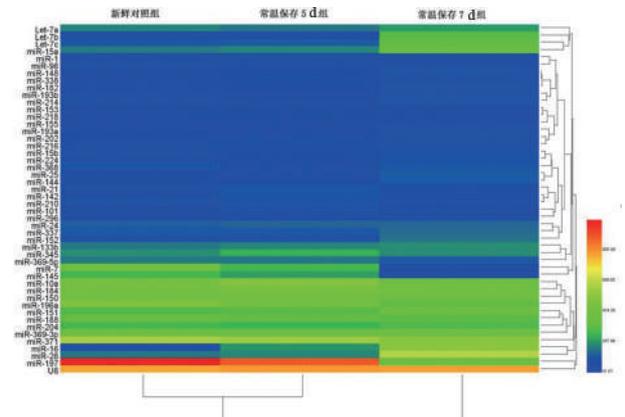


图 1 不同保存时间的血小板差异表达 miRNA 的聚类分析图  
2.2 差异表达的 miRNA 靶基因预测 运用 miRWalk2.0 在线数据库<sup>[6]</sup> (<http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/>) 对得到的差异表达 miRNA 进行靶基因预测 (表 2)。该数据库可自动将 TargetScan、miRanda、miRDB 和 RNA22 等 12 个数据库预测的靶基因整合在一起,提高了预测的准确度。取其中至少 3 个软件预测到的基因作为靶基因。

## 3 讨 论

血小板 (platelets, thrombocyte) 是骨髓成熟的巨核细胞胞浆脱落下来的小块胞质,在参与机体止血、凝血和伤口愈合等方面起着重要作用。虽然长期以来,凋亡被认为是仅在核细胞中存在的程序性死亡过程,但近年来的研究表明,无核的血小板中同样会发生凋亡<sup>[7]</sup>。目前通用的血小板体外保存标准为常温 ( $22 \pm 2^\circ C$ ) 振荡保存 5 d,其间随着保存时间的延长,PSL 增加,血小板不断激活,释放出一系列炎性因子,引起血小板凋亡,不仅表现出细胞收缩、胞膜起泡、伪足生成、凋亡小体脱落和磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 外翻等凋亡形态特征<sup>[8]</sup>,同时还受到 BCL-2 蛋白家族、死亡受体和凋亡酶等凋亡相关信号通路的调控<sup>[9,10]</sup>,使血小板的功能和体内存活率大大降低,影响临床治疗效果<sup>[11]</sup>。然而对于凋亡在 PSL 的作用目前仍知之甚少。

表 2 差异表达的 miRNA 及其与凋亡调控相关的预测靶基因

miRNA	GenBank 序列号	基因名称	基因描述	
miR-7	NM_005431	<i>XRCC2</i>	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 2	
	NM_005228	<i>EGFR</i>	epidermal growth factor receptor	
	NM_002880	<i>RAF1</i>	Raf-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase	
	NM_198448	<i>REG3G</i>	regenerating islet-derived 3 gamma	
	NM_001167	<i>XIAP</i>	X-linked inhibitor of apoptosis, E3 ubiquitin protein ligase	
	NM_003403	<i>YY1</i>	YY1 transcription factor	
	NM_000875	<i>IGF1R</i>	insulin-like growth factor 1 receptor	
let-7b	NM_053056	<i>CCND1</i>	cyclin D1	
	NM_000875	<i>IGF1R</i>	insulin-like growth factor 1 receptor	
let-7c	NM_000392	<i>ABCC2</i>	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 2	
	NM_001789	<i>CDC25A</i>	cell division cycle 25A	
	NM_004091	<i>E2F2</i>	E2F transcription factor 2	
miR-16	NM_000633	<i>BCL2</i>	B-cell CLL/lymphoma 2	
	NM_003161	<i>RPS6KB1</i>	ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 1	
	NM_021111	<i>RECK</i>	reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs	
	NM_053056	<i>CCND1</i>	cyclin D1	
	NM_003390	<i>WEE1</i>	WEE1 G2 checkpoint kinase	
miR-26	NM_003463	<i>PTP4A1</i>	protein tyrosine phosphatase type IVA, member 1	
	NM_001282630	<i>PFKFB3</i>	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 3	
miR-145	NM_003088	<i>FSCN1</i>	fascin actin-bundling protein 1	
	NM_003106	<i>SOX2</i>	SRY (sex determining region Y)-box 2	
	NM_015068	<i>PEG10</i>	paternally expressed 10	
	NM_001731	<i>BTG1</i>	B-cell translocation gene 1, anti-proliferative	
	NM_000875	<i>IGF1R</i>	insulin-like growth factor 1 receptor	
	NM_005544	<i>IRS1</i>	insulin receptor substrate 1	
	NM_001147	<i>ANGPT2</i>	angiopoietin 2	
	NM_001259	<i>CDK6</i>	cyclin-dependent kinase 6	
	XM_371052	<i>SOC37</i>	suppressor of cytokine signaling 7	
	NM_004052	<i>BNIP3</i>	BCL2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3	
	NM_003749	<i>IRS2</i>	insulin receptor substrate 2	
	NM_001015055	<i>RTKN</i>	rhotekin	
	miR-197	NM_018416	<i>FOXJ2</i>	forkhead box J2
		NM_021960	<i>MCL1</i>	myeloid cell leukemia 1
NM_033503		<i>BMF</i>	BCL2 modifying factor	

最近,miRNA 在 PSL 过程中的整体调控作用正逐渐引起关注<sup>[12]</sup>。miRNA 是近年来新发现的一类大小为 19-25 nt,广泛存在于动植物体内高度保守的非编码小单链 RNA,通常在转录后水平负性调控真核生物的基因表达<sup>[13]</sup>。成熟 miRNA 通过与 mRNA 完全或不完全配对,降解靶 mRNA 或阻遏其转录后翻译,从而参与调控个体发育、细胞凋亡、增殖及分化等生命活动<sup>[14]</sup>。这些 miRNA 可调控约 60% 的蛋白编码基因,影响着几乎所有的信号通路。血小板虽然缺乏细胞核和基因组 DNA,但其内部含有粗面内质网和核糖体,并保留了巨核细胞遗留下来的少量含有 poly(A) 的 RNA,因此仍有蛋白合成的能力并可介导 miRNA 的成熟过程。通过高通量测序技术发现,人类血小板中至少存在 492 种 miRNA<sup>[15]</sup>。为研究血小板中是否存在与凋亡相关的 miRNA,并且在血小板保存期间,这些 miRNA 的表达是否随着保存时间的延长而改变,我们观察了保存至 d7 的人血小板 48 种凋亡相关 miRNA 的表达情况,发现共有 7 种 miRNA 的表达发生了明显改变,其中 miR-16、Let-7b、miR-26 和 Let-7c 的表达上调,而 miR-7、miR-145 和 miR-197 的表达下调。这与 kannan 等<sup>[16]</sup>的观察结果稍有差异,他们观察了保存至 d9 的人血小板凋亡相关 miRNA 的表达,仅发现 Let-7b、miR-16、miR-7 和 miR-145 这 4 种 miRNA 发生了明显改变。我们认为这种差

异的产生可能是由于实验中所采用的不同的分析方法。比如,虽然都是采用芯片分析的方法,但我们采用的是板芯片,而 kannan 采用的是膜芯片;检测的表达谱也稍有区别,与 Kannan 检测的 miRNA 种类相比,我们检测的表达谱缺少了 Let-7d、Let-7e、Let-7f、Let-7g、Let-7i 和 miR-28,但增加了 miR-26;另外其他的一些因素如:miRNA 的制备,取样时间(我们采用的是 0、5、7 d,而 kannan 采用的是 0、2、9 d),以及分析工具的不同等都可能差异的产生<sup>[17]</sup>。

由于 miRNA 主要通过通过对靶基因的表达调控而发挥作用,因此我们对表达发生显著改变的 7 种 miRNA 进行了靶基因预测,以求进一步认识其与 PSL 发生的关系(表 2)。已有研究表明,无核的血小板含有经典的内源性凋亡途径,参与稳定调节血小板的寿命。内源性凋亡途径受 BCL-2 蛋白家族调控,这一蛋白家族可分为 3 类:即促凋亡蛋白(如 BAK 和 BAX),抗凋亡蛋白(如 BCL-2 和 BCL-XL)以及 BH3-only 蛋白(如 BIM 和 BID)<sup>[18]</sup>。其中 BCL-2 是关键抗凋亡蛋白,它通过与 BAK 和 BAX 直接的相互作用从而抑制凋亡,维持血小板活性。本实验中,观察到 miR-16 的表达为持续上调,由于 miRNA 的上调能够通过基因的翻译阻断使靶基因蛋白表达量下调,因此我们推测,miR-16 的靶基因包括 BCL-2、RECK、CCND1 以及 WEE1 等基因的表达都可能下调,进

而促进血小板的凋亡。

血小板的保存条件对于保证血小板质量和确保输血疗效都具有重要意义。尽管已有多种体外检测方法对血小板保存损伤进行了研究,但涉及这一过程起始和进展的精确生物化学途径尚未确定。因此,针对寻找和发现能作为保存血小板质量和功能的生物标志物的研究,近年来引起了输血医学领域的极大兴趣。miRNA 于是作为血小板保存期间监测和分析血小板特征性变化的新的强大工具而被引入。我们的研究结果和近来的研究进展都提示 miRNA 对 PSL 的检测表现出良好的灵敏度和特异性,这些发现可能进一步支持了将 miRNA 作为 PSL 的分子标志物这一观点,并为更深入的研究 miRNA 在 PSL 发生发展过程中的功能奠定了基础。

### 参 考 文 献

[1] Jackson SP, Schoenwaelder SM. Procoagulant platelets: are they necrotic? *Blood*, 2010, 116(12): 2011-2018.

[2] Leytin V, Freedman J. Platelet apoptosis in stored platelet concentrates and other models. *Transfus Apher Sci*, 2003, 28(3): 285-295.

[3] Mason KD, Carpinelli MR, Fletcher JI, et al. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span. *Cell*, 2007, 128(6): 1173-1186.

[4] Deng W, Wang Y, Liu Z, et al. Hem1: a toolkit for illustrating heatmaps. *PLoS One*. 2014, 9(11): e111988.

[5] Landry P, Plante I, Ouellet DL, et al. Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(9): 961-966.

[6] Dweep H, Gretz N. miRWalk2.0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions. *Nat Methods*, 2015, 12(8): 697.

[7] Vanags DM, Orrenius S, Aguilar-Santelises M. Alterations in Bcl-2/Bax protein levels in platelets form part of an ionomycin-induced

process that resembles apoptosis. *Br J Haematol*, 1997, 99(4): 824-831.

[8] Piguot PF, Kan CD, Vesin C. Thrombocytopenia in an animal model of malaria is associated with an increased caspase-mediated death of thrombocytes. *Apoptosis*, 2002, 7(2): 91-98.

[9] Mason KD, Carpinelli MR, Fletcher JI, et al. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span. *Cell*, 2007, 128(6): 1173-1186.

[10] Kile BT. The role of the intrinsic apoptosis pathway in platelet life and death. *J Thromb Haemost*, 2009, (Suppl 1): 214-217.

[11] 刘立坤, 高会霞, 李永乾. 低温体外保存对血小板活化和凋亡的影响. *河北医科大学学报*, 2015, 36(5): 554-557.

[12] Ryan P, Atreya C. Blood cell microRNAs: what are they and what future do they hold?. *Transfus Med Rev*, 2011, 25(3): 247-251.

[13] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858.

[14] Subramanian S, Steer CJ. MicroRNA as gatekeepers of apoptosis. *J Cell Physiol*, 2010, 223(2): 289-298.

[15] Plé H, Landry P, Benham A, et al. The repertoire and features of human platelet microRNAs. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50746.

[16] Kannan M, Mohan KV, Kulkarni S, et al. Membrane array-based differential profiling of platelets during storage for 52 miRNAs associated with apoptosis. *Transfusion*, 2009, 49(7): 1443-1450.

[17] Song C, Chen H, Wang T, et al. Expression profile analysis of microRNAs in prostate cancer by next-generation sequencing. *Prostate*, 2015, 75(5): 500-516.

[18] Josefsson EC, Burnett DL, Lebois M, et al. Platelet production proceeds independently of the intrinsic and extrinsic apoptosis pathways. *Nat Commun*, 2014, 5: 3455.

(2017-01-24 收稿, 06-11 修回)

本文编辑: 闻欣

## 中国输血协会新版官网开通

在全世界共庆第 14 个“世界献血者日(World Blood Donor Day)”的时候,中国输血协会的新版官网跟您见面了。协会新网站与协会微信公众号将成为一个有机的整体,互相同步。从此,关于协会活动、输血医学和输血服务相关活动,您有了一个可靠的信息和资料来源。

在今后的几天,我们将陆续向全部会员单位(个人)发出“会员网站账号”的邮件;协会会员(单位会员通过联络员)可凭账号和密码登录到会员专区,在线进行新闻投稿,浏览、下载相关资讯。

暂时还不是协会会员的读者,网页上有一键指导,告诉您怎么办理入会手续,非常欢迎您加入到协会的大家庭中。

新网站开通后还需要一个阶段的内容充实和功能调整,如果某个栏目还不能浏览,敬请谅解,我们将会不断完善。

## Ultrio plus 和 Ultrio 核酸检测体系的 HBV 检出效果评价\*

邓雪莲<sup>△#</sup> 周璐 邹亚轩 高慧卉 陈辉 臧亮 梁晓华<sup>△#</sup>(大连市血液中心,辽宁 大连 116001)

**摘要:**目的 评价 Ultrio plus 和 Ultrio 核酸检测体系对 HBV 的检出效果。方法 统计 2013 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日间 Ultrio 的检测数据和 2015 年 12 月 1 日-2016 年 4 月 30 日间 Ultrio plus 的检测数据,比较 2 种检测体系的单纯 NAT 初始反应率、鉴别率和和单纯 HBV DNA 的阳性率;对 HBsAg-/NAT+ 和 HBsAg+/NAT- 2 组标本分别采用 Ultrio plus 和 Ultrio 进行 2 次重复联检及 1 次鉴别试验,比较 2 者检出率的差异。采用 SPSS13.0 统计软件,应用 Pearson 卡方检验和/或 McNemar test 进行差异性分析。结果 2013 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日间 Ultrio 筛查标本 121 315 份,2015 年 12 月 1 日-2016 年 4 月 30 日间 Ultrio plus 筛查标本 24 909 份。Ultrio plus 的单纯 NAT 初始反应率、鉴别率及单纯 HBV DNA 的阳性率依次为 1:461、48.1% 和 1:996,显著高于 Ultrio 的 1:831、21.9% 和 1:4 044 ( $P < 0.05$ );对于 HBsAg+ 标本的核酸检出也由 Ultrio 检测时间段的 78.2% 明显提升至 95.8% ( $P < 0.05$ )。对于 228 份 NAT+/HBsAg- 组和 85 份 NAT-/HBsAg+ 组筛选标本,Ultrio plus 的检出能力也明显优于 Ultrio ( $P < 0.05$ )。结论 Ultrio plus 核酸检测体系对大连地区献血者的 HBV 检出效果明显高于 Ultrio;需要探索合理的核酸反应性确认程序和策略以完善献血者的评估。

**关键词:**HBV DNA;血液筛查;核酸检测;检测能力评价

**中图分类号:**R457.1 R446 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0897-04

**Efficiency of Procleix Ultrio<sup>®</sup> plus assay in detecting HBV in blood donors compared with Procleix Ultrio<sup>®</sup> Assay**  
DENG Xuelian, ZHOU Yaxuan, GAO Huihui, ZHOU Lu, WANG Dong, ZANG Liang, LIANG Xiaohua. Dalian Blood Center, Dalian 116001, China. Co-corresponding author: DENG Xuelian, LIANG Xiaohua

**Abstract: Objective** To evaluate the efficiency of Procleix<sup>®</sup> Ultrio plus<sup>®</sup> assay (Ultrio plus) in detecting HBV in blood donors compared with Procleix<sup>®</sup> Ultrio<sup>®</sup> assay (Ultrio). **Methods** Detection data of Ultrio plus between 1st Jan, 2013 and 31st Dec, 2015 and Ultrio between 1st Dec, 2015 and 30th Apr, 2016 were collected, to compare the ratios of NAT initial reactivity (NAT-IR), discrimination-positive and HBV DNA-yields of Ultrio plus with Ultrio. Two sample groups categorized as HBsAg-/NAT+ and HBsAg+/NAT- were retested twice by Ultrio plus and Ultrio and once by companion discrimination, respectively. Detection rates of HBV DNA-yield should be analyzed by Fisher's Exact test and/or McNemar test with SPSS13.0 statistic soft. **Results** There were 121 315 samples screened by Ultrio from 1st Jan, 2013 to 31st Dec, 2015 and 24 909 samples by Ultrio from 1st Dec, 2015 and 30th Apr, 2016. The ratios of NAT-IR, discrimination-reactive and HBV DNA-yields of Ultrio plus were 1:461, 48.1% and 1:996 respectively, obviously higher than those of Ultrio (1:831, 21.9% and 1:4 044) ( $P < 0.05$ ). The NAT-yield rate of the former detection of HBsAg carriers increased significantly from 78.2% of the latter screening period to 95.8%. Meanwhile, Ultrio plus also represented remarkable capability in detecting HBV DNA among two sample groups consisting of 228 NAT+/HBsAg- samples and 85 NAT-/HBsAg+ samples ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Ultrio plus having a notable efficiency of HBV detection in blood donors benefits to enhance blood safety compared with Ultrio. It is necessary to develop reasonable procedure and strategy for NAT-IR confirmation to improve donor evaluation.

**Key words:**HBV DNA; blood screening; nucleic acid testing; detecting capability evaluation

核酸检测在低病毒载量的 HBV 感染如 HBV 感染窗口期、隐匿性 HBV 感染 (occult hepatitis B virus infection, OBI) 的检出上有着重要的应用价值<sup>[1-3]</sup>。然而,病毒载量较低且

上下波动的 OBI 的检出仍对核酸检测技术提出了挑战<sup>[4]</sup>。Procleix<sup>®</sup> Ultrio plus<sup>®</sup> assay (以下称 Ultrio plus) 是 Procleix<sup>®</sup> Ultrio<sup>®</sup> assay (以下称 Ultrio) 的换代产品,通过增加的强碱成分加大标本处理过程中病毒的破坏、HBV DNA 的释放,从而提高 HBV DNA 的检出能力<sup>[5]</sup>。该检测体系在我国上市时间较短,国内还缺少相关的检测数据报道。本中心自 2015 年 12 月开始使用 Ultrio plus 进行血液筛查,是国内最早使用的实验室之一。现通过 Ultrio plus 和 Ultrio 2 种核酸检测体系的数据回顾分析和对 2 组特殊标本的重复检测比对试验,对 Ultrio plus 的 HBV 检出能力进行初步评估,现报告如下。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.013

\* 基金项目:卫生部医药卫生科技发展研究中心专项课题(卫技中[2012]12号 28-8-3);大连市科技计划指导性项目(大科计发[2013]50号);大连市快速提升医疗软实力专项计划(大卫办发[2015]59号);#△共同通信作者:邓雪莲(1974.12-),女,主任技师,研究方向为输血相关传染性疾病的风险评估,电话:0411-82653557,Email:dengxuelian@dlbc.org.cn;梁晓华(1968.07-),女,主任技师、教授,硕士研究生导师,主要从事血液免疫和血液安全的研究,电话:0411-82654596,Email:liangxh@dl.cn

### 1 材料与与方法

**1.1 研究对象的筛选** 采用血清学检测和核酸联检同时进行的常规血液筛查模式,检测流程参见文章[6]。依据实际工作情况分配 1 种核酸检测体系进行核酸联检。1) HBsAg -/NAT+ 的筛选; 2 种 HBsAg ELISA 试剂检测均无反应性(S/CO<1)但核酸联检反应性; 2) HBsAg+/NAT- 的筛选: 对 2 种 HBsAg ELISA 试剂检测均为反应性(S/CO ≥ 1)但核酸联检无反应性的标本采用电化学发光法 HBsAg(定性)复测,复测仍为反应性者确认为 HBsAg+/NAT-<sup>[7]</sup>。

**1.2 标本的来源与处理** 标本来源于 2010 年 12 月-2015 年 12 月间检测不合格的成分血浆,从各血浆袋中留取 5 mL 血浆标本于去 DNA 酶和 RNA 酶的试管中-20℃ 密闭保存。合计收集 HBsAg-/NAT+ 血浆标本 228 份,HBsAg+/NAT- 血浆标本 85 份。检测前室温下复融并充分震荡后离心(1 200 g×2 min)沉降。

**1.3 仪器与试剂** HBsAg 酶免试剂:厦门新创、美国索林/雅培;核酸检测试剂:罗氏 cobas<sup>®</sup> Taqman MPX test(以下简称 Taqman)(美国),Ultrio 和 Ultrio plus(意大利),罗氏电化学发光 HBsAg(定性)检测试剂(美国),所有试剂均为批检试剂并在有效期内使用。Evo 加样仪(德国),哈密尔顿 FAME24/20(瑞士),哈密尔顿 STAR 混样设备(瑞士),罗氏 cobas s201 核酸检测系统(美国),盖立复 Procleix TIGRIS 核酸检测系统(意大利),罗氏 cobas e 411 电化学发光(美国)。

**1.4 核酸的重复检测及结果判定** 筛选出的标本使用 Ultrio 和 Ultrio plus 分别进行 2 次重复联检及 1 次鉴别试验。重复联检和鉴别试验出现任意 1 次反应性结果,该标本即判

为该检测体系检出,以“+”表示;重复联检和鉴别试验结果均为无反应性,该标本判为该检测体系未检出,以“-”表示。

**1.5 数据统计与分析** 利用 Shinow9.0 分别统计 2013 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日间 Ultrio 和 2015 年 12 月 1 日-2016 年 4 月 30 日间 Ultrio plus 的筛查数据。其结果分类如下: 1) HBsAg+/NAT-; HBsAg 双试剂均反应性且 NAT 无反应性; 2) HBsAg+/NAT+; 任一 HBsAg 试剂反应性且 NAT 反应性; 3) 单纯 NAT+; HBsAg 双试剂均无反应性且 NAT 反应性,也称 NAT 初始反应性(NAT-IR)。经鉴别试验可产生 HBV DNA+、HCV RNA+、HIV RNA+ 和鉴别试验无反应性 4 种结果。应用统计学软件 SPSS13.0,选用 Pearson 卡方检验对 Ultrio 和 Ultrio plus 的检出率和鉴别率进行比较;多组率的比较先做总体检验,再做组间的两两比较。检测结果的配对比较采用 McNemar Test。若 P<0.05,则差异具有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 Ultrio plus 和 Ultrio 血液筛查结果比较** 2013 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日间 Ultrio 筛查标本 121 315 份,2015 年 12 月 1 日-2016 年 4 月 30 日间 Ultrio plus 筛查标本 24 909 份。其中,Ultrio plus 的 NAT-IR 检出率(1:461)显著高于 Ultrio(1:831),约是后者的 1.8 倍(P<0.05);Ultrio plus 的鉴别率为 48.1%也明显高于 Ultrio 的 21.9%(P<0.05),约 2.2 倍;Ultrio plus 对于献血人群中单纯 HBV DNA+ 的检出率(1:996)约是 Ultrio(1:4 044)的 4.1 倍(P<0.05)。对于 HBsAg+ 的标本,Ultrio plus 的核酸反应性检出也由 Ultrio 检测时间段的 78.2%(93/119)大幅度地提高至 95.8%(23/24)(P<0.05),见表 1。

表 1 Ultrio plus 和 Ultrio 对 HBV 筛查的数据比较

检测时间段	标本总数	HBsAg+		NAT-IR	单纯 NAT+			鉴别率 (%)
		NAT-	NAT+		NAT 鉴别试验反应性			
					HBV DNA+	HCV RNA+	HIV RNA+	
Ultrio 2013. 1. 1-2015. 12. 31	121 315	26(21.8%)	93(78.2%)	146	30	1	1	21.9
		1:4 666	1:1 304	1:831	1:4 044	1:121 315	1:121 315	
Ultrio plus 2015. 12. 1-2016. 4. 30	24 909	1(4.2%)	23(95.8%)	54	25	0	1	48.1
		1:24 909	1:1 083	1:461	1:996	0	1:24 909	

注:Ultrio plus 对于 HBsAg+/NAT+, NAT-IR (NAT 初次反应性)和单纯 HBV DNA 的检出,与 Ultrio 相比,χ<sup>2</sup>值分别为 4.077、14.072、31.444,均为 P<0.05;Ultrio plus 的 HBV DNA 的鉴别率明显高于 Ultrio,χ<sup>2</sup> = 13.108, P<0.05

**2.2 228 份 NAT+/HBsAg- 标本的 Ultrio plus 与 Ultrio 复检结果比对** 228 份 NAT+/HBsAg- 标本分别来自于 3 个核酸检测体系的检出,各成 1 组。第 1 组为 Taqman 检出的 55 份标本,第 2 组为 Ultrio 检出的 141 份标本、第 3 组为 Ultrio plus 检出的 32 份标本。Ultrio plus 的复检总检出率为 54.4%(124/228),明显高于 Ultrio 的复检总检出率 41.2%(94/228)(P<0.05);各分组的复检检出率 Ultrio plus 也均高于 Ultrio,但仅有 1 组的差异具有统计学意义(P<0.05)。Ultrio plus 可检出第 1 组(Taqman 检出的 55 份标本组)中的 50 份标本(90.9%),Ultrio 可检出 36 份(65.4%),2 者的检出率均在 3 组中最高;对于第 2 组标本(Ultrio 检出的 141 份标本组),无论 Ultrio plus 还是 Ultrio 其检出率均为 3 组最低(37.6%和 29.8%),见表 2。

Ultrio plus 和 Ultrio 均为无反应性的标本共有 99 份(Taqman 检出 4 份,Ultrio 检出 85 份,Ultrio plus 检出 10 份),

均为反应性的标本 89 份,Ultrio plus+/Ultrio- 35 份,Ultrio plus-/Ultrio+ 仅有 5 份。通过对检测结果分类配对比较(McNemar Test)观察到 1、2 组以及总体标本的检测结果显示 Ultrio plus 的检出能力明显优于 Ultrio(P<0.05)。第 3 组数据因不满足分析条件<sup>[8]</sup>,未做配对比较,见表 3。

表 2 Ultrio plus 与 Ultrio 对 228 份 NAT+/HBsAg- 标本的检出情况

	NAT 初始反应性	检出体系	标本数	NAT 复检结果				
				Ultrio		Ultrio plus		
				-	+ 检出率 (%)	-	+ 检出率 (%)	
1 组	Taqman	55	19	36	65.4	5	50	90.9
2 组	Ultrio	141	99	42	29.8	88	53	37.6
3 组	Ultrio Plus	32	16	16	50	11	21	65.6
	合计	228	134	94	41.2	104	124	54.4

注:Ultrio plus 的复检总检出率和对 1 组的检出率显著高于 Ultrio,χ<sup>2</sup> 值分别为 7.910、10.446,均为 P<0.05

**表 3** Ultrio plus 与 Ultrio 对 228 份 NAT+/HBsAg-标本的复检结果配对比较

NAT 初始反应性			NAT 复检结果		
检出体系	标本数		Ultrio Plus- (%)	Ultrio Plus+ (%)	
1 组	Taqman	55	Ultrio-	4 (7.3)	15 (27.3)
			Ultrio+	1 (1.8)	35 (63.6)
2 组	Ultrio	141	Ultrio-	85 (60.3)	14 (9.9)
			Ultrio+	3 (2.1)	39 (27.7)
3 组	Ultrio Plus	32	Ultrio-	10 (31.3)	6 (18.8)
			Ultrio+	1 (3.1)	15 (46.9)
合计		228	Ultrio-	99 (43.4)	35 (15.4)
			Ultrio+	5 (2.2)	89 (39.0)

注: Ultrio plus 和 Ultrio 对标本总体、1 组和 2 组标本的检测, 其结果采用 McNemar test 配对比较有显著性差异,  $\chi^2$  值分别 104.682、5.026、77.888, 均为  $P < 0.05$ ; 3 组因检测结果不一致的 2 个部分标本数之和小于 10 不符合 McNemar test 的应用条件<sup>[8]</sup>, 故未做配对比较

**2.3** 85 份 NAT-/HBsAg+标本的 Ultrio plus 与 Ultrio 复检结果对比 对于 85 份 NAT-/HBsAg+标本, Ultrio 检出 17 份 (20.0%), Ultrio plus 检出 58 份 (68.2%), 后者总检出率显著高于前者 ( $P < 0.05$ )。其中 40 份标本检测结果一致 (均反应性 15 份, 均无反应性 25 份), 2 份 Ultrio plus-/Ultrio+, 43 份 Ultrio plus+/Ultrio-。对于 Ultrio 未能检出的 68 份标本, Ultrio plus 检出 43 份 (63.2%), 而对于 27 份 Ultrio plus 未检出的标本, Ultrio 仅能检出 2 份, 配对比较有显著性差异, Ultrio plus 优于 Ultrio ( $P < 0.05$ ), 见表 4。

**表 4** 85 份 NAT-/HBsAg+标本的 Ultrio plus 与 Ultrio 复检结果对比 (n, %)

	Ultrio Plus-	Ultrio Plus+	合计
Ultrio-	25 (29.4)	43 (50.6)	68 (80.0)
Ultrio+	2 (2.4)	15 (17.6)	17 (20.0)
合计	27 (31.8)	58 (68.2)	85

注: Ultrio plus 对 85 份 NAT-/HBsAg+标本的复检检出率明显高于 Ultrio,  $\chi^2 = 40.108, P < 0.05$ ; 采用 McNemar test 进行配对比较, 两者也存在明显差异,  $\chi^2 = 5.398, P < 0.05$

### 3 讨论

核酸检测技术在血液筛查中的应用对于提高血液安全性的意义已毋庸置疑。然而, 随着核酸检测灵敏度的不断改进, 越来越多的低浓度病毒感染被检出, 但不能重复的核酸初次反应性 (NAT-IR) 结果的大量增加给核酸检测结果的判定、相关献血者献血资格的评定以及咨询回告造成了相当的困扰<sup>[9-10]</sup>。这种问题主要体现在 HBV 感染的检出上。与 HCV、HIV 不同, 核酸检测对 HBV 感染的漏检风险不光源于病毒载量较低且升高缓慢的血清学窗口期 (HBV 复制周期为 2.6 d, 远长于 HCV 的 14.9 h 和 HIV 20.5 h<sup>[3]</sup>), 更多的来自于大量以低病毒载量为其主要特点的 OBI<sup>[11]</sup>。在这些低病毒载量感染阶段, 核酸检测表现为机会性检出<sup>[12-13]</sup>, 对核酸检测技术的灵敏度提出了更高的要求<sup>[14]</sup>。

Ultrio plus 是 Ultrio 的换代产品, 比后者增加了一种氢氧化锂浓缩液的试剂组份 (即目标增强试剂), 通过增强病毒包膜和核膜的破坏、提升病毒核酸的释放和捕获效率, 以达到提高病毒核酸检出能力的目的<sup>[5,15]</sup>。已有研究表明 Ultrio

plus 的检测灵敏度比 Ultrio 有较大的提升<sup>[4-5,16]</sup>, 但部分研究数据也提示了 Ultrio plus 对 HBV 检出性能的提升程度与 HBV 基因型有一定的相关性<sup>[15]</sup>。在不考虑本中心献血人群 HBV 流行率变化因素的情况下, 本研究对比了 Ultrio plus 和 Ultrio 在前后 2 个时间段 (有重叠) 的血液筛查数据 (表 1): Ultrio plus 的 NAT-IR 检出率 (1:461) 比 Ultrio (1:831) 提高了 1.8 倍, 其鉴别率由 Ultrio 的 21.9% 提高到 48.2% (2.2 倍), 故相应的 HBV DNA 的检出率提升至 Ultrio 的 4.1 倍 ( $P < 0.05$ ), 明显高于香港不到 2 倍的提升幅度<sup>[17]</sup>。我国的中东部地区 HBV 感染以 C 型和 B 型为主, 从北到南 C 型比例逐渐降低而 B 型比例逐渐增加。位于中国大陆的东北部的大连地区以 HBV C 型为主、东南部的香港以 B 型为主。2 地区 HBV DNA 检出的差别很可能与不同的 HBV 基因型分布有关。

受核酸检测灵敏度的制约, 部分 HBsAg+ 的 HBV 感染不能在血液中检出 HBV DNA, 故血液检测时总会出现一定比例的 HBsAg+/NAT-<sup>[18]</sup>。理论上讲, 血液中存在 HBsAg 就意味着病毒的复制和表达, 就应该能够检测到 HBV DNA。核酸检测体系的灵敏度越高, 在 HBsAg+ 中检出 HBV DNA 的标本就越多, 反之亦然。表 1 的对比数据显示 Ultrio plus 检测时间段在 HBsAg+ 标本中检出的核酸反应性比例由 Ultrio 检测时间段的 78.2% 显著提高至 95.8% ( $P < 0.05$ ), 可反映出 Ultrio plus 具有更高的 HBV 检测灵敏度。与此同时, 对于 85 份 NAT-/HBsAg+ 标本的核酸重复检测 (表 4), Ultrio plus 的检出率高达 68.2%, 而 Ultrio 的检出率仅为 20.0%。除 2 者均检出 HBV DNA 的 15 份标本外, Ultrio plus 单独检出 HBV DNA+ 标本 43 份, 占总检出的 86.0% (43/60), Ultrio 单独检出 (2 份) 只为总检出的 3.3%。即无论是总检出率还是检测结果的分类配对比较, Ultrio plus 都要比 Ultrio 具有更优的 HBV DNA 检出性能 ( $P < 0.05$ )。但仍有 25 份标本 2 个核酸检测体系均为无反应性。由于此 85 份 HBsAg+/NAT- 的标本均是 HBsAg ELISA 双试剂反应性后经 HBsAg 电化学发光法复测仍为反应性的标本, 基本可排除假阳性的可能<sup>[7]</sup>。这就提示了现有的核酸检测仍需进一步提高其检测灵敏度以减少漏检的发生。

在对 228 份 NAT+/HBsAg- 标本的重复检测中 (表 2) 同样可以观察到 Ultrio plus 的复检总检出率 (54.4%, 124/228) 明显高于 Ultrio 的复检总检出率 (41.2%, 94/228) ( $P < 0.05$ )。由于此 228 份 NAT+/HBsAg- 标本来自于 3 个核酸检测体系的筛选, 若按核酸检测体系将 228 份标本分成 3 组, 可以观察到一个有趣的现象: 对于第 1 组 (55 份 Taqman 检出标本组), Ultrio plus 可检出 50 份 (90.9%)、Ultrio 检出 36 份 (65.4%), 均明显高于其它 2 组及总体的检出率 ( $P < 0.05$ ), 即 Ultrio 和 Ultrio plus 对另一检测体系 Taqman 检出标本的检出率明显高于对自身体系检出标本的检出率。Taqman 与 Ultrio/Ultrio plus 是完全不同的检测体系, 方法学差异固然存在, 但由同一检测体系 Ultrio/Ultrio plus 对不同来源标本进行的重复检测, 结果间的差异必然是由标本本身存在着的不同而产生, 而这种不同是因其来源即检出体系不同造成的。基于低病毒载量的 HBV 检出存在概率问题, 病

毒载量越高,重复检测检出的机会越大<sup>[12-13]</sup>,可以推断第 1 组标本相对于另 2 组 Ultrio 和 Ultrio plus 检出标本(分别为 32 和 141 份)可能含有相对较高的病毒载量。不过这一推论需要更高灵敏度的核酸定量方法加以确认。与此同时,本研究通过 McNemar test 对此 2 种检测体系间不一致结果的差异比较<sup>[8]</sup>,发现 1,2 组及总体标本中 Ultrio plus 的单独检出率均明显高于 Ultrio 的单独检出率( $P < 0.05$ ) (表 3), McNemar test 可更准确地反映出 Ultrio plus 比 Ultrio 具有更高的 HBV 检出能力。第 3 组虽因检测结果不一致的标本数之和小于 10 而不符合 McNemar test 的使用条件<sup>[8]</sup>,但仍能从 Ultrio plus 单独检出的标本数(6 份)高于 Ultrio(仅 1 份)看出前者的检出优势。

值得注意的是在经过 Ultrio plus 和 Ultrio 各 2 遍复测及各自 1 遍鉴别试验后,仍有 99 份 NAT+/HBsAg- 标本无法再现反应性。若不考虑其中 4 份 Taqman 检出标本(无法排除检测体系差异造成的漏检),是否可依据如此多的重复检测无反应性结果将剩余的 95 份重复无反应性的标本全都判为阴性?恐怕仍不可以。虽然血液已因初始反应性而报废,但相关献血者并不能完全排除 HBV 感染的可能。Weusten<sup>[13]</sup>等通过数学模型评估窗口期 HBV 感染残留风险的研究得出:即使采用灵敏度较高的 Ultrio plus 以单检方式且重复检测 8 次均为无反应的情况下,每 100 万袋血液仍有 10-12 袋 HBV 感染的血液漏检。说明了仅依靠血筛核酸检测体系进行简单地多次重复检测并不能达到全部检出的目的,同时也意味着初始反应性结果的复检阴性率较高、排除假阳的难度极大。因此,在现有高灵敏度的血筛核酸检测技术条件下,还应发展和应用更灵敏、更稳定的确认方法(如检测前病毒富集、扩增技术,特异性捕获技术等),同时探索和制定合理的确认程序和策略(包括血清学补充实验和献血者的跟踪检测),给与核酸初始反应性献血者以明确的判定,进一步完善献血者的评估,在保证血液安全的前提下减少不必要血源流失。

### 参 考 文 献

- Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 2008, 49(4):652-657.
- Dufour DR. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) assays are they good enough for their current uses? *Clinical Chemistry*, 2006, 52(8):1457-1459.
- Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, et al. Hepatitis B virus NAT positive blood donors in the early and late stage of HBV infection: analysis of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang*, 2005, 88(2):77-86.
- Charlewood R, Flanagan P. Ultrio and Ultrio Plus non-discriminating reactives: false reactives or not? *Vox Sang*, 2013, 104(1):7-11.
- Grabarczyk P, Kopacz A, Sulkowska E, et al. Blood donor screening for blood born viruses in Poland. *Przegl Epidemiol*, 2015, 69(3):473-477, 591-595.
- 邓雪莲, 安万新, 梁晓华, 等. 大连市血液中心血清学检测与核酸检测并行的效果观察. *中国输血杂志*, 2012, 25(1):38-40.
- 邓雪莲, 陈辉, 王新梅, 等. 电化学发光法进行 HBsAg 阳性确认的可行性及应用研究. *中国输血杂志*, 2016, 29(8):806-811.
- McNemar Q. Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. *Psychometrika*, 1947, 12(2):153-157.
- Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*, 2008, 48(5):1001-1026.
- 安万新, 邓雪莲, 梁晓华, 等. 大连市血液中心 HBsAg 阴性献血者 HBV 感染的确认与 HBV 核酸检出效率的评估. *中国输血杂志*, 2014, 27(3):268-273.
- Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *JHepatol*, 2008, 49(4):652-657.
- Vermeulen M, Coleman C, Mitchel J, et al. Sensitivity of individual donation and minipool nucleic acid amplification test options in detecting window period and occult hepatitis B virus infections. *Transfusion*, 2013, 53(10 Pt 2):2459-2466.
- Weusten J, Vermeulen M, van Drimmelen H, et al. Refinement of a viral transmission risk model for blood donations in seroconversion window phase screened by nucleic acid testing in different pool sizes and repeat test algorithms. *Transfusion*, 2011, 51(1):203-215.
- Kleinman SH, Lelie N, Busch MP. Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. *Transfusion*, 2009, 49(11):2454-2489.
- Grabarczyk P, van Drimmelen H, Kopacz A, et al. Head-to-head comparison of two transcription-mediated amplification assay versions for detection of hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus Type 1 in blood donors. *Transfusion*, 2013, 53(10):2512-2524.
- Stramer SL, Krysztof DE, Linnen JM, et al. Comparative analysis of triplex NAT assay in US blood donors. *Transfusion*, 2013, 53(10 Pt 2):2525-2537.
- Tsoi WC, Lelie N, Lin CK. Enhanced detection of hepatitis B virus in Hong Kong blood donors after introduction of more sensitive transcription mediated amplification assay. *Transfusion*, 2013, 53(10 Pt 2):2477-2488.
- Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*, 2011, 364(3):236-247.

(2016-11-14 收稿, 2017-06-11 修回)

本文编辑: 闻欣

## 无偿献血者 HIV 检测和归队情况分析

王丽梅 池泉 林授 何小兰(福建省血液中心,福建 福州 350004)

**摘要:目的** 分析无偿献血者血液 HIV 病原学筛查及归队检测结果,为献血者 HIV 病原学筛查、确证和归队策略提供数据支持。**方法** 对 2012 年 4 月 16 日-2016 年 6 月 30 日,福建省血液中心无偿献血者 344 515 名进行抗-HIV ELISA 和 NAT 检测。抗-HIV ELISA 反应性和(或)HIV RNA 反应性送 HIV 确证实验室确证。WB 确证为抗-HIV 阴性且 HIV RNA 无反应性献血者,在献血半年后,可归队检测。**结果** 血液筛查共检出献血者 HIV 项目反应性 361 例。其中抗-HIV ELISA 反应性合并 HIV RNA 反应性 98 例, WB 抗-HIV 确证结果为阳性 90 例,抗-HIV 不确定后失访 8 例;抗-HIV ELISA 无反应性但 HIV RNA 反应性 1 例, WB 抗-HIV 确证阳性;抗-HIV ELISA 反应性但 NAT 无反应性 262 例, WB 抗-HIV 确证结果阴性 259 例,抗-HIV 不确定后失访 3 例。抗-HIV 确证阳性的 91 例献血者, WB 反应带型均为 HIV-1 型。29 名归队体检献血者,10 名允许归队,其中 7 名再次献血合格。**结论** 福州地区献血者人群中 HIV 感染以 1 型为主;HIV RNA 反应性对判定献血者 HIV 感染状态具有较高的特异性;采用 NAT 和 ELISA 联合筛查检测,以及归队策略能够保障献血者的献血权利和血液安全。

**关键词:** 献血者;HIV;核酸检测;WB 反应带型;归队

**中图分类号:**R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0901-03

**Voluntary blood donors HIV Testing and regression analysis** WANG Limei, CHI Quan, LIN Shou, HE Xiaolan. Fujian Blood Center, Fuzhou 350004, China

**Abstract: Objective** This study aims to analyze the results of the screening and regression tests on voluntary blood donors for HIV detection and to provide data support for screening, verification and reentry strategy for blood donors. **Methods**

The donated blood samples were acquired from Fujian blood center, dating from April 16th, 2012 to June 30th, 2016. Anti-HIV ELISA and NAT tests were performed on these samples in 344 515 cases. Anti-HIV ELISA reactive and (or) HIV RNA reactive donor samples were then confirmed by HIV confirmatory laboratory. Donors confirmed by western blot (WB) as anti-HIV negative and HIV RNA non-reactive will be considered valid to rejoin after six months. **Results** 361 donors were HIV reactive. 98 out of the 361 were confirmed anti-HIV ELISA reactive and 90 of which are determined positive in the WB test while 8 cases lost contact with the donors; 1 sample was tested to be anti-HIV ELISA non-reactive but HIV RNA reactive; 1 case was confirmed positive by WB; There were 262 anti-HIV ELISA reactive but HIV RNA non reactive cases, and 259 cases were confirmed negative by WB while 3 cases lost contact to the donors. In 91 anti-HIV reactive donors, the WB response band type was HIV-1. 10 out of the 29 returned blood donors were allowed to rejoin, 7 of which were considered eligible for blood donation. **Conclusion** The HIV infection type in blood donors in Fuzhou were mainly type 1; HIV RNA tests are highly specific to HIV infected samples; The combination of NAT, ELISA screening tests and reentry strategy would ensure the donors' right to donate while maintain safty requirements in blood donation.

**Key words:** blood donors; HIV; NAT(nucleic acid test); WB reaction band type; reentry

2010 年我国血液筛查策略发生重大的改变,就是引入血液核酸检测,极大提升血液安全,特别是在预防输血传播艾滋病上有重大意义。福建省血液中心从 2012 年 4 月 16 日开始正式引入核酸检测系统,对所有献血者 HIV 项目均采用抗-HIV ELISA 以及单人份核酸联检联合筛查检测。截止 2016 年 6 月 30 日已检测 30 多万例献血者血液标本,对其 HIV 检测结果和反应性归队检测情况进行分析,为本中心献血者 HIV 病原学筛查、确证和归队策略提供数据支持。

### 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2012 年 4 月 16 日-2016 年 6 月 30 日福建

省血液中心年龄 18-60 岁(再次献血者献血年龄从 55 岁延长到 60 岁)的无偿献血者血液筛查标本 344 515 份。

**1.2 标本处理** 标本留取于无分离胶的 5 mL 血清学检测管和有分离胶的 8 mL 核酸检测管各 1 支。核酸检测管于采集 4 h 内离心,标本 2-8℃ 保存,采集后 72 h 完成检测。

**1.3 仪器与试剂** 抗-HIV ELISA:2012 年 4 月 16 日-2016 年 6 月 30 日使用法国伯乐生产的第 4 代 HIV ELISA 试剂检测 HIV 抗原抗体,2016 年 2 月 24 日-6 月 30 日增加北京万泰生产的第 4 代 HIV 试剂检测 HIV 抗原抗体。NAT:使用西班牙 Grifols 公司生产的诺华单人份 HBV/HCV/HIV 联合检测试剂和鉴别检测分析试剂。STAR 全自动加样器(瑞士 Hamilton)、FAME 全自动酶免分析仪器(瑞士 Hamilton)、诺华核酸检测系统(西班牙 Grifols)。

**1.4 方法** 抗-HIV ELISA 血液检测初次反应性,进行双孔复检,任 1 孔重复反应性送 HIV 确证实验室确证; NAT 血液检测初次反应性后,鉴别结果为 HIV RNA 反应性送 HIV 确证实验室确证;上述检测反应性血液均送福建省/福州市疾病预防控制中心 HIV 确证实验室采用免疫印迹法(WB)进行抗-HIV 确证。仅 HIV RNA 可鉴别反应性献血者追踪检测;抗-HIV ELISA 无反应性 HIV RNA 反应性献血者在献血后 1 周、2 周、1 个月、1 个月后每隔 1 个月进行抗-HIV ELISA 和 NAT 追踪检测。

**1.5 WB 确证试验结果判定标准**<sup>[1]</sup> 1) 抗-HIV-1 阳性(+) (同时符合以下 2 条标准可判为抗-HIV-1 阳性): ①至少有 2 条 env 带(gp41 和 gp160/gp120) 出现,或至少 1 条 env 带和 P24 带同时出现; ②符合试剂盒提供的阳性判定条件和标准。2) 抗-HIV-2 血清学阳性(+) (同时符合以下 2 条标准): ①至少有 2 条 env 带(gp36 和 gp140/gp105); ②符合试剂盒提供的阳性判定条件和标准。3) 抗-HIV 阴性(-): 无抗-HIV 特异性条带。4) 抗-HIV 不确定(±): 有抗-HIV 特异条带,但不满足阳性判定标准。

**1.6 归队体检标准** WB 确证为抗-HIV 阴性且 HIV RNA 无反应性献血者,在献血半年后,可重新留取标本进行抗-HIV ELISA 和 NAT 检测,抗-HIV ELISA 和 NAT 均无反应性

献血者允许归队;抗-HIV ELISA 反应性 NAT 无反应性,献血者永久屏蔽;抗-HIV ELISA 无反应性,NAT 鉴别结果为 HIV RNA 反应性,献血者按照仅 HIV RNA 可鉴别反应性献血者进行追踪检测。

**2 结果**

**2.1 献血者 HIV 项目检测情况** 2012 年 4 月 16 日-2016 年 6 月 30 日无偿献血者血液筛查共检出 HIV 项目反应性 361 例。其中抗-HIV ELISA 反应性合并 HIV RNA 反应性 98 例,该 98 例 WB 抗-HIV 初次确证结果为阳性 86 例,不确定 12 例。对抗体不确定 12 例进行追踪,其中追踪的 4 例再次检测均为抗-HIV ELISA 反应性合并 HIV RNA 反应性,且抗-HIV 再次确证阳性;其余 8 例失访,失访的其中 2 例其他医疗机构次年送检抗-HIV 确证阳性。抗-HIV ELISA 反应性但 NAT 无反应性 262 例,该 262 例 WB 抗-HIV 初次确证结果阴性 246 例,不确定 16 例。对抗体不确定 16 例进行追踪,抗-HIV 再次确证阴性 13 例,抗-HIV 不确定后失访 3 例。(表 1)

抗-HIV ELISA 无反应性但 HIV RNA 反应性 1 例,WB 抗-HIV 初次确证结果为阴性,对该献血者在其献血后 1 周、2 周、1 个月、2 个月进行追踪检测,在献血后 2 个月 WB 抗-HIV 确证阳性(表 2)。

**表 1** 2012 年 4 月-2016 年 6 月 30 日献血者 HIV 项目检测情况

	HIV 初筛 反应性	ELISA 反应性	HIV RNA 反应性	WB 确证			复查 WB 确证		失访
				阳性	不确定	阴性	阳性	阴性	
2012 年	47	18	18	17	1	17	1	0	0
		29	0	0	5	24	0	4	1
2013 年	102	24	24	21	3	0	1	0	2
		0	1	0	0	1	1	0	0
		77	0	0	6	71	0	6	0
2014 年	88	20	20	18	2	0	0	0	2
		68	0	0	2	66	0	2	0
2015 年	65	24	24	19	5	0	1	0	4
		41	0	0	1	40	0	1	0
2016 年	59	12	12	11	1	0	1	0	0
		47	0	0	2	45	0	0	2
总计	361	360	99	86	28	247	5	13	11

**表 2** 1 例 仅 HIV RNA 反应性献血者追踪情况

检测时间	抗-HIV ELISA 4 代 试剂检测结果	HIV RNA 检测结果	WB 确证 情况
献血时检测	无反应性	反应性	阴性
献血后 1-2 周	反应性	反应性	阴性
献血后 1 个月	反应性	反应性	不确定
献血后 2 个月	反应性	反应性	阳性

**表 3** 2012 年 4 月-2015 年 HIV 可归队献血者归队体检情况(n)

	HIV 可归队 献血者 例数	归队 体检 例数	归队体 检结果		归队后再次献血 HIV 血液检测结果	
			反应性	无反应性	反应性	无反应性
2012 年	28	3	2	1	0	0
2013 年	77	16	11	5	1	3
2014 年	68	6	3	3	0	3
2015 年	41	4	3	1	0	1
总计	214	29	19	10	1	7

**2.2 HIV 项目归队检测情况** 截止 2015 年 12 月 31 日,共 214 位献血者符合归队体检标准,有 29 名献血者在献血半年后进行了归队检测,其中 19 例仍为 ELISA 反应性 NAT 无反应性未能归队。10 名献血者为 ELISA 无反应性 NAT 无反应性允许归队。获得归队资格的 10 名献血者,有 8 名再次参加献血,其中 7 例献血者血液检测合格,1 例献血者血液检测抗-HIV ELISA 反应性 NAT 无反应性,WB 确证试验阴性(表 3)。

**2.3 WB 确认结果带型分析** 抗-HIV 确证阳性的 91 名献血者,带型中 env 基因编码蛋白的抗体阳性率最高, gp160、gp120、gp41 均为 100%; pol 基因编码蛋白的抗体阳性率分别是 P66 为 100%,P51 为 90.1%,P31 为 90.1%; gag 基因编码蛋白的抗体阳性率相对较低,分别是 P55 为 36.3%, P17 为 81.3%, 但 P24 较高为 100% (表 4)。

表 4 91 位抗-HIV 确证阳性分年龄和性别 WB 带型分布

(%)

	n	env 基因			pol 基因			gag 基因		
		gp41	gp160	gp120	p66	p51	p31	p55	p24	p17
性别	女	9	9(100)	9(100)	9(100)	8(88.89)	8(88.9)	4(44.4)	9(100)	7(77.8)
	男	82	82(100)	82(100)	82(100)	74(90.2)	74(90.2)	29(35.4)	82(100)	67(81.7)
年龄(岁)	≤45	81	81(100)	81(100)	81(100)	72(88.9)	73(90.1)	31(38.3)	81(100)	66(81.5)
	>45	10	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	9(90.0)	2(20.0)	10(100)	8(80.0)
总计	91	91(100)	91(100)	91(100)	91(100)	82(90.1)	82(90.1)	33(36.3)	91(100)	74(81.3)

### 3 讨论

本中心 2012 年 4 月 16 日-2016 年 6 月 30 日检测无偿献血者 344 515 例,血液筛查检出献血者 HIV 项目反应性标本 361 例。其中 HIV RNA 反应性总计 99 例,除去失访的 8 例,其余 91 例 WB 抗-HIV 确证均为阳性,阳性符合率为 100%,其中 1 例为抗-HIV ELISA 窗口期(抗-HIV ELISA 无反应性但 HIV RNA 反应性 1 例)。这例抗-HIV ELISA 窗口期献血者在追踪的 1、2 周,WB 抗-HIV 确证阴性;1 个月后,WB 抗-HIV 确证不确定;追踪 2 个月后,WB 抗-HIV 确证阳性。本中心对该例抗-HIV ELISA 窗口期献血者,结合流行病学资料进行随访,才及时准确地发现 HIV 感染者。国内多家血液中心也在引入血液核酸检测后,报道发现抗-HIV ELISA 窗口期献血者<sup>[2-4]</sup>。抗-HIV ELISA 反应性总计 360 例,除去失访的 3 例外其余 357 例 WB 抗-HIV 确证阳性的为 90 例,阳性符合率为 25%。虽然试验数据显示血液筛查 HIV 项目核酸检测的 HIV 阳性符合率远高于 ELISA 检测,但血液筛查中 NAT 并不能完全替代 ELISA 检测,不能完全依赖于核酸检测而放松 ELISA 检测质量的管理与控制,因为 NAT 也存在自身的缺点。对于 HIV 精英控制者(抗-HIV ELISA 反应性、NAT 非反应性,但 WB 抗-HIV 确证阳性)和 HIV 基因变异的携带者<sup>[2]</sup>就可能造成 NAT 漏检,而 ELISA 检测可以与 NAT 形成很好的互补。

91 名抗-HIV 确证阳性献血者的 WB 带型分析显示,HIV 感染都是 1 型。其中女性献血者 P55 阳性率略高于男性献血者,年龄≤45 岁的献血者 P55 阳性率高于年龄>45 岁献血者,但不同性别和年龄的抗体阳性率 $\chi^2$ 检验,差异无统计学意义。这 91 名献血者 HIV WB 带型中,env 基因编码 gp160、gp120、gp41 以及 gag 基因编码蛋白 P24 阳性率均为 100%,与钟敏等<sup>[5]</sup>2012 年调查报道的结果 env 基因编码的 HIV-1 胞膜蛋白的抗体 gp160、gp120、gp41 和核心蛋白抗体 P24 阳性率在全类人群中均较高一致,表明 HIV-1 胞膜蛋白和核心蛋白的抗体是确证 HIV-1 感染的必备条件。

美国卫生与人类服务部食品药品监督管理局生物制品评价研究中心 2005 年就发布了指引《HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血者屏蔽与归队指引》,指引中对于 HIV 检测反应性献血者的归队建议给予的是 8 周的等待期<sup>[6]</sup>。中国输血协会在 2015 年 10 月发布的《反应性献血者屏蔽与归队指南》(第 2 版)对于 HIV 检测反应性献血者的归队建议给予在 3 个月以后<sup>[7]</sup>。本中心对于 WB 确证抗-HIV 阴性且 HIV

RNA 无反应性献血者建议半年后归队检测。本中心 2012 年 4 月 16 日-2015 年 12 月 31 日,可归队的献血者为 214 位,而在 2013 年-2016 年 6 月 30 日期间,只 29 名献血者回本中心进行归队检测,归队检测率为 13.6%,归队后再次献血并合格的献血者为 7 例,虽然例数偏少,但就像周国平等<sup>[8]</sup>在 2014 年的报道中强调的,虽然这项工作叫做“归队”,但是最基本和主要的目的是:明确和消除不确切的结果对献血者带来的伤害,献血者是否真的会“归队”而献血,反而是次要的<sup>[8]</sup>。

从本中心的试验数据统计分析表明,福州地区献血者人群中 HIV 感染以 1 型为主,HIV RNA 反应性对判定献血者 HIV 感染状态具有较高的特异性。NAT 检测在降低输血感染方面是有效和必要的。采供血机构可以根据当地疾控中心的确证试验结果,来判定献血者 HIV 反应性标本是否为假阳性,同时采供血机构 NAT 结果也可以为疾控中心的不确定标本追踪提供参考,可以做到合作共赢<sup>[9]</sup>。采用 NAT 和 ELISA 联合筛查检测,以及归队策略能够保障献血者的献血权利和血液安全。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部,艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准. 2008.
- [2] 黄力勤,查希,葛红卫,等.无偿献血人群 HIV 检测结果多样性分析.中国输血杂志,2016,29(5):505-508.
- [3] 潘彤,杨文玲,姚娜,等.HIV RNA 阳性标本追踪检测 1 例.中国输血杂志,2014,27(2):197-199.
- [4] 王芳,栾燕,刘显智.核酸检测技术(NAT)在献血者人类免疫缺陷病毒筛查中的应用.中国输血杂志,2010,23(10):892-894.
- [5] 钟敏,马莎,杨绍敏.367 例 HIV-1 阳性样本 WB 确证结果的带型分析.检验医学与临床,2012,20(9):2529-2530.
- [6] 郭永建,姚凤兰,林授,等.HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血者屏蔽与归队指引(上).中国输血杂志,2011,24(1):79-85.
- [7] 中国输血协会,血液质量管理委员会.反应性献血者屏蔽与归队指南.2 版.2015.
- [8] 周国平,谢云峥,王迅,等.做好假反应性献血者归队是血站的责任.中国输血杂志,2014,27(10):1079-1082.
- [9] 张龙穆,冯秋霞,杨忠思,等.核酸检测对 HIV 筛查的影响.临床输血与检验,2015,17(3):249-251.

(2017-01-07 收稿,06-15 修回)

本文编辑:夏玲

· 论著 ·

# 常用抗-HIV、抗-TP ELISA 血液筛查试剂盒阳性判断值的验证

王庆敏 冯晨晨 蒋昵真 黄成垠<sup>△</sup>(江苏省血液中心,江苏南京 210042)

**摘要:**目的 应用约登指数(Youden index)验证常用抗-HIV、抗-TP ELISA 血液筛查试剂盒的阳性判断值(S/CO)及其“灰区”设置的必要性。方法 利用 SPSS17.0 软件,计算国家卫计委临床检验中心(NCCL)牵头组织的国内常用血液筛查试剂多中心评估项目中的抗-HCV、抗-TP ELISA 试剂不同 S/CO 值时的灵敏度、特异性及约登指数[约登指数=(灵敏度+特异性)-1],以 S/CO 值为横坐标,约登指数为纵坐标,绘制曲线,观察每种试剂各自在最大约登指数下的 S/CO 值。结果 在所评估的 7 家抗-HIV ELISA 试剂盒中,有 1 种试剂的 S/CO 值为 1、其余 6 种试剂的 S/CO 值均为 5 时,其约登指数达最大。在所评估的 5 家抗-TP ELISA 试剂盒中,有 2 种试剂的 S/CO 值为 1、2 种试剂的 S/CO 值为 3 和 1 种试剂的 S/CO 值为 5 时,其约登指数达最大。结论 国内常用血液筛查试剂多中心评估项目中的抗-HIV 和抗-TP ELISA 试剂盒灵敏度和特异性最佳时均为 S/CO ≥ 1(亦即试剂盒自身设定的判定值),因此均不必设置“灰区”。

**关键词:**抗-HIV;抗-TP;ELISA 试剂;S/CO 值;约登指数;灰区检测值

**中图分类号:**R446.6 R311 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0904-03

## Confirmation and analysis of the cut-off value in anti-HIV and anti-TP ELISA kits for blood donation screening

WANG Qingmin, FENG Chenchen, JIANG Nizhen, HUANG Chengyin. Jiangsu Province Blood Center, Nanjing 210042, China. Corresponding author: HUANG Chengyin

**Abstract: Objective** To evaluate the necessity of the application of Youden index in the cut-off value(S/CO) determination and the gray zone range establishment in anti-HIV and anti-TP ELISA kits for blood donation screening. **Methods** Data was collected from the project organized by the National Center for Clinical Laboratories to evaluate anti-HIV and anti-TP ELISA kits by multiple centers and was analyzed by the SPSS[ 17.0 ] system. The Youden index under different S/CO value was calculated with the equation where Youden index=sensitivity+ specificity-1. Each curve was plotted with the S/CO value on the horizontal axis and Youden index on the vertical. Thus the optimal S/CO values were defined as the Youden index values reached maximum. **Results** Among 7 different anti-HIV ELISA kits provided, one presented a maximum Youden index value at a S/CO value of 1 while the rest possessed maximum Youden index values at S/CO values of 5. As far as the 5 anti-TP ELISA kits being concerned, the Youden indexes reached maximum values at S/CO values of 1 (2 kits), 3 (2 kits) and 5 (1 kit). **Conclusion** Since the sensitivity and specificity of 7 anti-HIV ELISA kits and 5 anti-TP ELISA kits all reaches optimal when S/CO ≥ 1, there is no need to set gray zone range for these two kinds kits evaluated.

**Key words:**anti-HIV; anti-TP ;ELISA kit; S/CO value ;Youden index;gray zone range

为减少弱阳性标本的漏检,国内许多血站将 ELISA 血液筛查试剂盒的阳性判断值(S/CO)下移,即设置“灰区”,下移的范围 50%~80%,但 ELISA“灰区”设置一直存在争议,其设置标准或范围也并无依据或做过验证<sup>[1-3]</sup>。随着 ELISA 检测试剂质量的不断改进,实验室质量管理的不断完善,“灰区”设置的必要性需要做进一步评估和验证。我们根据国家卫生计生委临床检验中心(NCCL)牵头组织的国内常用血液筛查试剂多中心评估项目中的数据,利用受试者工作特征(ROC)曲线,对国内目前常用抗-HIV、抗-TP ELISA 试剂盒的阳性判定值做了验证,探讨是否需要设置“灰区”,报道如下。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 标本来源

2015 年 3 月 10 日-9 月 10 日的 ELISA 筛查  
doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.015  
<sup>△</sup>通信作者:黄成垠(1963.12-),男,主任技师,主要从事输血医学管理研究,电话:025-85411569,Email:huangchengyin1223@126.com

抗-HIV 反应性标本共 453(人)份、抗-TP 反应性标本 793(人)份以及阴性标本 582(人)份;NCCL 抗-HIV 反应性标本 51 份,抗-TP 反应性标本 80 份;天津市血液中心抗-HIV 反应性标本 71 份,抗-TP 反应性标本 100 份,阴性标本 49 份;河北省血液中心抗-HIV 反应性标本 26 份,抗-TP 反应性标本 33 份,阴性标本 18 份;江苏省血液中心抗-HIV 反应性标本 33 份,抗-TP 反应性标本 50 份,阴性标本 50 份;辽宁省血液中心抗-HIV 反应性标本 19 份,抗-TP 反应性标本 48 份,阴性标本 50 份;黑龙江省血液中心抗-HIV 反应性标本 30 份,抗-TP 反应性标本 120 份,阴性标本 76 份;山东省血液中心抗-HIV 反应性标本 44 份,抗-TP 反应性标本 50 份,阴性标本 50 份;河南省血液中心抗-HIV 反应性标本 47 份,抗-TP 反应性标本 81 份,阴性标本 114 份;重庆市血液中心抗-HIV 反应性标本 31 份,抗-TP 反应性标本 78 份,阴性标本 19 份;昆明血液中心抗-HIV 反应性标本 8 份,抗-TP 反应性标本 17 份,阴性标本 15 份;吉林省血液中心抗-HIV 反应性标本 48

份,抗-TP 反应性标本 50 份,阴性标本 11 份;菏泽市中心血站抗-HIV 反应性标本 2 份,抗-TP 反应性标本 8 份,阴性标本 21 份;襄阳市中心血站抗-HIV 反应性标本 14 份,抗-TP 反应性标本 28 份,阴性标本 9 份;通州区中心血站抗-HIV 反应性标本 29 份,阴性标本 50 份;深圳市血液中心抗-TP 反应性标本 50 份,阴性标本 50 份。使用统一的 5 mL 试管留取标本,每份标本从相应血浆(ACD 或 CPD 抗凝)袋中留取 10 管血浆,约为 3 mL/管,均为检验报告发布 ≤ 12 h 留取,并在 < -25℃ 冻存。

**1.2 标本处理** 每个标本的 3 管寄到 NCCL 做化学发光检测及确认试验,3-4 支管分别寄送到参与评价的 3-4 家血站检测,其余标本留本血站保存备用。标本均以冷链(2-4℃)运输,从标本收集到评估检测在 6 个月内完成。

**1.3 试剂评价范围和方法** 对在全国血站使用量 > 2% 的某一品牌试剂盒,选择 3-4 家在用该试剂的血站,2015 年 11 月 18-24 日应用该试剂在血站常规血液筛查工作平台上对上述标本做平行检测。

**1.3.1 被评价试剂检测结果的确定** 各血站实验室的检测结果均为阳性时,结果判定为阳性;检测结果均为阴性时,结果判定为阴性;检测结果不一致时,以多数实验室(3 家中的 2 家、4 家中的 3 家)的检测结果为准;检测结果不一致且不同结果数为 1:1 时,要求各实验室做双孔复检。

**1.3.2 评估项目中每个标本最终结果的确定** 1) NCCL 使用瑞士罗氏和美国雅培化学发光试剂检测;参与项目的各血站使用在评价范围内各种品牌的 ELISA 试剂检测,判定标准为:抗体阳性判断值(S/CO) ≥ 1 为阳性,S/CO < 1 为阴性;同时报告所有检测标本的 S/CO 值。2) 所有评价试剂的检测结果均为阳性即确定为真阳性,均为阴性时即判为真阴性,不同品牌 ELISA 试剂检测结果不一时,NCCL 再做如下检测:  
(1) 抗-HIV 检测结果不一致的所有标本均作单人份核酸(NAT)检测,HIV RNA 阳性即最终判为阳性,阴性即最终判为阴性;  
(2) 抗-TP 检测结果不一致的所有标本均作 TPPA、WB(IgG IgM)检测,任一方法检测为阳性即确认为阳性结果,各方法检测均为阴性则确认为阴性结果。

**1.4 统计学处理** 利用 SPSS 软件 17.0 分析试剂评估数据,计算在不同 S/CO 值下试剂的灵敏度、特异性和约登指数(Youden index) [约登指数 = (灵敏度 + 特异性) - 1], 灵敏度 = [真阳性 ÷ (真阳性 + 假阴性)] × 100%, 特异性 = [真阴性 ÷ (真阴性 + 假阳性)] × 100%, 以 S/CO 值为横坐标,约登指数为纵坐标,绘制曲线。

**2 结果**

**2.1 被评估的抗-HIV ELISA 试剂的最佳阳性判断值、特异性、敏感性、约登指数分析** 抗-HIV 检测反应性标本共 453 份,经确认试验为抗-HIV 阳性 136 份(占 30.02%)、阴性 317 份;582 份阴性标本确认试验均为阴性(100%)。被评估的 7 种 ELISA 试剂(代码为 23001、23003、23043、23081、23085、23089、23107)中,有 2 种试剂(23085、23089)试剂有(由) 4 个血站实验室参与了评估,其余 5 种试剂则有 3 个血站实验室参与了评估(图 1-2,表 1)。

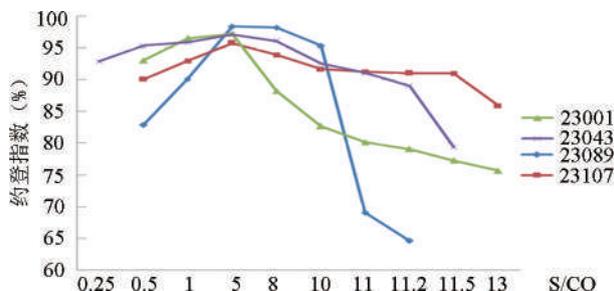


图 1 4 种抗-HIV ELISA 检测试剂盒不同界点值(S/CO)下的约登指数

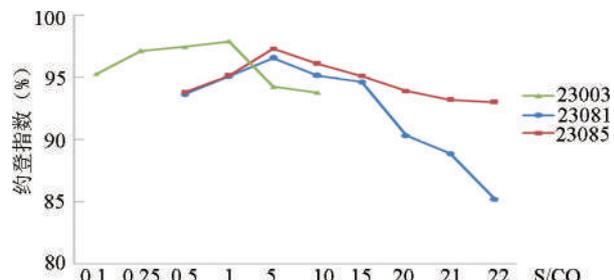


图 2 3 种抗-HIV ELISA 检测试剂盒不同界点值(S/CO)下的约登指数

表 1 7 种抗-HIV ELISA 检测试剂盒的最佳阳性判断值、灵敏度、特异性和约登指数

试剂代码	判定值(S/CO)	灵敏度(%)	特异性(%)	约登指数
23001	5	98.41	99.23	0.976
23003	1	100	97.91	0.979
23043	5	96.32	99.78	0.961
23081	5	97.79	98.78	0.966
23085	5	98.53	98.78	0.973
23089	5	99.26	99.11	0.984
23107	5	96.32	99.44	0.958

**2.2 被评估的抗-TP ELISA 试剂的 ROC 曲线与最佳阳性判断值、特异性、敏感性、约登指数分析** 抗-TP 检测反应性标本共 793 份,经确认阳性标本 507 份(占 63.93%)、阴性 286 份;582 份阴性标本确认试验均为阴性。参加评估的 5 种 ELISA 试剂(代码为 23003、23001、23043、23081、23016)中,除 1 种(23043)有 4 个血站实验室参与了评估外,其他 4 种试剂均有 3 个血站实验室参与了评估(图 3,表 2)。

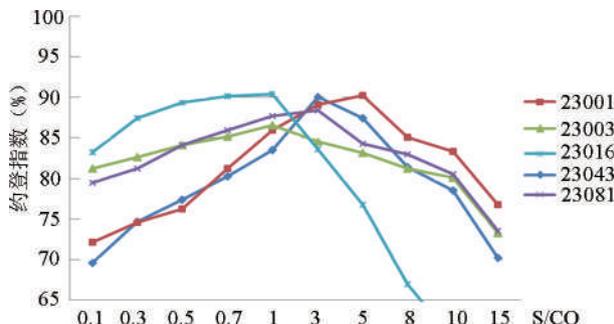


图 3 5 种抗-TP ELISA 检测试剂盒的 ROC 曲线

表 2 5 种抗-TP ELISA 检测试剂盒的最佳阳性判断值、灵敏度、特异性和约登指数

	判定值(S/CO)	灵敏度(%)	特异性(%)	约登指数
23001	5	92.76	97.44	0.902
23003	1	93.54	93.03	0.866
23016	1	96.28	94.13	0.904
23043	3	95.87	94.15	0.900
23081	3	93.35	95.01	0.884

### 3 讨论

ELISA 检测试剂盒的 Cut-off 值设定,常用的方法是:1)测定标本对阴性比值,即  $Cut-off = 2$  或  $3 \times$ (阴性对照吸光度值的均值);2)以阴性对照吸光度均值+2s 或 3s,即  $Cut-off = 95.3\%$ (单侧)的可信度+2s,或  $99\%$ (单侧)的可信度+3s(多数厂家的试剂盒均采用这 2 种方法,但是二者方法简单易行,但仅考虑了阴性人群,可能会导致假阴性比例较高);3)综合阴性对照吸光度均值+2s 或 3s/阳性对照吸光度-2s 或 3s 和转化血清结果(这是较好的模式,但由于转化型血清标本难以得到,因此应用有一定难度)<sup>[1]</sup>。

约登指数是筛检试剂较好的评价指标,约登指数=(灵敏度+特异性)-1 或  $1-(假阴性率+假阳性率)$ ,它表示筛检方法发现真阳性与真阴性的总能力,约登指数的范围在 0-1 之间,指数越大,其真实性越高<sup>[2-4]</sup>。我们根据各种试剂的最终评估结果,计算不同 S/CO 值的灵敏度和特异性及约登指数,并以 S/CO 值为横坐标,约登指数为纵坐标,绘制曲线,观察最大约登指数下的 S/CO 值,此即灵敏度和特异性兼顾的 Cut-off 值(图 1-3)。

ELISA 法检测 HBsAg、抗-HCV 结果为 S/CO<1 的灰区标本,经中和试验、WB 确证试验和 NAT 检测后,有较大比例的标本为真阳性,说明这 2 个项目设置灰区有一定的必要性,因而血站多数实验室灰区设置的范围在 0.1-0.8,但是具体的设置标准并没有依据或经过验证<sup>[5-8]</sup>。我们采用 NCCL 牵头组织的《国内常用血液筛查试剂多中心评估项目》的数据,对国内常用的抗-HIV ELISA 及抗-TP ELISA 检测试剂盒设定的 S/CO 值加以验证:被评估的 7 种常用 ELISA 抗-HIV 检测试剂盒中,代码为 23003 者的 S/CO 值为 1 时,其约登指数

最大(0.979),其他 6 种试剂盒 S/CO 值均为 5 时,约登指数最大(图 1-2,表 1);被评估的 5 种常用 ELISA 抗-TP 检测试剂盒中,S/CO 值分别有 2 种试剂为 1、2 种试剂为 3、以及 1 种试剂为 5 时,其各自的约登指数最大(图 3,表 2)。由此说明这些常用 ELISA 抗-HIV、抗-TP 检测试剂盒结果判定的最佳界点值均为  $S/CO \geq 1$ ,亦即试剂盒自身设定的判定值就为  $S/CO \geq 1$ ,因此均不必设置检测“灰区”。

(致谢:“血液筛查试剂多中心评估项目”成员单位:国家卫计委临床检验中心、天津市血液中心、河北省血液中心、辽宁省血液中心、黑龙江省血液中心、山东省血液中心、河南省血液中心、重庆市血液中心、云南省血液中心、吉林省血液中心、深圳市血液中心、山东菏泽市中心血站、湖北襄阳市中心血站、北京通州血站)

### 参考文献

- [1] 李金明.测定结果的报告和数据处理//李金明.临床酶免疫测定技术.北京:人民卫生出版社,2005:99-104.
- [2] 唐婧,包建玲,孟存仁,等.ROC 曲线对 ELISA 检测丙型肝炎抗体阳性判断值的确定和分析.检验医学,2014,29(8):826-830.
- [3] 陈木新,陈家旭.3 种 ELISA 试剂检测并殖吸虫病的效果评价.中国血吸虫病防治杂志,2016,28(3):264-268.
- [4] 徐林发,汪素珍,王柏省.应用 ROC 曲线求解最佳切点的方法介绍.中国卫生统计,2011,28(6):701-703.
- [5] 陈善华,李丽莉,李浩,等.ELISA 方法检测 HBsAg 设置灰区的必要性探讨.中国输血杂志,2013,26(10):1013-1014.
- [6] 陈洪生,陈佳徽,张三明,等.ELISA“灰区”范围的设定对献血者血液检测安全和血源保护的意义.中国输血杂志,2015,28(9):1140-1141.
- [7] 李秀,王红丽,马超,等.ELISA 方法定性检测 HBsAg 灰区和相关实验室结果分析.中国实验诊断学,2014,18(2):290-291.
- [8] 陈显,胡文佳,黄成垠,等.献血者 ELISA 检测为灰区标本的确证实验及核酸检测情况分析.中国输血杂志,2015,28(2):198-199.

(2016-08-24 收稿,2017-07-22 修回)

本文编辑:蔡辉

欢 迎 赐 稿                      欢 迎 订 阅

## 参加国际血型分子免疫血液学实验室室间质评项目结果分析\*

张文静 秦敬民 庄云龙 徐群<sup>△</sup>(山东省血液中心, 济南 山东 250014)

**摘要:目的** 提高实验室分子检测水平, 强化实验室人员的质量意识, 提高血液检测的安全性和有效性。**方法** 2015 年 10 月至 11 月参加由德国 INSTAND 组织的国际医学实验室室间质量评估项目, 对发放的未知 DNA 标本, 用 PCR-SSP 的方法对 ABO、Rh、MNS、Kell、Kidd 和 Duffy 等主要血型抗原系统进行基因分型检测。**结果** 对发放的 4 个 DNA 标本分别进行抗原的基因分型, 结果依次为: 61 号, *B/O1, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>A</sup>/FY<sup>A</sup>, MNs, Ccee, RHD Gen/gene (normal)*; 62 号, *O1/O1, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>A</sup>/FY<sup>B</sup>, MNs, Ccee, RHD Gen/gene (normal)*; 63 号, *O1/O1, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>A</sup>/FY<sup>A</sup>, NNs, CCee, RHD Gen/gene (normal)*; 64 号, *O1/O1, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>B</sup>/FY<sup>B</sup>, MNs, CcEe, RHD Gen/gene (normal)*。**结论** 鉴定结果与质评反馈结果完全一致。该项目提高了输血医学实验室分子检测的水平, 验证了实验室体系的稳定性、保证临床输血检测的安全性和有效性。

**关键词:** 室间质评; 血型抗原基因; 分子检测

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0907-03

**Analysis of the results in the external quality assessment schemes in medical laboratories** ZHANG Wenjing, QIN Jingmin, ZHUANG Yunlong, XU Qun. Shandong Blood Center, Jinan, Shandong 250012, China

**Abstract: Objective** To improve the performance of molecular detection in the medical laboratory and enhance the safety level and effectiveness of blood tests. **Methods** Participated the external quality assessment (EQA) schemes in medical laboratories organized by INSTAND and genotyped the main blood groups including ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy and MNS blood group systems using PCR-SSP methods. **Results** The genotyping results of the four DNA samples are as follows: no. 61, *B/O1, KEL2/KEL2, JKA/JKB, FYA/FYA, MNs, Ccee, RHD Gen/gene (normal)*; no. 62, *O1/O1, KEL2/KEL2, JKA/JKB, FYA/FYB, MNs, Ccee, RHD Gen/gene (normal)*; no. 63, *O1/O1, KEL2/KEL2, JKA/JKB, FYA/FYA, NNs, CCee, RHD Gen/gene (normal)*; no. 64, *O1/O1, KEL2/KEL2, JKA/JKB, FYB/FYB, MNs, CcEe, RHD Gen/gene (normal)*. **Conclusion** The genotyping results are in accordance with the feedback results. Participating the EQA would ultimately promote the ability of blood molecular detection for the immunohematology laboratories, verify the stability of the experimental system and ensure the safety level and effectiveness of the blood test.

**Key words:** external quality assessment (EQA); blood group antigen; molecular detection

正确的血型抗原鉴定, 是临床输血准确性和安全性的保障。日常工作中, 血型血清学检测是最为基本的方法, 可以满足大部分临床病患以及献血者的血型鉴定。但在特殊情况下, 比如因患有血液病等<sup>[1-4]</sup>或长期慢性疾病的患者因免疫低下致抗原或抗体减弱导致 ABO 正反定型不符、稀有血型个体红细胞表面血型抗原的鉴定受到检测试剂的限制等, 血清学检测方法具有一定的局限性。为了提高血型鉴定的精准度与灵敏度, 采用分子生物学方法进行血型抗原的基因分型表现出了很大的优势, 近年来, 血型抗原分子水平的检测越来越受到输血工作者的青睐<sup>[5,6]</sup>。为了监测本实验室的分子检测的工作质量、提高血液的检测水平、为临床输血安全提供有力的技术保障, 本实验室参加了 2015 年度 10 月份由德国 INSTAND 组织的国际医学实验室室间质量评估项目 ( External Quality Assessment, EQA ) ( <http://www.instandev.de/en/eqas.html> ), 此项目意在监测医学实验

室分子检测的质量与水平。参与此次室间质评项目的成员包括了欧美等诸多国家的医学实验室, 本血型参比实验室是目前国内第 1 个参与此国际室间质评项目的实验室。我们将此次室间质评项目进行分析介绍, 并推荐国内同类实验室积极参加此国际室间质评项目, 对提高临床输血的安全性和输血相关实验室检测的精准性尽微薄之力。

## 1 材料与方法

**1.1 样品来源** 2015 年 10 月初由 INSTAND e. V. 邮寄未知 DNA 样本 4 份, 编号为 61、62、63 和 64, 每份样本 30 μL。对标本 DNA 进行浓度测定 ( GeneQuant Pro ( Amersham Biosciences, USA ) ), 之后放入 -20℃ 冰箱冻存备用。

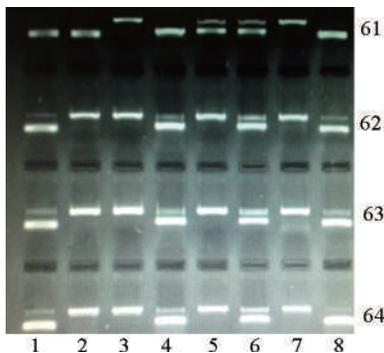
**1.2 试剂** 试剂盒购置 Inno-Train Diagnostic GmbH 公司生产的 RBC-Ready Gene ABO ( 批号: S9AP034 )、RBC-Ready Gene CDE ( 批号: S9CP116 )、RBC-Ready Gene vERYfy ( 批号: S9VY044 ), PCR 仪使用 GeneAmp 9700 PCR Thermal Cycler ( 美国 Applied Biosystems ), 紫外光 ( 美国 GeneGenius ) 下读取电泳结果。

**1.3 方法** 通过 PCR-SSP 方法分别对样本 DNA 的 ABO、

Rh、MNS、KELL、Kidd 以及 Duffy 系统的血型抗原给予分型检测。PCR 反应体系: 配制 Mastermix (MM) 混合液: Aqua dest 6  $\mu$ L, ReadyPCR 3  $\mu$ L, Taq-Polymerase (5 U/ $\mu$ L) 0.08  $\mu$ L, 取用 9  $\mu$ L MM 混合液向其中加入待测 DNA (100 ng/ $\mu$ L) 标本 1  $\mu$ L, 总反应体积为 10  $\mu$ L。将混合后的反应体系放入 PCR 仪, 94 $^{\circ}$ C 预热 2 min, 5 个循环: 94 $^{\circ}$ C 20 s, 70 $^{\circ}$ C 60 s; 10 个循环: 94 $^{\circ}$ C 20 s, 65 $^{\circ}$ C 60 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s; 20 个循环: 94 $^{\circ}$ C 20 s, 61 $^{\circ}$ C 50 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s; 72 $^{\circ}$ C 5 min, 10 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 150 V, 20 min。电泳结果在紫外光下读取。

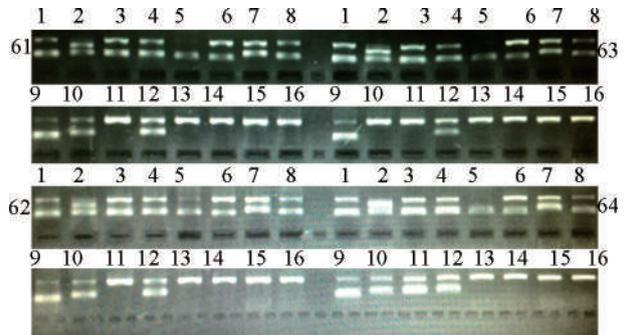
2 结果

2.1 基因分型结果 根据试剂盒给出的反应格局, 将 PCR 产物的读取结果与之比对, 结果如下。4 份 DNA 标本的 ABO、Kell、Kidd、Duffy、MNS、Rh 系统抗原基因分型结果如图 1-3, 图 1 中, 61-64 号标本 ABO 基因型分别为: B/O1, O1/O1, O1/O1, O1/O1; 图 2 所示 4 个标本分别为: Ccee, RHD Gen/gene (normal); Ccee, RHD Gen/gene (normal); CCee, RHD Gen/gene (normal); CcEe, RHD Gen/gene (normal); 图 3 结果分别为: 61 号, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>A</sup>/FY<sup>A</sup>, MNs; 62 号, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>A</sup>/FY<sup>B</sup>, MNs; 63 号, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>A</sup>/FY<sup>A</sup>, NNs; 64 号, KEL2/KEL2, JK<sup>A</sup>/JK<sup>B</sup>, FY<sup>B</sup>/FY<sup>B</sup>, MNs。本结果与质评反馈结果完全一致。



1: 134bp, O<sup>1</sup>; 2: 133bp, non O<sup>1</sup>; 3: 194bp, O<sup>2</sup>; 4: 193bp, non O<sup>2</sup>; 5: 195bp, B; 6: 194bp, non B; 7: 170bp, A<sup>2</sup>; 8: 170bp, non A<sup>2</sup>

图 1 所有待测标本 (61-64 号) ABO 基因分型



\* 电泳条带所示片段如下表:

PCR产物大小	124	149	305	139	152	303	130	122	186	147	106	298	145	157	158	166	166	139	139
对应基因	D1	D2, C	D3	D4	D5	D5	D6	D7	D9	D10	C	c	E	e	e	DVII	DVII	DNB	DNB
																DVII	DVII	DAU	DAU
																DNB	DNB	697A	697C

图 2 所有待测标本 (61-64 号) CDE 基因分型



\* 电泳条带所示条带如下表

1	2	3	4	5	6	7	8
Negative Control 434 bp NC	D-Exon 1 434 bp IC 124 bp	D-Exon 10 434 bp IC 147 bp	D psi D-Exon 5 434 bp IC 303 bp 152 bp	Cw 434 bp IC 290 bp 196 bp	c 434 bp IC 157 bp	E 434 bp IC 165 bp	e 434 bp IC 165 bp
9	10	11	12	13	14	15	16
KEL1 (K) 434 bp IC 141 bp	KEL2 (k) 434 bp IC 141 bp	JK1 (A) 434 bp IC 131 bp	JK2 (B) 434 bp IC 131 bp	FY1 (A) 434 bp IC 720 bp	FY2 (B) 434 bp IC 720 bp	Fy null 434 bp IC 720 bp	FYX 434 bp IC 167 bp
17	18	19	20	21	22	23	24
MNS1 (M) 434 bp IC 270 bp	MNS2 (N) 434 bp IC 270 bp	MNS3 (S) 434 bp IC 105 bp	MNS4 (s) 434 bp IC 104 bp	DO1 (A) 434 bp IC 181 bp	DO2 (B) 434 bp IC 170 bp	Vol- 430 bp IC 293 bp	Vol- 800 bp IC 214 bp

图 3 所有待测标本 (61-64 号) vERYfy 基因分型

3 讨论

本次室间质评项目实则是监测实验室用分子生物学方法进行血型抗原基因分型的能力, 监测实验室建立的实验体系性能是否稳定, 是否能够准确的对红细胞表面几种主要的血型抗原系统给予准确的基因分型。在临床输血中, ABO 系

统血型鉴定直接决定了输血的成功与否。对于疾病原因导致抗原或抗体减弱或 ABO 亚型导致正反定型不符的个体, 基因分型是最好的辅助方法<sup>[7-9]</sup>。RhD 阴性女性群体在怀孕时可能会受到会否产生 Rh 系统不规则抗体的困扰, 对于 Del 型孕产妇, 分子生物学方法进行 D 抗原检测具有准确性高、不受试剂限制的优点<sup>[5]</sup>。再者, 用分子生物学方法进行

血型抗原基因分型,可以避免某些稀有抗血清试剂不足的局限性。另外,在精准输血的大趋势下,基因分型具有方便、准确、快捷的优点,对于大批量血型抗原的鉴定是最好的选择<sup>[10]</sup>。

此室间质评项目是由德国 INSTAND 组织发起,称为 EQA no. 235 Immunohematology A。INSTAND 是 1 个非营利性组织,专为医学检验实验室提供水平测试。此免疫血液学的检测项目始于 2006 年秋,1 年 2 次发放测试标本,每次发放 4 个标本。至今已有 72 个研究机构参与此项目,主要集中在德国、瑞士、奥地利等欧洲国家和美国,非欧国家的分布较分散<sup>[11]</sup>。随着分子检测方法的不断改进,临床上分子免疫血液学方法的应用越来越广泛<sup>[12]</sup>。参与 EQA 可以促进分子检测方法的应用,提高服务病患的质量。日本和澳大利亚的相关机构经常参与由澳大利亚皇家病理学院(Royal College of Pathologists of Australasia, RCPA)组织的 EQA 项目,RCPA 发起的输血质量保障项目中包含了特异性疾病的检测模块,但没有建立血型抗原的分子检测模块。而由澳大利亚国家血清学参比实验室(NRL)提供的分子检测项目也并没有涵盖分子免疫血液学。因此对于红细胞血型抗原基因分型检测水平的官方认证还需要依靠参加国际质评项目<sup>[11]</sup>。

因此参加国际室间质评项目可以帮助我们增强实验室分子检测的能力,促进实验室技术人员的质量控制意识,也可以帮助监测实验室的反应体系是否科学稳定,便于及时发现存在的问题。因此我们推荐国内同类实验室积极参加此国际室间质评项目,帮助发现问题,解决问题,提高自身,保障临床输血的安全性和有效性。

### 参 考 文 献

[1] Chihara Y, Sugano K, Kobayashi A, et al. Loss of blood group A antigen expression in bladder cancer caused by allelic loss and/or methylation of the ABO gene. *Lab Invest*, 2005, 85(7):895-907.

- [2] Van Loghem JJ Jr, Dorfmeier H, Van Der Hart M. Two A antigens with abnormal serologic properties. *Vox Sang*, 1957, 2(1):16-24.
- [3] Orlow I, Lacombe L, Pellicer I, et al. Genotypic and phenotypic characterization of the histoblood group ABO(H) in primary bladder tumors. *Int J Cancer*, 1998, 75(6):819-824.
- [4] 张文静. ABO 组织血型抗原与肿瘤疾病相关性的研究进展. *国际输血及血液学杂志*, 2014, 37(1):69-73.
- [5] 姬艳丽, 赵阳, 王贞, 等. 高通量 MLPA 基因分型技术在 1 个 D<sup>d</sup> 表型家系基因鉴定中的应用. *中国输血杂志*, 2012, 25(6):542-546.
- [6] Blumenfeld OO, Patnaik SK. Allelic genes of blood group antigens: a source of human mutations and cSNPs documented in the blood group antigen gene mutation database. *Human Mutation*, 2004, 23(1):8-16.
- [7] 李翠莹, 田力, 肖洁, 等. B(A) 血型的血清学及分子遗传学研究——附 2 例报告. *中国输血杂志*, 2014, 27(12):1315-1317.
- [8] 陈青, 李平, 陆乐, 等. 分子生物学鉴定急性白血病患者 ABO 血型抗原. *临床血液学杂志*, 2015, 28(2):91-93.
- [9] 于晶晶, 赵国华, 赵维齐, 等. 罕见 B<sub>w</sub> 血型鉴定与输血策略探讨. *中国输血杂志*, 2015, 28(11):1379-1381.
- [10] McBean RS, Hyland CA, Flower RL. Approaches to determination of a full profile of blood group genotypes: single nucleotide variant mapping and massively parallel sequencing. *Comput Struct Biotechnol J*, 2014, 11(19):147-151.
- [11] Flegel WA, Chiosea L, Sachs U, et al. External quality assessment (EQA) in molecular immunohematology: the INSTAND proficiency test program. *Transfusion*, 2013, 53(1102):.doi:10.1111/trf.12424.
- [12] Flegel WA. Blood group genotyping in Germany. *Transfusion*, 2007, 47(suppl 1):47S-53S[PubMed:17593286].

(2016-07-20 收稿, 2017-06-15 修回)

本文编辑:夏玲

## 2017 年本刊专题报道

临床用血全面质量管理体系与智能信息化(上)

临床用血全面质量管理体系与智能信息化(下)

HTLV 与血液筛查策略

血站能力建设(上)

血站能力建设(下)

输血传染病

4℃ 冷藏保存血小板体外实验研究

高原输血与高原耐缺氧机制研究

Rh 血型系统基础与临床

细胞研究及治疗

准确报告抗筛结果 提高安全有效输血水平

单采治疗临床应用

临床输血评价

海军远海岛礁血液保障

单采深度自体储血

烧伤输血

# 心脏手术输血方式的探讨\*

赵晓明 吴文娟 杨冀<sup>△</sup>(同济大学附属东方医院 南院检验科,上海 200120)

**摘要:目的** 分析探讨本院择期心脏手术患者输血方式及异体血输注量差异,为今后的临床工作提供一定的参考信息。**方法** 搜集本院 2016 年 1 月 1 日-12 月 31 日共计 115 例获得明确临床诊断的心脏手术患者的临床输血资料,分析其性别、年龄、血型、病种的分布情况,并对其输血方式和各种异体成分血的输注情况进行回顾性的统计分析。**结果** 115 例术中输血的心脏手术患者中,81 例患者应用自体输血,方式均为术中回收式,其中 76 例亦有异体血输注,5 例仅输注自体血;34 例术中仅输注异体血。术中应用自体输血的患者年龄明显高于无自体输血者,有自体输血者以冠状动脉硬化性心脏病(冠心病)和风湿性心脏瓣膜病(风心病)居多,其手术风险大,多是 2 种输血方式并用,其中,冠心病手术患者男性明显多于女性;术中无自体输血的患者多是先天性心脏病(先心病)的儿童,其术中异体血的输注量明显低于老年心脏手术患者。各个血型间平均用量无显著差异,不同病种间各成分血平均用量可见显著差异。**结论** 心脏手术多数需要施行体外循环,操作时间长,出血量多,因此用量很大,应根据病种做好术前备血工作,并积极开展自体输血等血液保护措施。

**关键词:** 自体输血;心脏手术;用量;血型;年龄;性别

**中图分类号:**R457.1 R654 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0910-04

**Analysis of the formula of blood transfusion during cardiac surgery in our hospital** ZHAO Xiaoming, WU Wenjuan, YANG Ji. *The Department of Medical Laboratory Medicine, the Eastern Hospital affiliated to Tongji University, Shanghai 200120, China. Corresponding author: YANG Ji*

**Abstract: Objective** To analyze the formula of blood transfusion and the difference in donor blood transfusion volume in patients undergoing elective cardiac surgery, so as to provide some reference information for clinical work in the future. **Methods** Clinical blood transfusion data on a total of 115 cases of clear clinical diagnosis in patients undergoing cardiac surgery in our hospital from January 1, 2016 to December 31, 2016 were collected. The distribution of gender, age, blood type, disease type was analyzed. The formula of blood transfusion and the transfusion volume of allogeneic blood components were studied in a retrospective statistical analysis. **Results** Of 115 cases of patients undergoing cardiac surgery with intraoperative blood transfusion, 81 cases were intraoperative salvaged autotransfusion, including 76 cases with allogeneic blood transfusion, 5 cases with sole infusion of autologous blood; 34 cases with only allogeneic blood transfusion. The age of patients with intraoperative autotransfusion was significantly higher than that of non autologous blood transfusion. The majority of autotransfusion patients had coronary heart disease (CHD) and rheumatic heart disease (RHD), whose operation risk is high and two kinds of blood transfusion methods were used. Among these patients, the number of male patients with coronary heart disease was significantly higher than female patients. The patients without autotransfusion were mostly children with congenital heart disease. The amount of allogeneic blood transfusion were significantly lower than that of the elderly patients with cardiac surgery. The average volume of allogeneic blood transfusion had no significant difference among each blood group. There was significant difference in the average volume of allogeneic blood transfusion among different diseases. **Conclusion** Majority of cardiac surgeries need extracorporeal circulation due to longer operation time and higher bleeding amount, hence the usage of blood is proportionally higher. We should do better in the preparation of preoperative blood, and actively carry out blood conservation measures, such as autologous blood transfusion.

**Key words:** autologous transfusion; cardiac surgery; transfusion volume; blood type; age; gender

输血是临床治疗中不可或缺的重要手段之一,临床输血包括自体输血和异体输血 2 大类,我们通常所讲的临床输血是指异体输血。随着社会和医学领域对异体输血存在潜在的疾病传播的巨大风险的认识不断深入,以及血液资源严重

短缺的局面又难以解决,自体输血的作用和意义凸显重要。自体输血已广泛应用于胸腹腔出血、心脏外科、脊柱外科等手术中<sup>[1-2]</sup>。一些心脏等大手术,因手术复杂多变,常需要输注大量的血液,在异体血液资源紧缺的情况下,应用自体输血是安全有效的。为了解本院心脏手术临床输血的现状,我们对本院自 2016 年 1 月 1 日-12 月 31 日共计 115 例术中输血的心脏手术患者的年龄、性别、病种、血型分布情况及输血方式和用血情况进行统计分析,现报告如下。

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 08. 017

\* 基金项目:上海市东方医院重点学科建设项目(YZX-2015-10-2);  
<sup>△</sup>通信作者:杨冀(1970. 04-),女,副主任技师,主要从事临床输血医学研究,电话:021-20334501, Email: yangji1574@163. com

1 资料与方法

**1.1 临床资料** 本院自 2016 年 1 月 1 日-12 月 31 日有 127 例获得明确临床诊断的心脏手术患者,剔除 12 例术中未输血的患者,共计 115 例患者纳入研究组。按心脏病的疾病类型分为 4 个大病种,分别为冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)、风湿性心脏瓣膜病(风心病)、先天性心脏病(先心病)和心脏肿瘤。术中应用自体输血的患者共计 81 例,方式均为术中回收式,其中冠心病 39 例,风心病 35 例,先心病 3 例,心脏肿瘤 4 例。81 例患者中 76 例亦有异体血输注,5 例仅输注自体血。术中未应用自体输血仅输注异体血的患者共计 34 例,其年纪较轻,全部为先心病患者。

**1.2 方法** 对 2016 年 1 月 1 日-12 月 31 日本院心脏手术患者的年龄、性别、病种、血型分布情况进行分析研究,对不同血型、不同病种患者的各异体成分血悬浮红细胞、冰冻血浆和冷沉淀凝血因子的平均输注量进行回顾性的统计分析。

**1.3 统计学分析** 采用 ONE-WAY ANOVA 和 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 不同类型心脏手术患者的年龄比较** 115 例术中输血的心脏手术患者中,81 例患者应用术中回收式自体输血;34 例没有应用自体输血方式,术中仅输注异体血。在患者年龄层次上,有自体输血的患者(平均年龄 62 岁,  $n = 81$ ) 年龄与无自体输血患者(平均年龄 8 岁,  $n = 34$ ) 之间有显著差异( $t = 25.33, df = 113, P < 0.01$ , 图 1A)。应用自体输血者多为老年患者,以冠心病和风心病居多,先心病和心脏肿瘤仅有 7 例,其术式复杂手术风险大,多是 2 种输血方式并用,除外自体输血,也会输注异体血。而先心病手术患者多数为房间隔缺损和室间隔缺损的儿童,其年龄分布与其它 3 个病种间有显著差异( $F = 169.1, R \text{ squared} = 0.8205, P < 0.01$ ),其术式简单,术中出血量少,不适宜应用自体输血(图 1B, 表 1)。

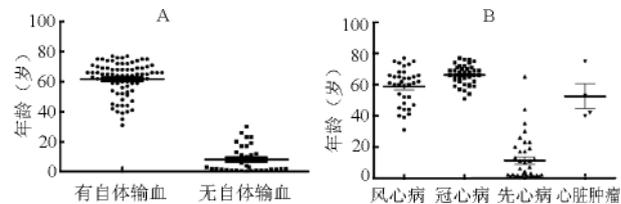


图 1 不同类型心脏手术患者的年龄比较  
A 有自体输血与无自体输血患者年龄比较; B 各病种心脏病手术患者年龄比较

图 1 不同类型心脏手术患者的年龄比较

表 1 各类型心脏手术患者的年龄分布及异体血的输注情况

	n	年龄(岁)			平均用量(U)		
		中位数	平均数	95% 可信区间	悬浮红细胞	冰冻血浆	冷沉淀凝血因子
风心病	35	61	59	55-63	3.54	5.14	2.29
冠心病	39	66	66	64-68	3.23	4.69	2.00
先心病	37	4	11	7-16	1.78	2.51	0.38
心脏肿瘤	4	48	53	27-78	4.75	8.00	4.75

表 2 各类型心脏手术患者的性别及血型分布情况 (n = 115)

	A		B		O		AB	
	男	女	男	女	男	女	男	女
风心病	5	5	6	10	6	2	0	1
冠心病	10	2	9	1	5	3	4	5
先心病	9	6	5	6	3	3	2	3
心脏肿瘤	0	0	0	1	3	0	0	0
合计	24	13	20	18	17	8	6	9

**2.2 各异体成分血的输注情况分析** 对 115 例术中输血的心脏手术患者按心脏疾病病种的不同,分析各成分血平均用血量,统计结果发现先心病和心脏肿瘤间平均用血量有显著差异( $F = 31.28, R \text{ squared} = 0.9399, P < 0.05$ ),其他组间未见显著差异。按不同血型分析各成分血平均用血量,统计结果发现各个血型患者间不同成分血的平均用血量无显著差异(图 2A, 图 3)。由于血型的人群分布中 AB 型者数量较少,大约只有其它 3 个血型的 1/3,而心脏手术患者尤其是冠心病 AB 型者较多,且男性明显多于女性(表 2)。

先心病与其他心脏疾病间悬浮红细胞的平均用血量均有显著差异( $q = 5.958, 7.887, 6.666; F = 14.62, R \text{ squared} = 0.2833, P < 0.05$ ),风心病、冠心病、心脏肿瘤之间悬浮红细胞平均用血量没有显著差异。风心病平均用血量为 3.54 单位( $n = 35, 95\%$ 可信区间: 3.15-3.94)。冠心病平均用血量为 3.23 U( $n = 39, 95\%$ 可信区间: 2.69-3.78),先心病平均用血量为 1.78 U( $n = 37, 95\%$ 可信区间: 1.43-2.14),心脏肿瘤平均用血量为 4.75 U( $n = 4, 95\%$ 可信区间: 2.36-7.14)(表 1, 图 2B)。

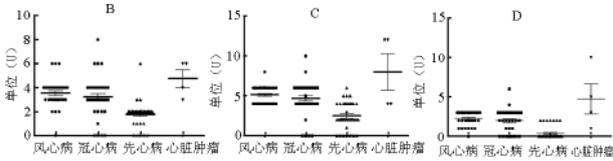
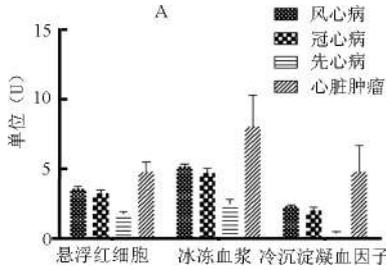
除风心病与冠心病患者间冰冻血浆平均用量无明显差异外,其它各组患者间冰冻血浆平均用量均有显著差异( $F = 19.81, R \text{ squared} = 0.3487, P < 0.05$ )。风心病平均用血量 5.14 U( $n = 35, 95\%$ 可信区间: 4.76-5.53),冠心病平均用血量 4.69 U( $n = 39, 95\%$ 可信区间: 4.01-5.38),先心病平均用血量 2.51 U( $n = 37, 95\%$ 可信区间: 1.95-3.08),心脏肿瘤平均用血量 8.00 U( $n = 4, 95\%$ 可信区间: 0.65-15.35)(表 1, 图 2C)。

除风心病与冠心病患者间冷沉淀凝血因子平均用量无明显差异外,其它各组患者间冷沉淀凝血因子平均用量均有显著差异( $F = 25.12, R \text{ squared} = 0.4044, P < 0.05$ )。风心病平均用血量 2.29 U( $n = 35, 95\%$ 可信区间: 1.99-2.58),冠心病平均用血量 2.00 U( $n = 39, 95\%$ 可信区间: 1.53-2.47),先心病平均用血量 0.38 U( $n = 37, 95\%$ 可信区间: 0.11-0.64),心脏肿瘤平均用血量 4.75 U( $n = 4, 95\%$ 可信区间: 1.40-10.90)(表 1, 图 2D)。

**2.3 有自体输血和无自体输血的患者输注异体血情况分析**

术中未应用自体输血的患者多是先天性心脏病(先心病)的儿童,其术中异体血的输注量明显低于老年心脏手术患者(图 1A, 图 4)。有自体输血与无自体输血患者间悬浮红细胞的平均用血量有显著差异( $t = 5.427, P < 0.05$ ),有自体输血患者的悬浮红细胞平均用血量为 3.37 U( $n = 81, 95\%$ 可信区间: 3.04-3.71),无自体输血患者的悬浮红细胞平均用血量为 1.82 U( $n = 34, 95\%$ 可信区间: 1.45-2.19)。有自体输血与无自体输血间冰冻血浆的平均用血量有显著差异( $t =$

5.679,  $P < 0.05$ ), 有自体输血患者的冰冻血浆平均用量为 4.66 U ( $n = 104$ , 95% 可信区间: 4.27-5.05), 无自体输血患者的冰冻血浆平均用量为 2.50 U ( $n = 34$ , 95% 可信区间: 1.92-3.08)。有自体输血与无自体输血间冷沉淀凝血因子的平均用量亦有显著差异 ( $t = 6.711$ ,  $P < 0.05$ ), 有自体输血患者的冷沉淀凝血因子平均用量为 2.21 U ( $n = 81$ , 95% 可信区间: 1.87-2.55), 无自体输血患者的冷沉淀凝血因子平均用量为 0.35 U ( $n = 34$ , 95% 可信区间: 0.08-0.62)。



A 不同病种各成分血平均用量; B 不同病种间悬浮红细胞平均用量; C 不同病种间冰冻血浆平均用量; D 不同病种间冷沉淀凝血因子平均用量; 冰冻血浆 100 mL 记为 1 U

图 2 各异体成分血的输注情况分析

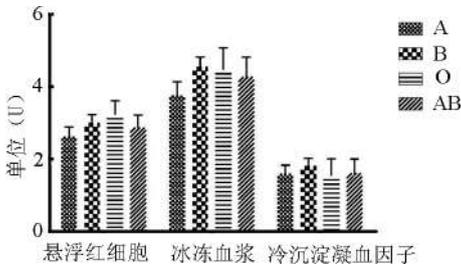
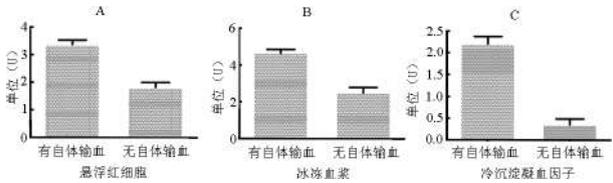


图 3 不同血型各成分血平均用量



A 有自体输血与无自体输血患者间悬浮红细胞的平均用量; B 有自体输血与无自体输血间冰冻血浆的平均用量; C 有自体输血与无自体输血间冷沉淀凝血因子的平均用量

图 4 有自体输血和无自体输血的患者输注异体血情况分析

### 3 讨论

我国在 1998 年 10 月 1 日实施的《中华人民共和国献血法》第 15 条规定: 国家倡导并指导择期手术的患者自体储血、自体输血。早在 20 世纪 70 年代自体输血就被应用于整形外科、心血管外科及神经外科等, 当时艾滋病和乙肝等病毒的筛查技术低下, 它成了预防艾滋病传播的途径之一, 随后有诸多相关文献相继报道, 时至今日该技术已经在很多学科得到了普遍应用<sup>[1-4]</sup>。自体输血主要应用于多次输血已产

生抗体的患者以及稀有血型患者的血液供应。随着新的输血传播疾病的发现和血站新的病毒检测方法的开展, 有很多的献血者会被筛选掉, 这将导致血源的日益紧张, 公众对安全输血的呼声也与日俱增。但输血安全不是一个绝对的概念, 目前尚没有一种血液保护技术适用于所有的患者, 也并非都是经济的。

对于择期心脏手术的患者来说, 储存式自体输血费时又费力, 且预存的血液有一定的保存期, 择期心脏手术患者献血的风险也会高于常人, 高血压和心脏病患者对自体献血时血容量的减少较为敏感, 会增加发生心绞痛和心肌梗死的风险。很多患者不愿意采用这种高风险的输血方法。传统的储存式自体输血采血方法繁琐, 间隔时间长, 血液中的血小板及凝血因子在储存过程中已消耗殆尽。戴萍等对传统的贮存式自体输血的血液采集方法进行改良, 缩短了采血间隔时间及血液保存时间, 并将此种输血方式应用于心脏瓣膜置换术的患者, 发现改良储存式自体输血, 较异体输血法对红细胞破坏少, 血液输注量少, 患者术后各项指标恢复快, 感染率低, 经济实用, 可广泛应用于心脏外科瓣膜病等择期手术<sup>[5]</sup>。稀释式自体输血是通过血液稀释造成暂时性贫血, 减少术中红细胞的丢失, Huseyin 等<sup>[4]</sup>对心脏手术患者的研究发现, 应用急性等容稀释式自体输血组相比仅异体输血组的患者来说, 其术后恢复较好, 急性等容稀释式自体输血是一种简单、有效、经济的输血方式。李洪利等<sup>[6]</sup>研究发现, 在心脏直视手术中采用术中稀释式自体输血是一种安全、简便的节血措施, 在不增加术后并发症、住院时间及不影响远期预后的前提下可以明显减少异体血的用量。

术中回收式自体输血是指利用血液回收装置, 将患者手术失血进行回收、抗凝、滤过和洗涤等处理, 然后回输给患者本人, 该技术很大程度的减少了异体血输注量, 并且安全性颇高。这种输血方式一般应用于术中出血量较多的患者, 如脾破裂等胸腹腔内出血、大血管手术、体外循环下心内直视手术、肝叶切除术等。2016 年本院自体输血人数共计 104 例, 全部是应用术中回收式自体输血, 我们使用北京京精医疗设备有限公司的 3000P 型血液回收机回收术中失血, 其中心脏手术患者有 81 例, 其余 23 例多为脾破裂、门脉高压、脊柱侧凸的手术患者。在当前全国面临血源紧张的形势下, 该项技术的开展为手术顺利实施提供了良好条件。利用血液回收仪进行回收式自体输血, 作为自体输血技术的一种, 具有操作方便、使用安全、快速供血的特点, 较储存式自体输血和等容稀释式自体输血更为方便、快捷, 且基本上不受患者自身条件的约束<sup>[7]</sup>。许靖等的研究发现, 回收式自体输血在神经外科、脊柱手术、胸腹部闭合性损伤、异位妊娠等手术中有较高的使用频率<sup>[7]</sup>。于泓等<sup>[8]</sup>对骨科手术患者的研究发现, 对骨科手术中出血量较大的患者施以回收式自体输血, 可维持其血液流变学的稳定, 并可以维持其正常的免疫功能, 配合预见性护理可减少术后并发症的发生。有文献报道, 血液回收机能够有效地回收失血, 可作为有效防止输血疾病传染和缓解血源紧张的有效措施, 为一些患者提供安全、可靠的血源<sup>[9]</sup>。在心脏直视手术中采用术前预存和术中回收的自体输血方式可明显减少输注异体血量和术后不良

反应的发生率,但自体输血在临床应用上并不可能完全取代异体输血,具体应用时应根据实际的临床情况来决定<sup>[10]</sup>。梅京松等<sup>[11]</sup>对心脏外科手术全程使用自体血液回输技术,发现该技术可减少库存血输入量,自体血液回输后可以降低部分炎性因子水平,减轻患者体外循环术后的全身炎症反应。

本研究通过统计本院 2016 年度自体输血患者资料,发现自体输血的患者以心脏手术患者居多,患者年龄偏高,多数为冠心病和风湿病的患者,术中除应用回收式自体输血外,还输注异体血液,而低龄化的先心病患儿术中出血量少,仅输注少量的异体血,有的甚至不输血。本文对输血的心脏患者的病种、血型、年龄、性别分布做了分析,并且统计分析了异体成分血的用量。徐黎青等<sup>[12]</sup>对 70 例心脏手术临床用血的研究表明,心脏瓣膜置换术用量最多,房间隔缺损、室间隔缺损等先心病的用量相对较少。我们的研究结果表明,不同病种间心脏手术患者术中输注异体血液量是有差异的,先心病与其它 3 个病种相比较,平均用量要低很多,与文献报道相符。赵晖等<sup>[13]</sup>的研究发现,对于体重和血红蛋白浓度合适的心脏手术患儿实施无血体外循环是安全的,对患儿围术期无不良影响,且可以节约用血,可以避免库血对患儿的不良影响,更有利于患儿的康复。我们的研究发现,年龄较低的先心病患儿术中用量较少,并且没有实施自体输血。本院使用 1 次血液回收,费用为 1 500 元,一般回收失血 600-2 500 mL 不等,其在出血量较多的手术中拥有更大优势,术中失血量越大,收益越大。术式简单的先心病患儿由于术中出血量较少,若应用回收式自体输血,回收所需耗材费用价值 1 000 元以上,而输入异体血只需要支付输血费用,所以失血量少的手术患者一般不应用术中回收式自体输血。

总之,在对患者施行心脏手术时,应根据其病种做好术前备血工作,并依据患者的自身状况和血液库存情况积极开展自体输血等血液保护措施。

### 参 考 文 献

[1] Ma HS, Ma JH, Xue FL, et al. Clinical analysis of thoracoscopic

surgery combined with intraoperative autologous blood transfusion in the treatment of traumatic hemothorax. Chin J Traumatol, 2016, 19 (6):371-372.

- [2] Pérez-Ferrer A, Gredilla-Díaz E, de Vicente-Sánchez J, et al. Implementation of a patient blood management program in pediatric scoliosis surgery. Rev Esp Anestesiol Reanim, 2016, 63(2):69-77.
- [3] Loughenbury PR, Berry L, Brooke BT, et al. Benefits of the use of blood conservation in scoliosis surgery. World J Orthop, 2016, 7 (12):808-813.
- [4] Huseyin S, Yuksel V, Guclu O, et al. Comparison of early period results of blood use in open heart surgery. J Res Med Sci, 2016, 21 (28), doi:10.4103/1735-1995.181988.
- [5] 戴萍, 车辑, 张卫梅, 等. 心脏瓣膜置换术患者应用改良贮存式自体输血和异体输血的效果比较. 临床输血与检验, 2014, 16 (2):142-145.
- [6] 李洪利, 徐东, 尚学斌, 等. 自体输血技术在心脏外科手术中的应用. 中国临床医生, 2014, 42 (6):58-60.
- [7] 许靖, 高利臣, 陆吴昌. 回收式自体输血在各类手术中的应用情况分析. 湖南师范大学学报(医学版), 2015, 12(6):97-100.
- [8] 于泓, 何三军, 王盛海. 回收式自体输血对骨科患者血液流变学和免疫功能的影响. 检验医学与临床, 2014, 11(2):160-162.
- [9] 张贤鹏, 鲍海娥, 杨蓉. 自体输血与同种异体输血的临床效果研究. 国际检验医学杂志, 2015, 36(9):1303-1035.
- [10] 刘丽娟. 自体输血在心脏直视手术中的效果及节约用血分析. 临床输血与检验, 2014, 16(4):396-398.
- [11] 梅京松, 李圣平. 自体血液回输技术在心脏外科手术术中及术后的应用. 中国医学前沿杂志(电子版), 2016, 8(4):61-65.
- [12] 徐黎青. 心脏手术临床用血 70 例探析. 中国卫生标准管理, 2015, 6(29):194-195.
- [13] 赵晖, 杨雷一, 郎志斌, 等. 婴幼儿无血体外循环实施策略的研究. 中国体外循环杂志, 2014, 12(4):206-209.

(2017-02-22 收稿, 06-24 修回)

本文编辑: 闻欣

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 ·

# 某院外科手术备血与术中用血分析

江艇 陈守梅(重庆市急救医疗中心 输血科,重庆 400014)

**摘要:目的** 根据外科手术患者不同部位与疾病,制定外科手术备血策略。**方法** 收集重庆市急救医疗中心 2014 年 1 月-2015 年 12 月外科手术患者术前备血和术中用血数据,用 SPSS 19.0 对其进行分析,比较不同疾病的手术用血率。**结果** 手术总用血率约为 42.3%,不同手术部位与疾病患者手术用血率从高到低依次为失血性休克 77.3%,颅脑损伤 63.2%,心脏疾病 56.5%,多发伤 55.3%,肝胆损伤 46.5%,骨折 40.8%,胃肠道疾病 39.1%,腹部损伤 39.0%,车祸伤 38.9%,锐器、钝器伤 38.4%,颅内出血 36.5%,动脉瘤 30.4%,胸部损伤 19.7%,食管癌、肺癌 10.6%。**结论** 外科手术患者备血,应根据手术部位与疾病、实际用量和实际用血人数建立外科手术患者手术备血策略:用血百分比<30%的手术,不用备血;≥30%进行交叉配血,实际备血量根据患者具体情况而定,保证临床输血安全、合理、有效。

**关键词:** 外科手术;输血;备血策略

**中图分类号:** R457.1 R615 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0914-03

**Analysis of surgery blood ordering and intra-operative blood preparation in a hospital** JIANG Ting, CHEN Shoumei. Department of Blood Transfusion, Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China

**Abstract: Objective** To investigate the situation of intra-operative blood transfusion, in order to provide a strategy for blood transfusion. **Methods** All data were collected from Jan 2014 to Dec 2015 and analyzed by SPSS19.0. **Results** The intra-operative transfusion rate of patients was 42.3%. It was demonstrated that the causes of transfusion were due to hemorrhagic shock (77.3%), brain injury (63.2%), heart disease (56.5%), multiple trauma (55.3%), hepatobiliary injury (46.5%), fracture (40.8%), gastrointestinal disease (39.1%), abdominal injury (39.0%), traffic accident injuries (38.9%), penetrating and blunt trauma (38.4%), intracranial hemorrhage (36.5%), aneurysm (30.4%), thoracic injury (19.7%), lung carcinoma and esophageal carcinoma (10.6%). **Conclusion** The surgical blood ordering schedule was proposed according to the sites of surgical patients, the actual usage of blood and the amounts of patients. There is no need to order blood when the rate is less than 30%. However, cross-match is needed when the rate is more than 30%, and the actual usage is determined by the conditions of surgical patients. To acquire safe, reasonable and effective blood transfusion, it is important to propose a scientific surgical blood ordering schedule.

**Key words:** surgery; blood transfusion; blood ordering strategy

在现代医学中,输血作为临床抢救和治疗的重要手段发挥着越来越重要甚至不可取代的地位,对于外科手术尤为重要,因此,手术患者术前备血已成为血液安全工作中不可缺少的一部分。本院担负全市公共卫生急救医疗任务,外科手术较多,为更好地对临床手术顺利进行提供保障,充分发挥输血科的职能,提升合理用血水平,现根据本院 2014 年 1 月-2015 年 12 月外科手术患者进行备血与用血分析如下。

## 1 资料与方法

**1.1 资料来源** 收集本院 2014 年 1 月-2015 年 12 月外科手术患者术前备血与用血资料,用血患者年龄 14-102 岁,患者的手术部位和疾病均以主要诊断为依据,未对损伤程度和手术方式做进一步统计分析,所收集资料不包括泌尿外科、整形外科、耳鼻喉科病例。入选患者术前凝血功能检测凝血酶原时间(PT)<18 s、活化部分凝血酶时间(APTT)<50 s,血红蛋白(Hb)>80 g/L,除食管癌、肺癌和心脏疾病患者外

其余患者无心肺疾病。

**1.2 方法** 采用 SPSS 19.0,单样本 *t* 检验对数据进行统计分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

术前申请红细胞悬液 5 461 U,术中使用红细胞悬液 2 628 U,申请备血人数 2 223 人,术中用血人数 813 人,手术用血率约为 42.3%。根据世界卫生组织(World Health Organization,WHO)<sup>[1]</sup>和田兆嵩教授的建议<sup>[2]</sup>,结合本院手术用血情况建立外科手术患者手术备血策略(surgical blood ordering schedule,SBOS):用血百分比<30%的手术,不必常规备血,但需做 ABO/Rh 血型鉴定和抗体筛查(G 和 S);≥30%进行交叉配血(X-M)<sup>[3]</sup>,一般备血量为 2 U 红细胞悬液,实际备血量根据患者损伤程度和手术方式具体情况而定。手术备血量与用量、手术备血人数与用血人数、手术平均输血量及备血操作具体情况见表 1-3。

**表 1** 2014 年 1 月-2015 年 12 月手术备血量与用量及操作

手术部位、疾病	申请量(U)	输注量(U)	用血百分比(%)	操作
骨折 <sup>①</sup>	1898	845	44.5	X-M
颅脑损伤 <sup>②</sup>	517	404	78.1	X-M
颅内出血 <sup>③</sup>	739	315	42.6	X-M
胸部损伤 <sup>④</sup>	284	64	22.5	G 和 S
腹部外伤	137	68	49.6	
肝胆损伤 <sup>⑤</sup>	176	89	50.6	X-M
锐器、钝器伤	169	78	46.2	
多发伤 <sup>⑥</sup>	547	336	61.4	X-M
车祸伤 <sup>⑦</sup>	148	62	41.9	X-M
失血性休克 <sup>⑧</sup>	148	62	92.7	X-M
食管癌、肺癌 <sup>⑨</sup>	99	10	10.1	G 和 S
胃肠道疾病 <sup>⑩</sup>	425	178	41.9	X-M
动脉瘤	164	56	34.1	
心脏疾病 <sup>⑪</sup>	48	21	43.8	X-M
合计	5 461	2 628	48.1	

注:车祸伤指由交通事故造成骨折、颅脑损伤、颅内出血、胸部损伤、腹部外伤、肝胆损伤等伤情中 2 个或 2 个以上的多发伤;与 30% 相比较,① $t=5.709$ ,② $t=6.649$ ,③ $t=2.914$ ,④ $t=-3.025$ ,⑤ $t=2.241$ ,⑥ $t=5.484$ ,⑦ $t=2.119$ ,⑧ $t=3.742$ ,⑨ $t=-5.074$ ,⑩ $t=2.411$ ,⑪ $t=2.308$ ,均为  $P<0.05$

**表 2** 2014 年 1 月-2015 年 12 月手术备血人数与用血人数及操作

手术部位、疾病	申请数(人)	输注数(人)	用血百分比(%)	操作
骨折 <sup>①</sup>	833	308	37.0	X-M
颅脑损伤 <sup>②</sup>	209	101	48.3	X-M
颅内出血	307	93	30.3	X-M
胸部损伤 <sup>③</sup>	118	20	16.9	G 和 S
腹部外伤	53	15	28.3	
肝胆损伤 <sup>④</sup>	66	28	42.4	X-M
锐器、钝器伤	62	19	30.6	
多发伤 <sup>⑤</sup>	195	96	49.2	X-M
车祸伤	53	19	35.8	X-M
失血性休克 <sup>⑥</sup>	34	21	61.8	X-M
食管癌、肺癌 <sup>⑦</sup>	45	5	11.1	G 和 S
胃肠道疾病 <sup>⑧</sup>	171	64	36.3	X-M
动脉瘤	64	17	26.6	
心脏疾病 <sup>⑨</sup>	13	9	69.2	X-M
合计	2 223	813	36.6	

注:车祸伤指由交通事故造成骨折、颅脑损伤、颅内出血、胸部损伤、腹部外伤、肝胆损伤等伤情中 2 个或 2 个以上的多发伤;与 30% 相比较,① $t=4.168$ ,② $t=5.289$ ,③ $t=-3.763$ ,④ $t=2.027$ ,⑤ $t=5.358$ ,⑥ $t=3.755$ ,⑦ $t=-3.987$ ,⑧ $t=2.001$ ,⑨ $t=2.944$ ,均为  $P<0.05$

**表 3** 2014 年 1 月-2015 年 12 月手术平均输注量

手术台数	输注人数	手术输注量(U)	台均输注量(U)	人均输注量(U)
2 223	813	2 628	1.18	3.23

### 3 讨论

输血曾经是促进外科发展的三大要素之一,失血性贫血是外科患者手术治疗时常见的并发症之一,输注红细胞能提高血液的携氧能力,迅速、有效纠正贫血。为了保障手术中血液及时输注,WHO 建议各医疗部门应根据当地具体情况建立手术备血策略,具体方案如下:回顾性地分析过去至少 6 个月的血液和血液制品申请情况;对每个择期手术的类型、申请血液的原因、申请配血量、实际输注量、用血百分比等加以分析;计算 C:T(交叉配血:输血)比率;对外科手术来说,

一个现实的目标是 C:T 比率大约为 3:1;将择期手术分为定型和筛选类(G 和 S)和交叉配血类(X-M);定型和筛选类择期手术的患者,术前只需进行血型定型和抗体筛选;交叉配血类择期手术的患者,术前则需要需要进行交叉配血;用血百分比<30%的手术应该归入定型和筛选类(G 和 S);通过验证实际执行情况,对血液申请方案进行监测和评估<sup>[1]</sup>。日本、澳大利亚、新西兰等发达国家遵循 WHO 建议已经建立了 SBOS,指导临床医生术前进行合理备血<sup>[3]</sup>。本院担负本地区急救任务,收治外伤患者较多,如何做到及时、安全、合理、有效地输血,如何保证手术治疗的成功和患者的安全,这就迫切地需要遵循 WHO 的方案建立适合本院的 SBOS。

本回顾性研究根据本院外科手术不同部位和疾病,术前备血和术中用血情况,制定本院外科手术的 SBOS。我们分析发现,针对食管癌及肺癌的择期手术,用血百分比明显低于 30%,这可能与胸腔镜技术的应用有关。随着外科手术技术的发展,21 世纪已进入微创外科时代,微创手术出血量比传统手术明显降低<sup>[4]</sup>,这也使得实际用血量大大减少,从而交叉配血及实际用血比(C:T)明显降低。针对这类外科手不必常规备血,但需做血型鉴定和抗体筛查。但腹部损伤和动脉瘤患者从用血人数百分比为 28.3%和 26.6%,而 C:T 比率则分别为 49.6%和 34.1%,出现不一致的原因可能是部分患者腹部外伤导致腹腔内脏器严重损伤出现大出血,动脉瘤患者可能出现破裂导致大出血,需要输注大量血液以纠正失血,同时具体出血部位及手术方式等均是影响因素。对 C:T 比率进行单样本  $t$  检验,我们发现除腹部外伤、动脉瘤和锐器钝器伤外,其他伤病种类均具有显著差异。对于这三类伤病是否需要备血,这就需要结合患者的具体伤情而定,这也有待于未来我们对伤病进行更加具体的细分研究,因此在表中未给出具体的备血操作。总体说来,本院的用血量仍然比较大,这可能跟本院的急救创伤患者较多有关。微创技术具有创伤小、出血少的特点,故临床上应当积极运用新技术、新设备,尽量减少围术期输血,或者改变输血时间(术后输血),根据术后患者情况及时配血后输注,使术中输血量有所减少,避免配血资源的浪费。例如针对骨折患者,应根据骨折的具体部位评估手术失血量再决定配血与否,如股骨骨折患者运用股骨骨折闭合复位髓内钉内固定术,可以大大减少出血量,尽量减少配血量甚至不配血,减少不必要的输血。

进一步研究分析得出,本院总输血率约为 42.3%,台均输注量 1.18 U,人均输注量 3.23 U,人均用血量较大。从用血量分析得出手术输血率约为 48.1%,用血人数所得出的输血率为 36.6%,两者有较大的差距,而人均输注量远大于台均输注量,这可能与本院承担全市公共卫生急救任务有关,部分急诊收治患者多有不同等级创伤,且入院时病情比较严重,主要救治措施之一就是输血,对于严重创伤合并大出血的患者,需要紧急启动大量输血方案(massive transfusion protocol, MTP)<sup>[5]</sup>,故这类患者往往会用血量远远大于备血量的情况,因此提高了手术输血率和人均输注量。由于手术医师的水平不同、手术方式不同,用血量的多少也存在一定的差异。另外,重庆市血液中心向本院供给的红细胞悬液以 2 U/袋的为主,综合考虑输注量和血液制品供给情况,我们

制定备血策略时,用血比大于 30%时,一般备血 2 U 红细胞悬液。当前,为改善目前输血状况,无输血医疗技术逐步运用于临床。无输血医疗技术涉及到早期临床决策、优化患者术前状况、去除潜在出血风险、提高患者贫血耐受力等方面,综合各种技术避免输血,并能提高患者手术预后<sup>[6]</sup>。因此,外科医师需要在术前对患者失血量和循环血容量情况作出科学、合理的评估,选择合适的手术方案<sup>[7]</sup>,严格执行《临床输血指南》,保证用血的科学性、合理性和安全性,避免血液资源浪费,降低用水量。

随着国民经济的快速提升和医疗水平的不断提高,使得病患数量越来越多,临床用水量不断攀升,但目前临床用血现状是供不应求、用血紧张,血液资源供需矛盾日益突出<sup>[8]</sup>,使择期手术被迫延期或取消,使治疗性用血难以得到及时输注;此外,天气炎热或者寒冷而几乎每年都会出现的季节性缺血等因素造成血库频频告急。随着微创外科时代的发展、先进止血技术的运用,以及无输血医疗技术理念的普及,外科手术输血量呈稳中下降趋势<sup>[9]</sup>,但仍需注意手术输血管理策略,减少不必要的输血,做到科学合理输注。因此,推广合理用血、安全用血、节约用血的输血观念,普及输血知识,制定合理的 SBOS,积极采取自体输血技术,提高医务工作者的技术水平,日益成为医务人员的共识。

总之,对外科手术患者制定合理的 SBOS,不仅能保证手术成功和患者安全,解决临床用血供不应求的问题,有效地将血液保护措施落到实处,还能为提升外科手术输血水平提

供循证输血医学依据。

## 参 考 文 献

- [1] Chisakuta A, Lackritz E, McClelland B, et al. The clinical use of blood. Geneva: WHO, 2002: 101-102.
- [2] 田兆嵩. 临床输血进展. 成都: 四川科学技术出版社, 2010: 323-324.
- [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] 曾巧. 不同手术方案在脊柱微创外科手术中的应用价值比较. 现代诊断与治疗, 2015, 26(17): 3940-3941.
- [5] 文爱清, 张连阳, 将东坡, 等. 严重创伤输血专家共识. 中华创伤杂志, 2013, 29(8): 706-710.
- [6] 潘家义, 李莎. 亟待打破医学藩篱——无输血医疗能否替代传统输血. 医学与哲学, 2016, 37(14): 5-7, 23.
- [7] 王宝燕, 张建耕. 择期手术备血的风险和工作要点. 临床血液学杂志(输血与检验版), 2007, 4(5): 195-197.
- [8] 许爱琴, 严严, 王蕾, 等. 2006-2008 年杭州市无偿献血临床用血情况浅析. 中国输血杂志, 2010, 23(8): 639-640.
- [9] 靳艳华, 崔健. 从外科学合理用血角度探讨治理“血荒”. 中国输血杂志, 2011, 24(6): 451-453.

(2016-11-09 收稿, 2017-06-02 修回)

本文编辑: 闻欣

## 《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/T 13745-2009《学科分类与代码》国家标准第 2 号修改单:一、在“320 临床医学”下增设二级学科 32032“输血医学”。二、在 32032“输血医学”下设立三级学科“基础输血学、献血服务学、输血技术学、临床输血学、输血管理学和输血医学其他学科”。中华医学会与中国医师协会输血分会积极响应国家对输血专业的逐步重视,中华医学会临床输血学分会主任委员、中国医师协会输血科医师分会首任会长刘景汉教授牵头,组织专家筹措与撰写专著《临床单病种输血》。

《临床单病种输血》已由人民卫生出版社 2017 年 1 月出版,全书共十章,涉及内科、外科、妇产科、组织与器官移植等五十个疾病(病种)输血,以及输血疗效评价、输血不良反应诊断与治疗、自体输血与治疗性血细胞单采与置换等方面,旨在让临床医护人员更好地实施科学、安全用血,减少不必要的输血。该书理论联系实际,内容新颖,为进一步规范医疗机构临床科学、安全用血起到抛砖引玉的作用,为临床医护人员、医学院校师生及其他领域的同道提供了单病种输血相应的治疗原则与操作方案。

主 编:刘景汉 李志强 王海林

购买网址:人卫智慧服务商城 <http://suo.im/205vkd>

人民卫生出版社旗舰店 <http://dwz.cn/dbzsxt>

定 价:55 元,人民卫生出版社(ISBN 978-7-117-23893-9),2017 年 1 月

## 悬浮红细胞储存时间对妇科患者输血不良反应的影响

杨博 李肖甫<sup>△</sup>(郑州大学第三附属医院 输血科,河南 郑州 450052)

**摘要:**目的 研究悬浮红细胞储存时间对妇科患者输血不良反应的影响。方法 选取本院妇科住院输注悬浮红细胞的患者,将患者输注红细胞储存时间均 $\leq 14$  d者纳入新鲜组,输注红细胞储存时间均 $> 14$  d者纳入陈旧组,分析2组患者输血后不良反应的发生率及输血后血液相关指标的差异。结果 陈旧组不良反应率(2.45%),新鲜组不良反应率(1.32%),差异有统计学意义;陈旧组非溶血性发热反应率(1.42%),新鲜组非溶血性发热反应率(0.66%),差异有统计学意义;陈旧组过敏性输血反应率(1.03%),新鲜组过敏性输血反应率(0.66%),差异无统计学意义。输血后2组的电解质、血凝分析指标差异无统计学意义,陈旧组总胆红素明显高于新鲜组,差异有统计学意义。结论 悬浮红细胞的储存时间对于妇科患者的输血不良反应发生有明显影响:输入储存时间长的悬浮红细胞( $> 14$  d)使得患者更容易发生FNHTR,输入储存时间长的悬浮红细胞( $> 14$  d)会增加患者溶血的风险并降低红细胞输注效果。

**关键词:**输血不良反应;非溶血性发热反应;过敏性输血反应;红细胞贮存损伤

**中图分类号:**R457.1 R331.1<sup>+</sup>41 R713 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0917-03

**The impact of the storage duration of suspended red blood cells on blood transfusion adverse reactions in gynecological patients** YANG Bo, LI Xiaofu. 1. Department of Transfusion, The Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China. Corresponding author: LI Xiaofu

**Abstract:** Objective To study the impact of the storage duration of suspended red blood cells on blood transfusion adverse reactions in gynecological patients. Methods Gynecologic patients who received RBC transfusion therapy were divided into two groups: the fresh-group (red blood cell storage time $\leq 14$  days) and the old-group (red blood cell storage time  $> 14$  days). The differences in the incidence of blood transfusion adverse reactions and blood index between the two groups were analyzed. Results The incidence of blood transfusion adverse reactions of the old-group was 2.45%, the incidence of the fresh-group was 1.32%. The difference was statistically significant. The incidence of Febrile Non-hemolytic Transfusion Reactions(FNHTR) of the old-group was 1.42%, the incidence of the fresh-group was 0.66%, the difference was statistically significant. The incidence of Anaphylactic Transfusion Reactions of the old-group was 1.03%, the incidence of the fresh-group was 0.66%, the difference was not statistically significant. The result of the electrolyte and coagulation analysis of the two groups were not statistically significant, but the total bilirubin of the two groups were statistically significant. Conclusion

The storage duration of suspended red blood cells has remarkable impact on the blood transfusion adverse reactions in gynecological patients; the patients of the old-group are associated with increased incidence of FNHTR compared with the fresh-group; the patients of the old-group are associated with increased level of hemolysis and decreased effect of RBC transfusion compared with the fresh-group.

**Key words:** blood transfusion adverse reactions; febrile non-hemolytic transfusion reaction; anaphylactic transfusion reactions; red blood cell storage lesion

悬浮红细胞作为临床用量最大的血液成分其输血不良反应的发生一直困扰着临床用血的安全,悬浮红细胞中的红细胞、白细胞、血浆等血液成分在体外低温储存过程中随着时间的延长会发生一系列改变,这些改变在输血过程中可能影响患者输血不良反应的发生<sup>[1]</sup>。有研究显示,输血患者输注贮存 $> 14$  d的血液后,不良后果的发生率高于贮存期短的血液<sup>[2]</sup>,但也有研究表达了不同的看法<sup>[3-5]</sup>。我们根据悬浮红细胞储存时间分组,对本院妇科输血患者输血后不良反应

的发生进行分析,以研究悬浮红细胞储存时间和患者输血后不良反应的发生之间的关系,为临床科学合理用血、提高输血质量提供依据。

### 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 本院妇科 2012-2015 年住院输注悬浮红细胞的患者。纳入标准:住院期间仅输注悬浮红细胞(非滤白)的患者,因纠正贫血而输注悬浮红细胞的患者(输血量在 6 U 以内,1 次输入,同时未输入血浆),输血前血凝分析、电解质指标正常患者。排除标准:输注红细胞储存时间既有 $\leq 14$  d 者又有 $> 14$  d 的患者,输血前发热的患者,输血前使用预防不良反应药物(如地塞米松等)的患者,有输血史且发生过输

血不良反应的患者排除在外。

1.2 分组 由于红细胞各项指标在储存 14 d 内和 14 d 外有明显不同,因此我们将患者输注红细胞储存时间均≤14 d 者纳入新鲜组(1 370 例),输注红细胞储存时间均>14 d 者纳入陈旧组(1 547 例) [6-8]。

1.3 观察指标 通过临床病历搜集患者临床资料(年龄、体重、输血史、妊娠史、是否发生恶性肿瘤、输血量、血型),患者实验室资料(输血前 2 d 内电解质、生化、血凝分析、血常规指标,输血后 24 h 内电解质、生化、血凝分析、血常规指标)。非溶血性发热性输血反应(FNHTR)、过敏性输血反应、高钾血症、溶血性输血反应等输血不良反应判断标准参见文献[9]。

1.4 统计学分析 采用 SPSS17.0 统计学软件进行分析。正态分布的计量资料用( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料比较采用卡方检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 新鲜组和陈旧组患者的一般临床资料 新鲜组和陈旧组 2 组患者的一般临床资料中大部分指标差异无统计学意义。血型构成上,新鲜组和陈旧组 A 型和 B 型患者相比差异有统计学意义,新鲜组 A 型血患者比例较陈旧组 A 型血患者比例为高,有统计学意义,新鲜组 B 型血患者比例较陈旧组 B 型血患者比例为低,有统计学意义(表 1)。

表 1 新鲜组和陈旧组患者的一般临床资料对比

	新鲜组 (n=1 370)	陈旧组 (n=1 547)
年龄(年)	41.5±13.73	44.4±11.08
体重(kg)	62.0±6.70	60.7±6.38
有输血史患者率(%)	6.64	7.37
妊娠次数≥3 患者率(%)	33.32	35.27
悬浮红细胞储存天数(d)	9.7±2.6	27.7±7.4
每人每次输血量(mL)	745±51	763±47
血型构成(%)		
A 型	36	19
B 型	16	31
O 型	42	43
AB 型	6	7
疾病构成(%)		
子宫肌瘤	52.34	51.97
宫颈癌	8.61	8.66
子宫内膜癌	15.99	16.22
卵巢癌	8.54	8.53
异位妊娠	6.57	6.79
其他(流产、功血等)	7.96	7.82

注:2 组对比,悬浮红细胞储存天数  $t=22.494, P<0.05$ ;血型构成 A 型  $\chi^2=106.34, P<0.05$ ;血型构成 B 型  $\chi^2=90.23, P<0.05$

2.2 新鲜组和陈旧组患者输血不良反应(发热/过敏)情况 见表 2。

表 2 新鲜组和陈旧组患者输血不良反应(发热/过敏)的对比 (n, %)

	新鲜组(n=1 370)	陈旧组(n=1 547)
非溶血性发热反应	9(0.66)	22(1.42)
过敏性输血反应	9(0.66)	16(1.03)
合计	18(1.32)	38(2.45)

注:2 组对比,非溶血性发热反应率  $\chi^2=4.046, P<0.05$

2.3 新鲜组和陈旧组患者输血前电解质、生化、血凝分析、

血常规指标情况 见表 3。

表 3 新鲜组和陈旧组输血前电解质、生化指标、血凝分析、血常规指标对比

		新鲜组 (n=1 370)	陈旧组 (n=1 547)
输血前电解质	pH 值	7.39±0.03	7.40±0.04
	K(mEq/L)	4.2±0.51	4.3±0.59
	TCa(mEq/L)	2.22±0.15	2.20±0.28
输血前生化指标	TBIL(μmol/L)	17.4±2.4	17.2±2.3
	DBIL(μmol/L)	13.9±1.9	13.5±2.0
输血前血凝分析	APTT(s)	33.1±5.1	33.9±4.2
	PT(s)	14.9±2.6	15.9±2.5
	TT(s)	16.1±4.1	16.9±4.0
输血前血常规指标	Hct(%)	20.8±3.1	20.1±3.3
	Hb(g/L)	65.4±7.4	64.7±7.8
	Plt( $\times 10^9/L$ )	224±31	229±32

注:2 组对比,均为  $P>0.05$

2.4 新鲜组和陈旧组患者输血后电解质、生化、血凝分析、血常规指标 见表 4。

表 4 新鲜组和陈旧组输血后电解质、生化指标、血凝分析、血常规指标对比

		新鲜组 (n=1 370)	陈旧组 (n=1 547)
输血后电解质	pH 值	7.33±0.03	7.32±0.04
	K(mEq/L)	4.4±0.4	4.76±0.4
	TCa(mEq/L)	1.5±0.4	1.5±0.5
输血后生化指标	TBIL(μmol/L)	19.0±2.2	22.9±2.4
	DBIL(μmol/L)	14.9±2.0	15.9±1.9
输血后血凝分析	APTT(s)	39.0±4.2	40.1±4.0
	PT(s)	15.0±2.4	16.0±2.5
	TT(s)	16.9±4.0	18.0±4.1
输血后血常规指标	Hct(%)	26±3.2	24±4
	Hb(g/L)	89±5.7	88±4.9
	Plt( $\times 10^9/L$ )	206±37	199±29

注:2 组对比, TBIL  $t=3.873, P<0.05$

## 3 讨论

输注陈旧悬浮红细胞的患者比输注新鲜悬浮红细胞的 患者更易发生输血不良反应,尤其是非溶血性发热反应(FNHTR)。FNHTR 是由供、受者之间的 HLA 不合导致细胞因子(包括白细胞介素-1 $\beta$ 、白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子等)释放引起的同种免疫反应 [10-11]。有研究表明:悬浮红细胞中残留的白细胞在 4℃ 条件下通过分泌和白细胞崩解可释放 IL、TGF- $\beta$ 1、sHLA-I、sFasL、补体活性片段(C3a、C5a)等细胞因子 [8,12],这些细胞因子通过输血转移到患者,可与患者体温调节中枢细胞表面受体结合,导致体温中枢重设调节点可引发 FNHTR;而悬浮红细胞中的白细胞随着库存时间的增加会加剧崩解;库存 14 d 后白细胞数明显下降,到保存期末仅保留 49.3%,期间白细胞大量破裂,释放大量细胞因子;同时红细胞在库存 14 d 后脆性也明显增加,更易于破裂,亦会释放大量氧化反应产物,当长期储存的悬浮红细胞输入患者体内时,大量的细胞因子以及氧化产物将会进入患者体内,从而引起发热等输血不良反应 [13-16]。受血者发生 NHFTR,往往会感觉不适,并因此导致输血治疗过早终止,这会导致血液的浪费,增加患者不必要的支出;而输血性过敏

反应不但会造成患者的不适,导致输血治疗过早终止,严重时还会危及患者生命安全<sup>[17-18]</sup>。

陈旧组患者输血后 24 h 内的血钾和血凝分析指标高于新鲜组,但 2 组并无统计学差异。有文献报道:红细胞长期在 4℃ 保存时,Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 泵失去活性,红细胞内的 K<sup>+</sup> 渗透出去,使贮存红细胞上清中的 K<sup>+</sup> 浓度增加<sup>[19]</sup>,储存后期红细胞的溶解率上升,也会释放红细胞内的 K<sup>+</sup><sup>[20]</sup>;随着贮存期的延长,红细胞还可产生微粒(RMPs),RMPs 在贮存的 10-15 d 达到高峰,此后维持不变,直到第 5-8 周有 1 个平稳的增多。RMPs 含有的凝集因子包括磷脂拼接酶 1、纤溶酶原前体、纤维蛋白原 β 链前体和 β2-糖蛋白 1,具有促炎症和促凝血功能<sup>[21]</sup>。这些证据提示我们:随着输血量的增加,保存期长的红细胞可能影响输血患者的电解质水平和凝血功能。本研究中所选取的患者输血量均在 6 U 以内,更多的输血量是否会增加患者高钾血症和出凝血异常的风险还有待进一步研究。

陈旧组患者输血后的红细胞压积较新鲜组低,而陈旧组患者的总胆红素,直接胆红素指标均高于新鲜组,其中 2 组的总胆红素差异有统计学意义。这些证据提示我们储存时间长的红细胞更易溶血。龚裕春等<sup>[22]</sup>的研究表明:红细胞贮存的末期溶血率较储存前期明显增加,在输注储存末期的红细胞 24 h 后,成熟红细胞在循环中减少了 30%。红细胞的溶血会降低患者的红细胞压积以及增加红细胞无效输注的发生,这会增加患者输入更多血液的可能性。

综上所述,虽然少量的输入储存时间长的悬浮红细胞(>14 d)不会明显增加患者高钾血症和出凝血异常的风险;但悬浮红细胞的储存时间对于妇科患者的输血不良反应发生有明显影响:输入储存时间长的悬浮红细胞(>14 d)使得患者更容易发生 FNHTR;而输入储存时间长的悬浮红细胞(>14 d)也会增加患者溶血的风险,同时减弱患者的红细胞输注效果,增加患者输入更多血液的可能性。而输入的血液越多患者面临的输血不良反应风险也将更大,又会加剧红细胞输注效果的降低,形成恶性循环<sup>[14-23]</sup>。

### 参 考 文 献

[1] 李卉.输血不良反应及其处理//刘景汉,汪德清.临床输血学.人民卫生出版社,2011:397-425.

[2] Spinella PC, Doctor A, Blumberg N, et al. Does the storage duration of blood products affect outcomes in critically ill patients? *Transfusion*, 2011, 51(8): 1644-1650.

[3] 金星, 马海平, 王江, 等. 不同库存时间红细胞输注对患者预后影响的 Meta 分析. *中国循证医学杂志*, 2014, 14(3): 299-305.

[4] Grimshaw K, Sahler J, Spinelli SL, et al. New frontiers in transfusion biology: identification and significance of mediators of morbidity and mortality in stored red blood cells. *Transfusion*, 2011, 51(4): 874-880.

[5] Vandromme MJ, McGwin G Jr, Weinberg JA. Blood transfusion in the critically ill: does storage age matter? *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2009, 17(1): 35.

[6] Yu B, Lei C, Baron DM, et al. Diabetes augments and inhaled nitric oxide prevents the adverse hemodynamic effects of transfusing syngeneic stored blood in mice. *Transfusion*, 2012, 52(7): 1410-1422.

[7] 雷翀.一氧化氮生物利用率在红细胞回输不良反应中的作用机制研究.西安:第四军医大学,2011.

[8] 王璞.红细胞储存损伤中的力学因素及防护策略研究.北京:中国人民解放军军事医学科学院,2016.

[9] 田俊士.输血不良反应和输血相关性疾病//田兆嵩.临床输血学.人民卫生出版社,2002:248-255.

[10] 林静霞,任俊,肖帆,等.输血不良反应的临床特点及影响因素分析. *中国输血杂志*, 2015, 28(3): 291-294.

[11] 周吉成,沈德才,谭彬宾,等.建立输血不良反应监测体系连续对发热性非溶血性输血反应的监测与分析. *中国输血杂志*, 2015, 28(4): 405-407.

[12] Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang*, 2009, 96(2): 93-103.

[13] 王雪梅. ICU 患者输注不同储存期红细胞悬液后的疗效观察. 泸州:四川医科大学,2015.

[14] Hess JR. Red cell storage. *J Proteomics*, 2010, 73(3): 368-373.

[15] Garraud O, Hamzeh-Cognasse H, Cognasse F. Platelets and cytokines: how and why? *Transfus clin*, 2012, 19(3): 104.

[16] Heddle NM, Cook RJ, Arnold DM, et al. The effect of blood storage duration on in-hospital mortality: a randomized controlled pilot feasibility trial. *Transfusion*, 2012, 52(6): 1203-1212.

[17] Sandler SG, Vassallo RR. Anaphylactic transfusion reactions. *Transfusion*, 2011, 51(11): 2265-2266.

[18] Jacobs JF, Baumert JL, Brons PP, et al. Anaphylaxis from passive transfer of peanut allergen in a blood product. *N Engl J Med*, 2011, 364(20): 1981-1982.

[19] Yoshida T, Shevkopyas SS. Anaerobic storage of red blood cells. *Blood Transfus*, 2010, 8(4): 220-236.

[20] Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang*, 2009, 96(2): 93-103.

[21] Jy W, Ricci M, Shariatmadar S, et al. Microparticles in stored red blood cells as potential mediators of transfusion complications. *Transfusion*, 2011, 51(4): 886-893.

[22] 龚裕春, 邱颖婕, 金魏名, 等. 去白细胞悬浮红细胞与悬浮红细胞储存期内溶血率的比较. *中国输血杂志*, 2013, 26(3): 151-152.

[23] van de Watering L. Red cell storage and prognosis. *Vox Sang*, 2011, 100(1): 36-45.

(2016-11-22 收稿, 2017-06-08 修回)

本文编辑: 闻欣

· 论著 ·

# 电子交叉配血在东莞市三级医院的临床应用调查分析

何子毅<sup>1</sup> 车嘉琳<sup>1</sup> 祁妙华<sup>2</sup> 陈寿云<sup>3</sup> 李志平<sup>4</sup> 谭少华<sup>5</sup> 章小东<sup>6</sup> 吴远军<sup>7</sup> 邹文涛<sup>1</sup> 李伟其<sup>2</sup> 张伟军<sup>4</sup>

(1.东莞市中心血站,广东东莞 523930;2.东莞市人民医院;3.东莞市第三人民医院;

4.东莞市第五人民医院;5.东莞市中医院;6.东莞市厚街医院;7.东莞东华医院)

**摘要:目的** 了解电子交叉配血在东莞市医院的临床应用情况。**方法** 课题组制定《电子交叉配血试运行调查表》(简称《调查表》)对东莞市试运行电子交叉配血的 6 家三级医院应用情况和效果做调查分析,被调查医院输血科填写对 2015 年 7 月 1 日-2016 年 4 月 30 日期间使用电子交叉配血的模式、受血者及献血者 ABO/RhD 血型鉴定、电子发血量、溶血性输血不良反应、开展电子交叉配血前后多因素的影响情况,要求《调查表》填写不缺项不漏项;对收回的《调查表》汇总分析。**结果** 发放的 6 份《调查表》均有效收回,6 家试运行电子交叉配血的医院中,有 4 家采取同步模式(血型血清学交叉配血+电子交叉配血),2 家采取单作模式(只作电子交叉配血);6 家医院在 9 个月内共完成 31 941(人)次电子交叉配血,其中同步模式占 94.06%(30 045/31 941),其 2 种交叉配血结果一致,单作模式占 5.94%(1 896/31 941);2 种模式的电子交叉配血完成后,红细胞(成分)制品被直接发放到临床输注,未收到临床用血科室发生溶血性输血不良反应的报告。输血前医院对献血者 ABO/RhD 血型复核结果与血袋标签血型一致率为 100%(36 952/36 952)。6 家医院开展电子交叉配血后,输血科发血时间、工作强度、工作人员紧张情绪等均有明显改善。**结论** 电子交叉配血确保了安全有效输血,具有缩短输血科发血时间、减轻输血科工作人员的劳动强度等明显优势,值得在临床推广。

**关键词:**电子交叉配血;临床应用;安全输血;有效输血;东莞市

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0920-04

**Application of electronic crossmatch in clinical in Dongguan city, China** HE Ziyi<sup>1</sup>, CHE Jialin<sup>1</sup>, QI Miaohua<sup>2</sup>, CHEN Shouyun<sup>3</sup>, LI Zhiping<sup>4</sup>, TAN Shaohua<sup>5</sup>, ZHANG Xiaodong<sup>6</sup>, WU Yuanjun<sup>7</sup>, ZOU Wentao<sup>1</sup>, LI Weiqi<sup>2</sup>, ZHANG Weijun<sup>4</sup>. 1. Dongguan Blood Centre, 2. People's Hospital of Dongguan, 3. the Third People's Hospital of Dongguan, 4. the Fifth People's Hospital of Dongguan, 5. the Hospital of Traditional Chinese Medicine of Dongguan, 6. Houjie Hospital, 7. Donghua Hospital

**Abstract: Objective** To analyze the trial operation of electronic crossmatch in the hospitals of Dongguan city. **Methods** The questionnaire of the trial operation of electronic crossmatch was established and sent to 6 tertiary hospitals which were in the trial operations of electronic crossmatch. Crossmatch mode, quantity of issued blood, hemolytic transfusion reactions, ABO/RhD group of donor and recipient, and influencing factors before and after trying out electronic crossmatch, were investigated from July 1, 2015-April 30, 2016. After being filled in by the Department of Blood Transfusion of each hospital, the questionnaires were collected and analyzed. **Results** All six questionnaires issued were effectively withdrawn. 4 of the 6 hospitals took the synchronous mode (blood group serology crossmatch and electronic crossmatch), and 2 hospitals took the single mode (only electronic crossmatch). 31 944 times of electronic crossmatch were completed in the 6 hospitals in the trial period (9 months), the synchronization mode were 94.06% (30 045/31 941), the results of the synchronization mode were consistent, Single mode was 5.94% (1 896/31 941). After two modes electron crossmatch was completed, the RBC (component) products were directly issued to the clinic. There were no hemolytic transfusion reactions occurred. The consensus rate of donors' ABO/RhD blood group was 100% (36 952/36 952) before transfusion. The blood issue time, working intensity, and staff tension were significantly improved after electronic crossmatch were used. **Conclusions** The electronic crossmatch can ensures the safe and effective of transfusion, which has obvious advantages such as shortening blood issue time, and reducing the labor intensity.

**Key words:** electronic crossmatch; application; transfusion safety; effective transfusion; Dongguan city

2013 年, Reesink 等<sup>[1]</sup>调查了电子交叉配血在全球范围的开展情况:丹麦、意大利、新西兰、瑞典、法国等国以及中国香港地区的临床用血医院已都基本采用;美国、英国、澳大利亚、加拿大、爱尔兰等国有部分用血医院在用,日本则有 15%

用血医院启用;但在奥地利被禁用。至今为止,我国大陆地区尚无 1 家医院正式将电子交叉配血技术投入临床应用。2008 年,本站率先在国内开始了电子交叉配血技术的前期研究;自行开发了电子交叉配血系统(EMV1.0)<sup>[2]</sup>,连同后续开发的电子交叉配血软件(委托软件公司完成),可实现对医院输血管理系统的嵌入,并证实了本市的一些医院已具备

开展电子交叉配血及电子发血的基本条件<sup>[2-5]</sup>。随着东莞市卫生行政主管部门专门制定了在全市推广应用电子交叉配血的文件, 2015 年 7 月 1 日起, 东莞市全部三级医院率先在临床上试用, 现报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 调查对象与内容** 本市全部 6 家三级医院(东莞市人民医院、第三人民医院、第五人民医院、市中医院以及厚街医院、东华医院)已在 2015 年 7 月 1 日-2016 年 4 月 30 日开展了电子交叉配血的临床试用。医院和输血科须已配备有 1.4GHz64 位的处理器, 内存>2G, 安装有 windows 操作系统, 可连接到互联网的电子计算机, 并安装有输血信息管理系统, 在该软件系统的交叉配血模块嵌入“电子交叉配血”运行模块, 通过权限设置既可以同步做电子交叉配血+血型血清学交叉配血(同步模式), 也可以只采取电子交叉配血 1 种模式(单作模式), 完成交叉配血便可以发放血液。课题研究组制定《电子交叉配血开展情况调研表》(以下简称《调查表》), 调查内容包括: 电子交叉配血完成总数、开展模式、受血者 ABO/RhD 血型鉴定、献血者 ABO/RhD 血型鉴定、电子发血量、溶血性输血不良反应、开展电子交叉配血前后多因素的影响。

**1.2 《调查表》的发放、填写与回收** 在所调查的期限内, 向 6 家医院发放共发放 6 份《调查表》到医院输血科, 并定期收回, 要求输血按照调查表要求认真如实填写, 不缺项、不漏项; 对收回的《调查表》汇总分析。

**1.3 电子交叉配血运行模式的选择** 电子交叉配血操作执行课题研究组自行编写的《电子交叉配血标准操作规程》(试运行)。推荐试运行医院先采取同步模式并行一段时间后, 由医院酌情转换为单做模式。血型血清学交叉配血试验严格按照文献[6]方法操作。

**1.4 电子交叉配血对检测方法学的要求** 1) 试运行电子交叉配血的医院须有独立设置的输血科, 具有较强的业务水平能力, 年红细胞成分用量>20 000 mL, 实验室检测能力强, 实验过程采取质量控制; 2) 输血科工作人员均经过血型血清学技术培训合格; 3) 实验离心设备统一要求为血型血清学专用离心机, 红细胞 ABO/RhD 血型鉴定要求采用试管法/微柱凝胶法; 4) 不规则抗体筛选及血型血清学交叉配血试验须先用盐水介质法, 再选用 1 种检测 IgG 抗体的方法(凝聚胺法、抗球蛋白法和微柱凝胶法中择一); 5) ABO 血型判读标准: 须经正、反定型, 若正定型与反定型判读的结果相一致, 则确定被检者 ABO 血型, 若正、反定型结果不一致, 则不能确定 ABO 血型, 需进一步检测; 6) 不规则抗体筛选阳性判读标准: 在盐水介质及 1 种检测 IgG 抗体的方法结果均为阴性时, 为不规则抗体筛选阴性, 若至少 1 种筛选细胞阳性时, 为不规则抗体筛选阳性。

**1.5 应用电子交叉配血的受血者选择** 多次输血的受血者 ABO/RhD 血型都相同, 必须用其本次(最近的)血标本做血型复核; 受血者的不规则抗体筛选必须为阴性且无不规则抗体筛选阳性的既往记录; 不符合电子交叉配血条件的受血者

须做血型血清学交叉配血试验。

**1.5.1 受血者 2 次 ABO 血型复核** 分 2 种情况: 1) 出生<120 d 的受血者需做 2 次 ABO 正定型、2 次 RhD 定型; 2) ≥120 d 的受血者首次输血前需做 ABO 正、反定型及 RhD 定型各 2 次, 当再次需要输血时, 血型复核可只做 ABO 正、反定型及 RhD 定型各 1 次。2 次鉴定结果均需录入医院输血管理系统生成受血者血型档案。

**1.5.2 献血者 ABO/RhD 血型鉴定** 市中心血站献血者 ABO 血型鉴定的流程: 第 1 遍由采血科室采用大微孔法做 ABO 血型正定型得到的初检结果录于血站血液管理系统; 第 2 遍由检验科采用微孔板法或全自动血型鉴定设备做 ABO 正反定型及 RhD 定型, ABO 正反定型作为复检结果, 如果正反定型一致且与初检结果一致, 则确定该献血者血型, 当其所献血液发放到某一医院时, 血液管理信息系统系统自动将该份血液的血型结果传输到医院输血管理系统; 第 3 遍是由血型参比实验室对第 1、2 遍血型鉴定结果存在任何疑问的血标本做确认试验, 最终确定 ABO/RhD 血型。

**1.5.3 献血者不规则抗体检测** 市中心血站采用微柱凝胶法对献血者所献血液做不规则抗体筛选: 结果阴性的红细胞成分可以出库发往临床, 检测信息随该份血液的发放同步传输到医院输血管理系统; 结果阳性的红细胞只能留作制备成洗涤红细胞。所有血袋标签上有不规则抗体筛选结果。

**1.5.4 献血者 ABO/RhD 血型复核** 上述红细胞成分(制品)发到医院输血科后, 有 2 种复核血型的模式——输血前复核与血液入库前批量复核——无论哪种模式, 只有复核结果与血袋标签血型一致后, 才能确认该份红细胞(献血者)血型正确, 并将此结果录入医院输血管理系统。

**1.5.5 受血者不规则抗体筛选** 由医院输血科负责, 一般在受血者入院时或择期手术前完成, 并将筛选结果录入医院输血管理系统。受血者不规则抗体筛选结果的有效期设置为 3 d, >3 d 须重新筛选并重新录入。

**1.5.6 交叉配血比对规则** 根据受血者 ABO/RhD 血型及红细胞不规则抗体筛选阴性结果的信息, 在市中心血站库存献血者血液中筛选 ABO/RhD 血型相同且红细胞不规则抗体筛选阴性的血液成分, 或选择相容的献血者血液成分。

## 2 结果

**2.1 东莞市 6 家三级医院试行电子交叉配血的基本情况**

1) 10 个月里 6 家医院共做交叉配血 36 952 例(次), 其中采用电子交叉配血同步模式完成 31 941 例(次), 占全部配血比例的 86.45%, 单作模式完成 1 896 例(次), 占全部配血比例的 5.13%; 2) 献血者血液血型复核结果与血袋标签的一致率 100%(36 952/36 952)(仅 1 例为 A 亚型, 血袋标签为 A 型, 但不影响临床应用); 3) 受血者 2 次血型鉴定准确率为 99.95%(31 924/31 941), 其中 4 例不一致的原因为该院血型鉴定初检由检验科采取玻片法正定型, 与输血科采取试管法及微柱凝胶法鉴定结果不同, 但最终由输血科复查后确定血型; 4) 经电子交叉配血发出血量和紧急发出血量共 45 073 U, 未发生溶血性输血不良反应(表 1)。

**表 1** 2015 年 7 月 1 日-2016 年 9 月 30 日东莞市 6 家三级医院开展电子交叉配血情况调查  $n(\%)$

	医院 1	医院 2	医院 3	医院 4	医院 5	医院 6	合计
交叉配血总数	3 255	1 872	1 334	2 057	23 135	5299	3 6952
电子交叉配血模式	同步	同步+单做	同步	同步	同步	单做	
电子交叉配血总数	3 252(99.9)	1 436(76.7)	1 025(76.8)	1 978(96.1)	23 090(99.8)	1 160(21.9)	31 941(86.4)
血型血清学交叉配血总数	3 255(100.0)	436(23.3)	1 334(100.0)	78(3.9)	23 135(100.0)	4139(78.1)	32 377(87.6)
受血者 ABO 血型不一致数	0	4	0	0	0	0	4
受血者 RhD 血型不一致数	0	0	0	1	0	0	1
受血者不规则抗体筛选阳性数	3(0.01)	4(0.21)	0	6(0.29)	33(0.14)	23(0.43)	69(0.19)
受血者两次血型检测不一致数	0	4*	0	0	0	0	4
献血者血型复检与血袋标签不一致例数	0	0	0	0	0	1#	1
电子交叉配血发血量(U)	8 253	4 815	4 002	4 242	19 550	2 013.5	42876
电子交叉配血紧急发血量(U)	0	2 152	0	0	22	33	2 197
溶血性输血反应的例数	0	0	0	0	0	0	0

\* 均为该院检验科初检血型与输血科鉴定结果不一致,经重新采样后确定血型,采取同步配血模式;#为弱 D 型

**2.2 东莞市 6 家三级医院试行电子交叉配血前后输血工作状况比较** 试行电子交叉配血后紧急配血时 6 家医院输血科工作人员紧张程度均得到有效缓解,4 家医院的血液报废

率下降,4 家医院的受血者血型鉴定准确率明显提高,4 家医院认为血液安全性得到加强,所有医院均认为对受血者进行不规则抗体筛选并未增加工作量(表 2)。

**表 2** 东莞市 6 家三级医院试行电子交叉配血前后输血工作状况调查

调查内容	医院 1	医院 2	医院 3	医院 4	医院 5	医院 6	合计(是/总数)
发血时间是否缩短	暂未	是	否	是	暂未	是	3/6
紧急配血时紧张情绪是否缓解	是	是	是	是	适当缓解	有所缓解	4/6
工作强度是否降低	否	是	是	否	暂未	是	3/6
成本效益是否降低	否	是	否	否	暂未	是	2/6
输血安全性是否加强?	是	是	是	否	是	否	4/6
血液报废率是否下降	是	是	是	否	是	否	4/6
受血者两次血型鉴定一致率是否提高	否	是	是	是	是	否	4/6
受血者不规则抗体筛选是否增加了工作量	否	否	否	否	否	否	0/6

**3 讨论**

电子交叉配血是在红细胞 ABO/RhD 血型鉴定和不规则抗体筛选的基础上,直接由计算机系统为受血者选择相容的血液,节省血型血清学交叉配血试验时间,减少人为因素干扰,其与虚拟血库是目前较新的输血技术。1983 年,瑞典的 1 家医院率先应用电子交叉配血<sup>[7]</sup>;随后欧美一些发达国家以及澳大利亚、中国香港等也开始应用该技术,并且都证实应用电子交叉配血系统安全有效<sup>[4]</sup>。东莞市电子交叉配血起步于 2008 年,设计开发了早期的电子交叉配血软件系统并在临床上做了模拟应用,证实其安全有效<sup>[2,4]</sup>。国内已有医院将电子交叉配血在临床试用,证实与血型血清学交叉配血试验结果完全一致,认为该技术可以省略血型血清学交叉配血试验,简化输血科工作流程,降低实验室工作量,提高临床输血的安全性<sup>[8]</sup>。经过多年的研究积累,并在地方卫生行政主管部门的大力支持下,东莞市自 2015 年 7 月 1 日起,在 6 家三级医院试行电子交叉配血——利用最新统一开发的电子交叉配血模块嵌入医院输血管理系统运行——我们也藉此开展了同步调研;到调研截至时,在 10 个月的时间,6 家医院共完成电子交叉配血 31 941 次(表 1),其中 2 家医院采用电子交叉配血紧急发血 2 197 U 红细胞,未见 1 例溶血性输血不良反应的报告,说明电子交叉配血是安全可靠的,可以替代血型血清学交叉配血试验。

迄今国际上已公布了 4 个电子交叉配血软件程序和 2 套经专业认证机构颁布的指南;由于地区间实际的需求和理念上的差异,2 套指南内容尚未完全统一。当前被广泛认可

的 2 个电子交叉配血国际标准分别由美国血库协会(AABB)和英国血液学标准化委员会(BCSH)颁布,东莞市开发的应用软件依据的便是 AABB 指南,满足了该指南对电子交叉配血要求具备的基本条件为——1)受血者必须有≥2 次相符的 ABO/RhD 血型鉴定结果,其中 1 次必须来自当前的血标本;2)受血者不规则抗体筛选必须为阴性,且无既往阳性记录;3)计算机软件系统必须能够阻止不相容血液的发放;4)计算机软件系统及其他关键设备必须经过严格确认;5)必须有确保血液检测数据采集和传输准确性的控制程序<sup>[9]</sup>。电子交叉配血最基本的要求是受血者 ABO 血型需要 2 次鉴定,而目前医院在患者入院后都已做了 1 次 ABO 血型鉴定,输血前又重新采集受血者血标本做血型鉴定,因此已经完成了 2 次血型鉴定,只有 2 次鉴定结果一致,才能做电子交叉配血。本组调研数据中,受血者有 4 人的 ABO 血型不能确定,5 人的 RhD 血型不能确定,其都不符合电子交叉配血的条件,故采取了血型血清学交叉配血试验(表 1);受血者不规则抗体阳性总例数达 69 次,均不符合电子交叉配血的要求,也做了血型血清学交叉配血。血站将献血者血液发送到医院输血科后,由后者对其做血型再复核,本组中有 2 家医院采取入库前批量鉴定血型,4 家医院采取配血前鉴定血型,只有 1 例复核为 A 亚型,血袋标签为“A 型,不规则抗体筛选阴性”,因而并不影响临床输血安全,血型复核结果与血袋标签标注血型一致率达到 100%。由此说明医院可以省去复核献血者血型的步骤。

各种电子交叉配血方案都未明确要求筛选献血者不规则抗体,但为了保障输血安全,本站已对所有献血者血液做

了不规则抗体筛选,不规则抗体阳性检出率 0.216% (129/59 677),以 IgM 型抗体为主,占不规则抗体检出数的 94.3%,而 IgG 型抗体检测数仅 5.7%<sup>[10]</sup>。这说明对献血者做不规则抗体筛选是必要的,同时也意味大约 99% 的献血者适合做电子交叉配血。本站在所筛选出的献血者不规则血型抗体阴性血液的血袋标签上标识为“抗体筛选阴性”,发放到医院已然满足电子交叉配血的要求;如果是筛选结果为阳性的血液,经过洗涤后制备成洗涤红细胞也可以发往临床,然而本软件系统设置为不适用于电子交叉配血(实际上适合做),只能采取血型血清学交叉配血试验。但我们认为对不规则血型抗体阳性献血者,如果血站已建立有红细胞稀有血型库,患者需要输血时只要选择相应抗原阴性红细胞是可以采用电子交叉配血的。电子交叉配血要求所有检测的结果必须输入电子交叉配血软件系统,通过计算机逻辑运算检查并确认的情况包括:1)受血者 2 次独立的 ABO 血型鉴定结果一致,其中 1 次必须来自受血者当前的血标本;2)献血者和受血者之间 ABO 血型的相容性;3)不规则抗体筛选阴性并设定 1 个有效时间)且无不规则抗体筛选阳性的既往记录。从电子交叉配血的适用条件来看,所有受血者血型、献血者血液血型、不规则抗体筛选均满足电子交叉配血的要求,均能建立信息数据贮存于软件系统,均能通过软件内部逻辑运算,均能顺利执行电子交叉配血和电子发血,说明本研究设计软件符合电子交叉配血的要求。

电子交叉配血已被证明有很多的优点<sup>[10-12]</sup>,我们本次对开展电子交叉配血前后 6 家医院输血工作状况的问卷调查同样显示,多数医院的输血工作者认为紧急配血时的紧张情绪得到缓解,发血时间、工作强度都有所降低(表 2),这说明开展电子交叉配血对提高输血工作质量、强化输血安全等是有益的。而由于电子交叉配血尚处试运行阶段,大多数医院又采取电子交叉配血的同步模式,电子交叉配血(单作模式)的诸多优势还没有得到充分的发挥和发现,因此未能达到完全满意或改善的状况。

电子交叉配血是现代信息技术与传统血型血清学技术的结合,是电子信息技术进入临床检测技术的 1 种新形式,其改变了传统的交叉配血技术流程。但因为输血在很多人

头脑中“不怕一万就怕万一”根深抵固观念,尤其在国内外临床造成宁可固守也不愿尝试的困窘<sup>[11]</sup>。希望通过我们提供的开展电子交叉配血安全有效的数据,以及电子交叉配血在东莞市的逐步开展,能够引起国内输血医学界的关注和重视,并最终将对照电子交叉配血推向全国。

### 参 考 文 献

- [1] Reesink HW, Davis K, Wong J, et al. The use of the electronic (computer) cross-match. Vox Sang, 2013, 104(4): 350-364.
- [2] 叶柱江,何子毅.电子交叉配血系统的设计与模拟应用.现代检验医学杂志,2012,27(2): 101-103.
- [3] 何子毅,叶柱江,王德文,等.无偿献血者血型鉴定准确率调查分析.现代检验医学杂志,2010,25(1): 122-124.
- [4] 刘赴平,叶长钦,吴远军,等.电子配血系统临床应用可行性研究.中国输血杂志,2012,25(12):1268-1271
- [5] 何子毅,刘赴平,李伟其,等.受血者血型鉴定准确率及不规则抗体阳性率调查研究.实用医学杂志,2011,27(5): 877-879.
- [6] 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; 2015:137-138
- [7] Kulkarni N, Ali M, Haray PN, et al. Electronic cross matching system. Is routine pre-operative cross matching of blood for colorectal resections /required anymore. Endoscopy, 2006, 38(10): 937-956.
- [8] 张少丰,何子毅,陈楚填,等.电子交叉配血在某院模拟应用分析.检验医学与临床,2014,11(14):1964-1965
- [9] 何子毅,刘赴平,车嘉琳,等.电子交叉配血的现状和展望.临床输血与检验,2009,11(4):380-381
- [10] 邹文涛,何子毅,王庆,等.献血者红细胞不规则抗体检测在电子交叉配血技术中的应用分析.中国输血杂志,2015,05(28): 533-536.
- [11] 何子毅,车嘉琳,陈金凤,等.电子交叉配血国内外应用进展.中国输血杂志,2014,27(11):1139-1143.
- [12] 黄杰辉,刘赴平.电子配血的应用基础和未来发展.中国输血杂志,2012,7(25):13-14.

(2016-11-13 收稿,2017-08-07 修回)

本文编辑:蔡辉

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www. cjbt. cn

bloo. cbpt. cnki. net

# 南宁市重症地中海贫血患儿输血情况调查及针对性供血策略的建立\*

陆祝选 李彬 莫秋红 庞兴旺 蒋文(南宁中心血站,广西南宁 530003)

**摘要:目的** 了解南宁市需要定期输血的重症地中海贫血(简称地贫)患儿输血基本情况及与南宁周边城市的差异,逐步解决重症地贫患儿输血难的问题。**方法** 问卷调查与病案调查相结合,自制调查问卷,调查内容包括重症地贫患儿基本情况(性别、地贫遗传史、户籍)、输血医疗费用情况(家庭月收入、医疗费用类型、输血自行承担费用)、输血情况(首次输血年龄、至今输血病程、输血次数、输血量)、血液供应情况(能否按期输血、能否足量输血)等,收集南宁市区[广西医科大学第一附属医院(简称广西医大一附院)地贫之家、解放军 303 医院(简称 303 医院)地贫之家](阶段性问卷调查,2013 年 11 月-2014 年 1 月),广西钦州市、河池市、百色市、来宾市、玉林市等 5 市(抽样问卷调查,2013 年 8 月-2013 年 9 月)以及南宁市辖武鸣、横县、宾阳、上林、马山、隆安 6 县(2008 年 11 月-2013 年 10 月回顾性问卷调查)共 850 份重症地贫患儿调查问卷,通过对调查数据的统计分析,制定并逐步实施南宁 6 县地贫患儿输血方案,依据该输血方案把握地贫患儿的供血情况及发展趋势。**结果** 1) 南宁及其周边 5 市 465 名地贫患儿输血情况调查显示,6 市地贫患儿在户籍构成比例、医疗费用类型、输血承担费用、输血病程、累计输血量、能否按期输血等方面人群分布率存在差异( $P < 0.05$ )。2) 广西医大一附院地贫之家及 303 医院地贫之家连续 60 d 356 份重症地贫患儿输血情况调查显示,2 家地贫之家重症地贫患儿在家庭收入、累计输血量方面群分布率存在差异( $P < 0.05$ )。3) 2008 年 11 月-2013 年 10 月南宁市辖 6 县 391 例重症地贫患儿输血病案回顾性调查显示,6 个县重症地贫患儿在首次输血年龄、输血病程、输血次数、累计输血量、能否按期输血、能否充足供血等方面人群分布率存在差异( $P < 0.01$ )。4) 建立了卫生行政部门领导,由地贫患儿、医疗机构、血站、无偿献血者构成的联动机制,优先解决南宁 6 县地贫患儿供血。各县指定地贫患儿定点输血医院,血站每月分 3 个时段向地贫患儿输血的医院供血,输血的地贫儿童基本资料登记备案,包括儿童基本信息、血型、输血频率及输血用量等;地贫患儿经治医师每次用血提前 3 d 向定点医院输血科申请,由定点医院输血科向血站供血科预约供血量,血站输血科审核通过后,按时将血液备齐由各定点医院按时领用。5) 南宁市辖 6 县重症地贫患儿输血方案于 2013 年 3 月起逐步实施,截止 2016 年 6 月,各县重症地贫患儿用量占比县全年用量逐年升高( $P < 0.01$ )。**结论** 重症地贫患儿的规范输血宜施行属地化管理,做到唯一性编码登记在册,依据在册登记,开展统一重症地贫患儿基本情况及定期输血情况的基线调查,能够了解各地在一段时间内重症地贫患儿的输血治疗现状,预测其发展趋势,同时为血站保障重症地贫患儿的医疗用血提供依据。

**关键词:**地中海贫血;输血治疗;供血策略;问卷调查

**中图分类号:**R556.7 R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0924-07

**Investigation of blood transfusion on  $\beta$ -thalassemia children in Nanning and The establishment of a case-specific blood-supply strategy** LU Zhuxuan, LI Bin, MO QiuHong, PANG Xingwang, JIANG Wen. Nanning Blood Center, Nanning, 530003, China

**Abstract: Objective** This study aims to evaluate the condition of  $\beta$ -thalassemia children in six cities(Nanning, Hechi, Baise, Laibin, Yulin) in Guangxi in order to develop a case-specific blood-supply strategy. **Methods** A questionnaire analysis was designed particularly to investigate  $\beta$ -thalassemia children regarding sex, hereditary background, family registration, Monthly income, medical expense types, transfusion cost, first transfusion age, transfusion record duration, the number of transfusion, transfusion volume, whether transfusion was done as scheduled and whether adequate blood was transfused. The data was statistically analyzed and we hope the results would provide foundational data to develop a feasibility blood-supply plan for  $\beta$ -thalassemia. **Results** (1) 465 questionnaires were collected. Data processed indicates statistical significance ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) in family registration, medical expense types, transfusion cost, the number of transfusion, transfusion volume, and whether transfusion was done as scheduled. (2) 139 valid questionnaires were collected in the first affiliated hospital of Guangxi Medical University and the rest 217 valid questionnaires were collected at the People's Liberation Army 303 Hospital within 60 days, which demonstrates statistical significance ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) in monthly income, transfusion volume. (3) 391 valid questionnaires were collected from six counties(Wuming, Hengxian, Binyang, Shanglin, Mashan, Long'an) of Nanning, presenting statistical significance ( $P < 0.01$ ) in first transfusion age, transfusion record duration, the number of

transfusion, transfusion volume, whether transfusion was done as scheduled and whether adequate blood was transfused. (4) The

system of registration should be including blood types, transfusion volume, blood transfusion frequency, ect.  $\beta$ -thalassemia children should make an appointment to designated hospital for blood transfusion 3 days in advance so that the hospital arrange blood delivery with the blood center after reviewing the patient information provided in the system. (5) The blood demand of  $\beta$ -thalassemia children in the six counties of nanning tends to increase year by year ( $P < 0.05$ ) during March 2013–June 2016. **Conclusion** Regular and specified blood transfusion is the most effective method for  $\beta$ -thalassemia treatment. Health administrative departments, hospitals and blood centers are obligated to ensure sufficient and effective blood supply for  $\beta$ -thalassemia children utilizing the registration system, the designated transfusion hospitals and the blood supply system.

**Key words:**  $\beta$ -thalassemia children; transfusion therapy; blood supply; questionnaire.

广西是地中海贫血 (mediterranean anemia) (以下简称地贫) 高发区<sup>[1-3]</sup>, 2016 年 3 月国内发布的首部《中国地中海贫血蓝皮书 (2015)》就指出, 我国重型和中间型地贫患者在 30 万人左右, “地贫” 基因携带者 > 3 000 万人, 涉及近 3 000 万家庭 1 亿人口, 主要集中在长江以南的福建、江西、湖南、广东、广西、海南、重庆、四川、贵州、云南等省 (市、自治区), 尤以两广地区最为严重, 广西人口中 “地贫” 基因携带者 > 20%。为初步了解南宁市地贫患儿输血基本情况及其与南宁周边城市的差异, 逐步建立南宁地区地贫患儿供血策略及长效机制, 解决重症地贫患儿输血难的问题<sup>[4]</sup>, 我们对南宁市区 (2 家大型医院的地贫之家)、南宁周边广西 5 市及南宁市辖 6 县的重症地贫患儿的输血情况及相关资料作了调查与统计, 报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 调查内容**<sup>[5]</sup> 自制调查问卷, 问卷内容包括: 1) 重症地贫患儿的基本情况 (性别、地贫遗传史、户籍); 2) 输血医疗费用情况 (地贫患儿家庭月收入、医疗费用类型、输血自行承担费用); 3) 输血情况 (地贫患儿首次输血年龄、输血病程、输血次数、输血量); 4) 血液供应情况 (地贫患儿能否按期输血、能否足量输血); 5) 南宁市地贫患儿的供血策略 (依据调查的统计分析结果, 建立并实施本地地贫患儿的供血方案); 6) 南宁市地贫患儿供血情况 (依据所建立的南宁市地贫患儿供血方案供血, 统计分析近年来地贫患儿的供血情况)。

表 1 调查对象、方法及收集问卷情况

	调查方法	调查时间	调查地点	收集问卷 (份)	合计 (份)
南宁市区	阶段性问卷调查	2013 年 12 月–2014 年 1 月	广西医大一附院地贫之家	139	356
		2013 年 11 月–2013 年 12 月	303 医院地贫之家	217	
南宁周边 5 城市	抽样问卷调查	2013 年 8 月–2013 年 9 月	钦州市第一人民医院、钦州市市妇幼保健院	22	109
		2013 年 8 月–2013 年 9 月	河池市人民医院、河池市市妇幼保健院	17	
		2013 年 8 月–2013 年 9 月	右江民族医学院附属医院、百色市人民医院、百色市妇幼保健院	31	
		2013 年 8 月–2013 年 9 月	来宾市人民医院、来宾市妇幼保健院	12	
		2013 年 8 月–2013 年 9 月	玉林市第一人民医院、玉林市妇幼保健院	27	
		2013 年 8 月–2013 年 9 月	武鸣县人民医院、中医院、县妇幼保健院	52	
南宁市辖 5 县	回顾性问卷调查	2008 年 11 月–2013 年 10 月	横县人民医院、中医院、县妇幼保健院	64	391
		2008 年 11 月–2013 年 10 月	宾阳县人民医院、中医院、县妇幼保健院	53	
		2008 年 11 月–2013 年 10 月	上林县人民医院、中医院、县妇幼保健院	86	
		2008 年 11 月–2013 年 10 月	马山县人民医院、中医院、县妇幼保健院	82	
		2008 年 11 月–2013 年 10 月	隆安县人民医院、中医院、县妇幼保健院	54	
		2008 年 11 月–2013 年 10 月			

**1.3 统计学处理** 以 SPSS 19.0 统计软件录入《调查问卷》中各项内容 (计数资料), 统计比较各 (地) 项目的比率采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  具有统计学意义。

**1.2 调查对象及方法** 1) 南宁市区: 采用阶段性问卷调查的方式, 委托经课题组培训过的地贫之家医护人员指导重症地贫患儿家长 (监护人) 填写调查问卷并当场回收, 如果患儿家长不配合或由于文化等原因不能完成问卷填写, 由医护人员通过查询患儿病案填写。南宁市区调查问卷纳入 356 名重症地贫输血患儿, 分别来自广西医科大学第一附属医院 (以下简称广西医大一附院) 地贫之家 2013 年 12 月–2014 年 1 月定期输血的重症地贫患儿 139 名, 以及解放军 303 医院 (以下简称 303 医院) 地贫之家 2013 年 11 月–2013 年 12 月定期输血的重症地贫患儿 217 名。2) 南宁周边钦州、河池、百色、来宾、玉林 5 市: 采用抽样问卷调查方式, 委托当地中心血站供血科协助, 选取当地用水量最大的 1–2 家综合性医院及当地妇幼保健院定期输血的地贫患儿作为调查对象, 时间统一选定在 2013 年 8 月–2013 年 9 月, 由经过当地中心血站输血科培训后的医护人员在规定的时间内指导在该医院输血的重症地贫患儿家长 (陪护人员) 填写调查问卷并当场回收, 如果患儿家长不配合或由于文化等原因不能完成问卷填写, 由医护人员通过查询患儿病案填写, 课题组汇总数据共收集 109 份有调查问卷。3) 南宁市辖武鸣、横县、宾阳、上林、马山、隆安 6 县: 采用回顾性问卷调查方式, 由县卫生计生委 (局) 医政股统一安排, 县人民医院、县中医院、县妇幼保健院由医务部收集该院 2008 年 11 月–2013 年 10 月本医院地贫患儿病案并依据病案填写问卷调查表, 课题组汇总数据共收集 391 份有效调查问卷 (表 1)。

## 2 结果

**2.1 广西南宁及其周边 5 市 465 名地贫患儿输血情况调查** 6 市地贫患者在户籍构成比例、医疗费用类型、输血承担费

用、输血病程、累计输血量、能否按期输血等方面人群分布率 存在差异( $P<0.05$ ) (表 2)。

表 2 2013 年 8 月-2014 年 1 月广西 6 城市 465 名地贫患儿输血情况调查

		钦州市	河池市	百色市	来宾市	玉林市	南宁市	n(%)
性别	男	13(59.1)	10(58.8)	17(54.8)	6(50.0)	15(55.6)	192(53.9)	253(54.4)
	女	9(40.9)	7(41.2)	14(45.2)	6(50.0)	12(44.4)	164(46.1)	212(45.6)
遗传因素	父亲遗传	1(4.5)	2(11.8)	0(0)	2(16.7)	2(7.4)	24(6.7)	31(6.7)
	母亲遗传	1(4.5)	1(5.9)	1(3.2)	1(8.3)	1(3.7)	32(9.0)	37(8.0)
	父母双向遗传	20(90.9)	14(82.4)	30(96.8)	9(75.0)	24(88.9)	300(84.3)	397(85.4)
户籍*	城区	8(36.4)	4(23.5)	9(29.0)	3(25.0)	7(25.9)	159(44.7)	190(40.9)
	县城	3(13.6)	1(5.9)	10(32.3)	2(16.7)	9(33.3)	91(25.6)	116(24.9)
	乡镇	11(50.0)	12(70.6)	12(38.7)	7(58.3)	11(40.7)	106(29.8)	159(34.2)
家庭月收入(元)	<2 000	8(36.4)	7(41.2)	12(38.7)	7(58.3)	10(37.0)	112(31.5)	156(33.5)
	2 000-	10(45.5)	8(47.1)	12(38.7)	3(25.0)	11(40.7)	100(28.1)	144(31.0)
	3 000-	4(18.2)	2(11.8)	6(19.4)	1(8.3)	5(18.5)	80(22.5)	98(21.1)
	≥5 000	0(0)	0(0)	1(3.2)	1(8.3)	1(3.7)	64(18.0)	67(14.4)
医疗费用类型 <sup>△</sup>	自费	20(90.9)	0(0)	5(16.1)	2(16.7)	6(22.2)	72(20.2)	105(22.6)
	医保	0(0)	0(0)	8(25.8)	3(25)	5(18.5)	250(70.2)	266(57.2)
	新农合	2(9.1)	17(100)	18(58.1)	7(58.3)	16(59.3)	34(9.6)	94(20.2)
每次输血自行承担费用(元)(扣除医保、新农合报销部分) <sup>#</sup>	<100	0(0)	1(5.9)	0(0)	1(8.3)	0(0)	0(0)	2(0.4)
	100-	0(0)	13(76.5)	13(41.9)	1(8.3)	12(44.4)	42(11.8)	81(17.4)
	300-	19(86.4)	3(17.6)	15(48.4)	4(33.4)	12(44.4)	106(29.8)	159(34.2)
	≥500	3(13.6)	0(0)	3(9.7)	6(50.0)	3(11.2)	208(58.4)	223(48.0)
首次输血年龄(岁)	<5	15(68.2)	12(70.6)	24(77.4)	8(66.7)	19(70.4)	207(58.1)	285(61.2)
	5-	2(9.1)	3(17.6)	6(19.4)	1(8.3)	6(22.2)	113(31.7)	131(28.2)
	10-	2(9.1)	1(5.9)	1(3.2)	1(8.3)	2(7.4)	24(6.7)	31(6.7)
	≥15	3(13.6)	1(5.9)	0(0)	2(17.7)	0(0)	12(3.4)	18(3.9)
输血病程(年) <sup>e</sup>	<1	10(45.5)	6(35.4)	10(32.3)	4(33.3)	9(33.4)	88(24.7)	127(27.3)
	1-	8(36.4)	4(23.5)	15(48.3)	3(25.0)	12(44.4)	156(43.8)	208(42.6)
	3-	4(18.1)	4(23.5)	6(19.4)	0(0)	6(22.2)	76(21.3)	96(20.6)
	≥5	0(0)	3(17.6)	0(0)	5(41.7)	0(0)	36(10.2)	44(9.5)
输血次数 <sup>▲</sup>	<10	5(22.7)	3(17.6)	7(22.6)	6(50.0)	5(18.5)	110(30.9)	136(29.2)
	10-	6(27.3)	5(29.4)	11(35.5)	1(8.3)	13(48.1)	135(37.9)	171(36.8)
	30-	8(36.4)	4(23.5)	13(41.9)	4(33.4)	8(29.7)	81(22.8)	118(25.4)
	≥60	3(13.6)	5(29.5)	0(0)	1(8.3)	1(3.7)	30(8.4)	40(8.6)
累计输血量(U) <sup>◇</sup>	<50	7(31.8)	8(47.1)	11(35.5)	6(50.0)	9(33.3)	129(36.2)	170(36.6)
	50-	7(31.8)	2(11.8)	18(58.1)	1(8.3)	16(59.3)	156(43.8)	200(43.0)
	100-	5(22.8)	6(35.2)	2(6.4)	2(16.7)	1(3.7)	57(16.1)	73(15.7)
	≥250	3(13.6)	1(5.9)	0(0)	3(25.0)	1(3.7)	14(3.9)	22(4.7)
能否按期输血 <sup>◆</sup>	能	0(0)	8(47.1)	10(32.3)	6(50.0)	11(40.7)	89(25.0)	124(26.7)
	不能	5(22.7)	0(0)	6(19.4)	1(8.3)	6(22.2)	122(34.3)	140(30.1)
	不确定	17(77.3)	9(52.9)	15(48.3)	5(41.7)	10(37.1)	145(40.7)	201(43.2)
能否充足供血	能	6(27.3)	9(52.9)	3(9.7)	1(8.3)	3(11.1)	85(23.9)	107(23.0)
	不能	5(22.7)	0(0)	6(19.4)	4(33.3)	5(18.5)	155(43.5)	175(37.6)
	不确定	11(50.0)	8(47.1)	22(71.0)	7(58.3)	19(70.4)	116(32.6)	183(39.4)

\* $\chi^2 = 24.100, P < 0.01$ ;  $\Delta\chi^2 = 224.265, P < 0.01$ ;  $\#\chi^2 = 160.324, P < 0.01$ ;  $e\chi^2 = 32.474, P < 0.01$ ;  $\#\chi^2 = 27.772, P < 0.05$ ;  $\diamond\chi^2 = 37.742, P < 0.01$ ;  $\blacklozenge\chi^2 = 32.131, P < 0.01$ ;  $\star\chi^2 = 49.123, P < 0.01$

2.2 南宁市 2 家大型医院地贫之家连续 60 d 共 356 份重症地贫患儿输血情况调查 2 家地贫之家重症地贫患儿在家庭收入、累计输血量方面存在差异( $P < 0.05$ ) (表 3)。

2.3 南宁市辖 6 县 391 例重症地贫患儿输血病案回顾性调查 6 个县重症地贫患儿在首次输血年龄、输血病程、输血次数、累计输血量、能否按期输血、能否充足供血等方面人群分布率存在差异( $P < 0.01$ ) (表 4)。

2.4 南宁市 6 县区重症地贫患儿输血方案的建立 目前南宁辖区供血范围内的医院, 就诊的重症地贫患儿均不能得到充足有效的血液供应以保障其规范输血治疗的需求(表 2-4)。本着重症地贫患儿输血治疗属地化管理、登记在册、定

期输血、定点输血、规范输血的观念, 在南宁市卫生计生委牵头下, 制定南宁市县区地贫患儿输血方案。依照县重症地贫患儿属地化管理的原则, 指定县人民医院或县妇幼保健院作为本地重症地贫患儿唯一指定输血治疗的医院(1 县 1 家), 由定点输血治疗医院给予当地重症地贫患儿做唯一性编码(ID)登记(包括患儿姓名、年龄、病程、血型、每次输血量以及输血频率等信息), 并抄送到血站供血科备案。指定输血治疗的医院每月指定 3 d(一般分布在月上、中、下旬, 每个县时间相对岔开避免血站血液库存下降过快)给地贫患儿集中输血, 由重症地贫患儿经治医师在指定输血日前 3 d 提交地贫患儿输血计划(患儿 ID、需要血型、需要血量等信息)到医

院输血科,由医院输血科汇总后向血站供血科申请备血。血站供血科审批医院输血科用血申请后,在医院指定输血日子

以供血。供血方案(图 1)在 2013 年 3 月开始在南宁市 6 个县逐步推行。

**表 3** 广西医大一附院地贫之家及 303 医院地贫之家连续 60 d 输血重症地贫患儿输血情况调查 [n(%)]

		广西医大一附院	303 医院	合计
性别	男	73(52.5)	119(54.8)	192(53.9)
	女	66(47.5)	98(45.2)	164(46.1)
遗传因素	父亲遗传	7(5.0)	17(7.8)	24(6.7)
	母亲遗传	13(9.4)	19(8.8)	32(9.0)
	父母双向遗传	119(85.6)	181(83.4)	300(84.3)
兄弟姐妹	0	114(82.1)	187(86.2)	301(84.5)
	1	18(12.9)	21(9.7)	39(11.0)
	2-3	7(5.0)	9(4.1)	16(4.5)
户籍	城市	67(48.2)	92(42.4)	159(44.7)
	县份	33(23.7)	58(26.7)	91(25.5)
	乡镇	39(28.1)	67(30.9)	106(29.8)
家庭收入(元)*	<2 000	39(28.1)	73(33.6)	112(31.4)
	2 000-	33(23.7)	67(30.9)	100(28.1)
	3 000-	42(30.2)	38(17.5)	80(22.5)
	>5 000	25(18.0)	39(18.0)	64(18.0)
医疗费用类型	自费	33(23.7)	39(18.0)	72(20.2)
	医保	93(66.9)	157(72.3)	250(70.2)
	新农合	13(9.4)	21(9.7)	34(9.6)
每次输血自行承担费用(元) (扣除医保、新农合报销部分)	<100	0(0)	0(0)	0(0)
	100-	11(7.9)	31(14.3)	42(11.8)
	300-	39(28.1)	67(30.9)	106(29.8)
	>500	89(64.0)	119(54.8)	208(58.4)
首次输血年龄	0-	78(56.1)	129(59.4)	207(58.2)
	5-	51(36.7)	62(28.7)	113(31.7)
	10-	7(5.0)	17(7.8)	24(6.7)
	>15	3(2.2)	9(4.1)	12(3.4)
输血病程(年)	0-	41(29.5)	47(21.7)	88(24.7)
	1-	55(39.6)	101(46.5)	156(43.9)
	3-	31(22.3)	45(20.7)	76(21.3)
	>5	12(8.6)	24(11.1)	36(10.1)
输血次数	<10	53(38.1)	57(26.2)	110(30.9)
	10-	42(30.3)	93(42.9)	135(37.9)
	30-	33(23.7)	48(22.1)	81(22.8)
	>60	11(7.9)	19(8.8)	30(8.4)
累计输血量(U) <sup>△</sup>	<50	66(47.5)	63(29.0)	129(36.2)
	50-	45(32.4)	111(51.2)	156(43.8)
	100-	21(15.1)	36(16.6)	57(16.1)
	>250	7(5.0)	7(3.2)	14(3.9)
能否按期输血	能	33(23.7)	56(25.8)	89(25.0)
	不能	43(30.9)	79(36.4)	122(34.3)
	不确定	63(45.4)	82(37.8)	145(40.7)
能否充足供血	能	38(27.3)	47(21.7)	85(23.9)
	不能	59(42.5)	96(44.2)	155(43.5)
	不确定	42(30.2)	74(34.1)	116(32.6)

\* $\chi^2 = 8.460, P < 0.05$ ;  $\Delta\chi^2 = 15.599, P < 0.01$ 。

**2.5** 南宁市 6 县重症地贫患儿供血方案的建立后的供血情况 南宁市辖区 6 县重症地贫患儿供血量占比县全年用血量逐年升高( $P < 0.01$ ),结果见表 5。

南宁市辖区 6 县重症地贫患儿供血量于 2013 年 3 月起逐步实施,截止 2016 年 6 月,各县重症地贫患儿用血量占比县全年用血量逐年升高( $P < 0.01$ ),结果见表 5。

**3 讨论**

本次调查中,南宁市区地贫患儿均来自市内 2 所大型三甲医院的地贫之家,其中广西医大一附院是区内医疗水准最高的公立医疗机构,而 303 医院为军队中心医院且临床用血自采自供,因而通过对 2 个地贫之家患儿的输血情况的比较,能够了解供血情况对地贫患儿治疗的影响;加上南宁市辖 6 县最近 5 年来地贫患儿输血病案的回顾性调查,便可勾

勒出南宁市地贫患儿输血的基本情况;南宁市地贫患儿遗传因素多为父母地贫基因双向遗传,患儿在在市区、县城及乡镇均有,输血费用中医保/新农合报销的比例较高,除此之外,以患儿家庭自行承担费用 $\geq 300$ 元/次者居多,多数患儿首次输血年龄 $< 10$ 岁,极少患儿输血病程 $> 5$ 年,患儿家长对于能否定期输血及足量输血持否定或不确定态度(表 2-4)。另外,南宁市输血重症地贫患儿的情况,与周边 5 城市略有差异(表 2),这与与当地的经济状况、医疗水平以及血液供



表 5 2013 年 3 月-2016 年 6 月南宁市辖 6 县地贫患儿供血情况 [地贫患儿供血量(U)/该县供血量(U), %]

	横县*	武鸣县 <sup>△</sup>	宾阳县 <sup>#</sup>	上林县 <sup>♣</sup>	马山县 <sup>▲</sup>	隆安县 <sup>◇</sup>	合计 <sup>◆</sup>
2013 年	191/9973(1.92)	-	1121/6269.5(17.88)	415/3170.5(13.09)	788/3641(21.64)	119/2190.5(5.43)	2634/33710(7.81)
2014 年	255.5/8677.5(2.94)	117/7808(1.50)	1215.5/6516.5(18.56)	479.5/2542.5(18.86)	955.5/3634(26.29)	129/2294(5.62)	3152/31472.5(10.02)
2015 年	416/9511.5(4.37)	605/7526.5(8.04)	1591/7297(21.80)	673.5/2788.5(24.15)	1431/4060.5(35.24)	143/2054(6.96)	4859.5/33238(14.62)
2016 年 1-6 月	482/5619.5(8.58)	611/4713(12.96)	869/3718(23.37)	548.5/1511.5(36.29)	860.5/2249.5(38.25)	105.5/1162.5(9.08)	3476.5/18974.5(18.32)

\* $\chi^2=405.492, P<0.01$ ;  $\Delta\chi^2=577.373, P<0.01$ ;  $\#\chi^2=43.334, P<0.01$ ;  $\clubsuit\chi^2=221.619, P<0.01$ ;  $\blacktriangle\chi^2=147.779, P<0.01$ ;  $\diamond\chi^2=18.148, P<0.01$ ;  $\blacklozenge\chi^2=1248.602, P<0.01$ 。

广西的总体经济水平相对落后,医疗水平区域性差异比较大,而广西人群中地贫基因携带者的基数较大,加上目前对于地贫的筛查,存在技术上的差异及筛查技术自身的缺陷<sup>[6-7]</sup>,使得孕妇产前筛查结果存在一定的假阴性<sup>[8]</sup>,而部分偏远地区的产妇由于对地贫知识了解不足,不愿意做产前地贫基因筛查,导致重症地贫患儿的出生。定期输血及规范输血是治疗重症地贫患儿(一般是 $\beta$ 型中重度<sup>[9]</sup>)最经济有效的方法,但我们在调查中发现,南宁地区地贫患儿供血及规范化输血难于保障,地贫患儿输血病程 $\geq 5$ 年者较少,分析原因:第一,血液供应不足,作为首府南宁汇集了全区最好的医院及医疗资源,临床用血需求大于无偿献血增长率,血液供应中长期处于紧缺阶段<sup>[10]</sup>;第二,自主寻求血液困难,重症地贫患儿父母均有遗传缺陷,不适宜通过亲友互助献血方式为孩子获得血液(南宁市也于 2017 年 3 月起停止互助献血<sup>[11]</sup>);第三,地贫患儿定期输血治疗以及常规治疗,虽然部分费用已由医保/新农合报销,但是输血的检测及输血后除铁治疗等费用较高,导致部分需要输血的地贫患儿囿于家庭经济条件而输不起血<sup>[12]</sup>;第四,部分患儿家长对地贫儿童输血治疗效果预期的悲观态度导致地贫儿童不能接受规范化输血<sup>[13]</sup>。重症地贫患血及其家庭是 1 个弱势群体,如果其基本的血液制品救治难以保障,供需矛盾升级,甚至可能引发严重的社会问题,故应该予以充分重视。

本次调查显示,输血病程 $< 3$ 年、输血次数 $< 30$ 次,输血总量 $< 100$ U的重症地贫患儿比例较大(表 2-4)。推测一是新出生的及新发现的重症地贫患儿比例较大;二是由于血液供应短缺原因,重症地贫患儿得不到规范有效输血治疗(广西医大一附院地贫之家尚不能给患儿做到高量输血,一般患儿维持 $Hb>70g/L$ 即可),他们的生存状态令人担忧。血站是公益性事业单位,保障本地重症地贫患儿血液供应是义不容辞的职责。基于我们的调查研究,本血站定了针对南宁 6 县重症地贫患儿的供血方案:卫生行政部门牵头,由献血者 $\rightarrow$ 血站 $\rightarrow$ 定点输血医疗机构 $\rightarrow$ 输血地贫患儿的链式联动机制(图 1)。从 2013 年 3 月起逐步推行实施后,各县地贫患儿的供血量逐年增加,而地贫患儿用量占全县医疗用血的比例也逐年增加,有的县甚至已 $> 35\%$ (表 5)。推测原因主要是地贫患儿能够定点输血,预约输血及规范输血<sup>[15]</sup>后,生存质量改善,随着年龄的增长,每次用量和用血频率会增加(目前地贫患儿输血目标为提升至 $Hb 90 g/L$ ),血站供血量随之相应增加。然而地贫患儿用血量的逐年增加,同时也给血站带来了巨大的供血压力,在下一步制定南宁市区重症地贫患儿供血方案时应予以充分考虑。

由于广西地区现阶段不能避免中、重型地贫患儿出生,因此对于地贫的早发现、早治疗以对儿童及父母的社会关

怀尤为重要<sup>[16-17]</sup>。但目前“地贫之家”仅设立在省会以及市级医院内,并且对于重症地贫患儿而言,其赖以生存的输血供应尚未建立长期有效的保障机制(目前国内关于地贫儿童输血情况的学术报道几乎空白),而对于那些就诊于县级医院及乡镇卫生院的重症地贫患儿的关注更缺乏。考虑到新农合政策已经把地贫的输血治疗纳入报销范围,对于来自农村的重症地贫患儿及其家庭来说,出于经济成本来考虑,县级以及以下医疗机构应当成为他们治疗的“首选”。本次调查结果发现,重症地贫患儿输血病程 $> 5$ 年者较少,推测原因:1)以往重症地贫患儿的生存状态的差劣导致患儿死亡,或患儿家庭由于经济因素及患儿的父母亲精神负担等因素放弃治疗<sup>[18]</sup>;2)一些难治性地贫患儿、非输血依赖性地中海贫血等,随着医疗水平的进步以及规范治疗,对于血液在依赖性进一步降低甚至不需要输血<sup>[19]</sup>;3)由于血液资源的紧缺以及医疗水平的差异,重症地贫患儿流动性比较大。所以给患儿唯一性编码 ID,定期输血,定点输血,规范输血治疗的方针原则显得尤为重要。

综上,我们认为解决重症地贫患儿规范输血问题,应在卫生行政部门统一部署下,施行重症地贫患儿输血属地化管理,做到唯一性编码(ID)登记在册,依据在册登记,由血站定期供血,定点输血(门诊输血),定点治疗,定点报销。由卫生行政部门主导并开展关于地贫患儿的输血情况的调查,更能为各地地贫的防治提供后端数据,其动态指标可以作为各地的开展地贫血防控的 1 个重要的考核项目。开展统一重症地贫患儿基本情况及定期输血情况的基线调查,能够了解各地在一段时间内重症地贫患儿的输血治疗现状,预测其发展趋势,同时为血站保障这些人群的是医疗用血提供依据。此外,各地血站需要依据调查的情况,制定统一的供血策略,优先保障这些儿童的医疗用血,并形成统一的长效机制。

本次研究尚有部分不足之处,第一,对南宁周边城市抽样调查的样本量较少,不能完全代表当地重症地贫患儿输血的真实情况;第二,在南宁 6 县采取的方案暂时未能在南宁市区开展。因为广西医大一附院地贫之家患儿来自广西全区,甚至周边省份,如果一步到位的给地贫患儿足量供血(提升至 $Hb>90 g/L$ ),定会造造成对 303 医院地贫之家及周边城市或省市的重症地贫患儿的“虹吸效应”,从而导致用血量的急剧增加,这也是本血站在短期内不能承受之重。对于南宁市区属地地贫患儿的供血,血站已经于 2017 年 5 月协助南宁市第六人民医院筹建了首家南宁市直医院“地贫之家”,并开始依照南宁 6 县重症地贫患儿供血方案供血,旨在优先保证南宁市属地重症地贫患儿供血;其次,与广西医大一附院地贫之家沟通,原则上要求重症地贫患儿按照属地化管理登记,预约输血。而非南宁属地的患儿,应当在患儿病情稳定

后回到属地做定期输血。如果一定要在南宁市输血治疗的,则至少要鼓励患儿家人、亲属朋友应参与南宁市以关爱地贫患儿为主题的无偿献血宣传,扩大南宁市血液来源。第三,本研究能参考及借鉴的文献极少,而国内对于重症地贫患儿保障用血方面的报道几乎空白,调研问卷设计尚有不足之处,比如统计数据均为计数资料,计量资料收集较少。本网站制定的县区重症地贫患儿的供血方案,已经确认是 1 种有效的尝试,实践证明已经满足的南宁 6 县重症地贫患儿的规范化输血治疗问题,下一步应在依据实践情况制定南宁市区的重症地贫患儿供血方案。

[本次调查研究,得到广西医科大学第一附属医院输血科、解放军 303 医院输血科、百色市中心血站、玉林市中心血站、河池市中心血站、钦州市中心血站、来宾市中心血站、南宁市辖 6 县卫生计生局医政股(排名不分先后)的大力支持和帮助,在此一并致谢!]

参 考 文 献

[1] 龙桂芳,李卫,林伟雄,等.广西  $\beta$ -地中海贫血基因型及民族地理分布与临床研究.广西医科大学学报,1993,10(3):257-261.

[2] 张新华,周艳洁,李平萍,等.广西南宁市农村育龄人群地中海贫血筛查及基因型和血液学参数分析.中华流行病学杂志,2006,27(9):765-768.

[3] 黄王莹,郭柳薇,李颖莉,等.广东广西交界地区地中海贫血发生率及基因检测结果分析.中国优生与遗传杂志,2008,16(9):12-16.

[4] 苏相耿,李彬,覃水庆,等.地中海贫血儿童供血机制的建立及指导策略.临床输血与检验,2013,15(2):184-186.

[5] 陆祝选,苏相耿,李彬.重症珠蛋白生产障碍性贫血儿童输血情况调查的意义及方法.国际检验医学杂志,2016,37(24):3516-3519.

[6] 梁一丹,龙桂芳.对导致地中海贫血基因诊断误诊罕见基因型的探讨.中国优生与遗传杂志,2014,10:4-6.

[7] 覃志坚,龙显科,王俊利,等.596 例壮族人群价地中海贫血基因突变类型分析.中国实验诊断学,2011,15(10):1668-1670.

[8] 吕荣轩,飞球,陈小文,等.常规基因检测阴性的地中海贫血疑似病例再行进一步基因检测仍有 7% 的阳性发现.中国循证儿科杂志,2014,9(4):274-277.

[9] Musallam KM, Rivella S, Vichinskiv E, et al. Non-ransfusion-dependent thalassemias. Haematologica, 2013, 98(6):833-844.

[10] 陆祝选,钟春平,蔡海岩.南宁市采供血现状调查分析.广西医学,2011,33(5):612-614.

[11] 庞兴旺,余梅,苏相耿,等.南宁市降低互助献血的调控措施及其初步成效.中国输血杂志,2016,29(9):993-996.

[12] 农彩梅,韦桂源,徐志芳.地中海贫血患儿家长的心理状况及干预研究.右江医学,2014,06:648-650+654.

[13] 刘兴玲,吴月勤,李惠森,等.123 例重型  $\beta$  地中海贫血患儿输血治疗状况的调查.护理学报,2014,21(23):19-22.

[14] 韦桂源.地中海贫血患儿家长心理健康调查.广西医学,2012,34(8):1066-1067

[15] 朱易萍.地中海贫血的规范化输血治疗.中国输血杂志,2010,12(1):4-6.

[16] 曾玉娟,韦秋华.广西南宁西乡塘区婚检中地中海贫血筛查情况.中国妇幼保健,2013,28(29):4857-4858.

[17] 蒋爱琼.来宾地区 3542 例新生儿  $\alpha$ -地中海贫血筛查结果分析.中国优生与遗传学杂志,2016,24(7):80-81.

[18] 曾丽红,耿志丽,吴小燕,等.重型  $\beta$  地中海贫血患儿及家长联谊会为提高患儿治疗依从性的意义.华南国防医学杂志,2010,24(3):230-232.

[19] 任少敏,张秀萍,王同显.非输血依赖性地中海贫血患者的输血治疗.中国输血杂志,2016,11:1293-1296.

(2016-09-26 收稿,2017-08-06 修回)

本文编辑:蔡辉

## 血型基因检测开放平台

本中心致力于非传染性输血安全和中国人群血型分子遗传背景研究,建立了血型血清学和分子遗传学血型基因检测平台。可接受疑难血型标本鉴定、RhD(-) 供者库中的 D 变异体排查以及稀有血型的确认。欢迎送检标本或科研合作等方式与本中心联系!

联系电话:028-61648522

联系人:田力 宋宁

中国医学科学院 输血研究所 临床输血研究中心 血型研究室

## 新疆柯尔克孜族献血者 7 个红细胞血型系统抗原基因多态性分析\*

乔艳辉<sup>1</sup> 依萨穆丁·吾甫尔<sup>2</sup> 吐尔洪·克维尔<sup>1</sup> 陆书云<sup>3</sup>

(1.乌鲁木齐市血液中心,新疆乌鲁木齐 830000;2.喀什地区第一人民医院;3.克孜勒苏柯尔克孜自治州中心血站)

**摘要:目的** 了解新疆柯尔克孜族人各种(类)红细胞血型系统抗原基因的多态性分布情况。**方法** 采用 PCR-SSP 方法对 113 名新疆柯尔克孜族无血缘关系的健康献血者 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt 和 Colton 7 个血型系统做基因分型,并做基因多态性分析。**结果** 本组新疆柯尔克孜族无偿献血者人群的 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt 和 Colton 7 个血型系统抗原基因频率分别为  $K=0.008\ 8(2/226)$ 、 $k=0.991\ 2(224/226)$ 、 $J_s^a=1.000\ 0(226/226)$ 、 $J_s^b=0.000\ 0(0/226)$ 、 $F_y^a=0.725\ 7(164/226)$ 、 $F_y^b=0.274\ 3(62/226)$ 、 $D_i^a=0.057\ 5(13/226)$ 、 $D_i^b=0.942\ 5(213/226)$ 、 $J_k^a=0.615\ 0(139/226)$ 、 $J_k^b=0.385\ 0(87/226)$ 、 $D_o^a=0.238\ 9(54/226)$ 、 $D_o^b=0.761\ 1(172/226)$ 、 $Y_t^a=0.946\ 9(214/226)$ 、 $Y_t^b=0.053\ 1(12/226)$ 、 $C_o^a=1.000\ 0(226/226)$ 、 $C_o^b=0.000\ 0(0/226)$ ,均符合 Hardy-Weinberg 遗传定律( $P>0.05$ ),Kell 和 Colton 基因分布与汉族、维吾尔族、回族、藏族、满族人群相似。**结论** 新疆柯尔克孜族人 Duffy、Diego、Kidd、Dombrock 和 Yt 血型系统基因频率具有独特的分布特点,Kell 和 Colton 血型系统与国内许多民族相似;Colton 血型系统基因呈单态性分布。

**关键词:**红细胞血型;基因分型;基因频率;基因多态性;柯尔克孜族,新疆**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>“237” **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0931-04

**Analysis of genetic polymorphism of 7 kinds of red blood group system in Xinjiang Khalkhas blood donors** QIAO Yanhui<sup>1</sup>, YISAMUDING WUFUER<sup>2</sup>, TUERHONG KEWER<sup>1</sup>, LU SHUYUN<sup>3</sup>. 1. Blood Center of Urumqi, Urumqi 830000, China; 2. Kashgar Region's First People's Hospital; 3. Kizilsu Kirghiz Autonomous Prefecture Blood Center.

**Abstract: Objective** To investigate gene polymorphism of Kell, Duffy, Diego, Kidd, Dombrock, Yt, and Colton blood group systems in Xinjiang Khalkhas. **Methods** The genotypes of seven blood groups of 113 samples from unrelated healthy Xinjiang Khalkhas blood donors were analyzed by polymerase chain reaction-sequence specific primer(PCR-SSP). **Results** The gene frequencies of seven blood group systems were as follows:  $K=0.008\ 8(2/226)$ 、 $k=0.991\ 2(224/226)$ 、 $J_s^a=1.000\ 0(226/226)$ 、 $J_s^b=0.000\ 0(0/226)$ 、 $F_y^a=0.725\ 7(164/226)$ 、 $F_y^b=0.274\ 3(62/226)$ 、 $D_i^a=0.057\ 5(13/226)$ 、 $D_i^b=0.942\ 5(213/226)$ 、 $J_k^a=0.615\ 0(139/226)$ 、 $J_k^b=0.385\ 0(87/226)$ 、 $D_o^a=0.238\ 9(54/226)$ 、 $D_o^b=0.761\ 1(172/226)$ 、 $Y_t^a=0.946\ 9(214/226)$ 、 $Y_t^b=0.053\ 1(12/226)$ 、 $C_o^a=1.000\ 0(226/226)$ 、 $C_o^b=0.000\ 0(172/226)$ . There was a good fit to Hardy-Weinberg equilibrium within each group. **Conclusion** The frequency distribution of Duffy, Diego, Kidd, Dombrock and Yt blood groups in Xinjiang Khalkhas has its unique characteristics. Kell and Colton have similar distribution with Han, Xinjiang Uygur, Hui, Tibet, Manchu people in China. The gene distribution of Colton is monomorphic.

**Key words:**RBC blood groups; gene type; gene frequency; Khalkhas, Xinjiang

血型是人类重要的遗传标志,红细胞血型系统在临床输血中起着重要作用,迄今为止已被国际输血协会(ISBT)确认的人类红细胞血型系统有 35 个。据报道红细胞血型系统的遗传背景具有多态性,在不同民族和地区存在差异<sup>[1]</sup>。目前除 ABO、Rh 血型系统外,其他有临床意义的血型系统如 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt、Colton,在一些地区和民族人群中的抗原频率分布尚不清楚。柯尔克孜族是我国 56 个民族之一,主要集中在新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州的 3 县 1 市内。17、18 世纪,柯尔克孜人从西伯利亚南部叶尼塞河上游流域逐渐向西南迁至天山地区(包括今日的克孜勒苏柯尔克孜自治州和吉尔吉斯斯坦国),并与这一地区的蒙古族、哈萨克族、汉族和回族等民族形成了小聚居和杂居的格局。为了解具有临床意义的红细胞血型系统基因频率在新

疆柯尔克孜族人中的分布情况,我们对无血缘关系新疆柯尔克孜族健康献血者血样做了 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt 和 Colton 基因分型,报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 随机留取新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州中心血站 2010 年 3-4 月 113 名无血缘关系的柯尔克孜族健康献血者全血标本 2 mL/(人)份(EDTA 抗凝,-20℃冻存);其中男性 64 名、女性 49 名,年龄 18-55(中位 25)岁;113 人中,初次献血者 104 名,献血≥2 次者 9 人。于 2010 年 12 月提取血样 DNA,-30℃冻存,2014 年开始试验。

**1.2 试剂与仪器** DNA 提取试剂盒(北京天根公司,批号 K9426);配组红细胞基因分型试剂盒(美国 G&T 公司,批号 B9001,含 PCR 检测的 SNP 和 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt 和 Colton 血型系统基因的 17 种引物,-20℃冰

箱预存) (表 1); Taq DNA 聚合酶 (大连宝生物, 批号 CK3102AA)。台式高速冷冻离心机 (SORVALL Fresco, 美国热电公司); PCR 扩增仪 (PE9700, 美国 ABI 公司); 凝胶自动

成像系统 (Gel Doc XR)、核酸蛋白测定仪 (SmartSpec Plus)、电泳仪 (PowerPac Basic) (美国 Bio-Rad 公司)。

表 1 配组红细胞基因分型试剂盒 PCR 检测的 SNP 和引物名称及特异性扩增产物

等位基因	碱基取代或检测的基因片段	引物名称	PCR 产物长度 (bp)	等位基因	碱基取代或检测的基因片段	引物名称	PCR 产物长度 (bp)			
Kell 血型	<i>k/K</i>	578C→T	K1 (K)	145	Diego 血型	<i>Di<sup>b</sup>/Di<sup>a</sup></i>	2561C→T	Di <sup>a</sup>	139	
			K2 (k)	145			Di <sup>b</sup>	129		
	<i>Js<sup>b</sup>/Js<sup>a</sup></i>	1790T→C	Js <sup>a</sup>	145		Yt 血型	<i>Yt<sup>a</sup>/Yt<sup>b</sup></i>	1057C→A	Yt <sup>a</sup>	213
			Js <sup>b</sup>	145				Yt <sup>b</sup>	213	
Duffy 血型	<i>Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup></i>	125G→A	Fy <sup>a</sup>	232	Dombrock 血型	<i>Do<sup>b</sup>/Do<sup>a</sup></i>	793G→A	Do <sup>a</sup>	162	
			Fy <sup>b</sup>	232			Do <sup>b</sup>	161		
	<i>Fy<sup>b</sup>/Fy<sup>a</sup></i>	-67T→C	Fy	711			Colton 血型	<i>Co<sup>a</sup>/Co<sup>b</sup></i>	134 C→T	Co <sup>a</sup>
Kidd 血型	<i>Jk<sup>a</sup>/Jk<sup>b</sup></i>	838G→A	Jk <sup>a</sup>	237	Co <sup>b</sup>	140				
			Jk <sup>b</sup>	237						

1.3 DNA 提取 严格按照血液基因组 DNA 提取试剂盒操作: OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 为 1.6-1.9, DNA 浓度稀释到 (40-60) ng/μL 备用。

1.4 PCR 扩增及电泳 将预分装的 7 种红细胞血型的 17 种引物混合液从冰箱中取出, 室温溶解, 扩增严格按照试剂盒说明书操作。扩增产物在 2% 的琼脂糖凝胶, 90 V 电泳 30 min, 凝胶成像仪下观察记录结果。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计学软件处理数据, 等位基因频率的计算和 Hardy-Weinberg 平衡的验证按文献 [2] 方法; 本组柯尔克孜族人与其他人上述 7 种红细胞血型基因频率分布比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

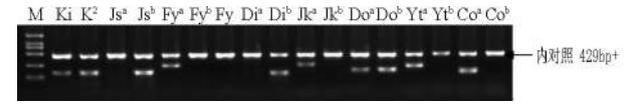
2 结果

2.1 新疆柯尔克孜人 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt

表 2 113 名新疆柯尔克孜族健康献血者 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt 和 Colton 7 个红细胞血型系统的抗原基因频率分布

基因型	观察值	频率	期望值	$\sum X^2$	<i>P</i>	基因频率	
Kell 血型	<i>k/k</i>	111	0.982 3	111.02	0.000 2	$>0.05$	<i>k</i> = 0.991 2 (2/226)
	<i>K/k</i>	2	0.017 7	1.98			
	<i>K/K</i>	0	0				
	<i>Js<sup>a</sup>/Js<sup>a</sup></i>	0	0				
	<i>Js<sup>a</sup>/Js<sup>b</sup></i>	0	0				
Duffy 血型	<i>Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>a</sup></i>	60	0.531 0	59.51	0.055 2	$>0.75$	<i>Fy<sup>a</sup></i> = 0.725 7 (164/226)
	<i>Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup></i>	44	0.389 4	44.99			
	<i>Fy<sup>b</sup>/Fy<sup>b</sup></i>	9	0.079 6	8.50			
Diego 血型	<i>Di<sup>a</sup>/Di<sup>a</sup></i>	1	0.008 9	0.37	1.210 4	$>0.25$	<i>Di<sup>a</sup></i> = 0.057 5 (13/226)
	<i>Di<sup>a</sup>/Di<sup>b</sup></i>	11	0.097 3	12.25			
	<i>Di<sup>b</sup>/Di<sup>b</sup></i>	101	0.893 8	100.38			
Kidd 血型	<i>Jk<sup>a</sup>/Jk<sup>a</sup></i>	39	0.345 2	42.74	2.215 3	$>0.10$	<i>Jk<sup>a</sup></i> = 0.615 0 (139/226)
	<i>Jk<sup>a</sup>/Jk<sup>b</sup></i>	61	0.539 8	53.51			
	<i>Jk<sup>b</sup>/Jk<sup>b</sup></i>	13	0.115 0	16.75			
Dombrock 血型	<i>Do<sup>a</sup>/Do<sup>a</sup></i>	7	0.061 9	6.45	0.080 3	$>0.75$	<i>Do<sup>a</sup></i> = 0.238 9 (54/226)
	<i>Do<sup>a</sup>/Do<sup>b</sup></i>	40	0.354 0	41.09			
	<i>Do<sup>b</sup>/Do<sup>b</sup></i>	66	0.584 1	65.46			
Yt 血型	<i>Yt<sup>a</sup>/Yt<sup>a</sup></i>	101	0.893 8	101.32	0.3571	$>0.25$	<i>Yt<sup>a</sup></i> = 0.946 9 (214/226)
	<i>Yt<sup>a</sup>/Yt<sup>b</sup></i>	12	0.106 2	11.36			
	<i>Yt<sup>b</sup>/Yt<sup>b</sup></i>	0	0	0.32			
Colton 血型	<i>Co<sup>a</sup>/Co<sup>a</sup></i>	113	1		0	$>0.975$	<i>Co<sup>a</sup></i> = 1.000 0 (226/226)
	<i>Co<sup>a</sup>/Co<sup>b</sup></i>	0	0				
	<i>Co<sup>b</sup>/Co<sup>b</sup></i>	0	0				

和 Colton 7 个红细胞血型系统的抗原基因分型 (示例) 见图 1。



注: 该例 Kell、Duffy、Diego、Kidd、Dombrock、Yt、Colton 血型系统基因型分别为 *K/k*、*Js<sup>b</sup>/Js<sup>b</sup>*、*Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>a</sup>*、*Di<sup>b</sup>/Di<sup>b</sup>*、*Jk<sup>a</sup>/Jk<sup>a</sup>*、*Do<sup>a</sup>/Do<sup>b</sup>*、*Yt<sup>a</sup>/Yt<sup>a</sup>*、*Co<sup>a</sup>/Co<sup>a</sup>*

图 1 1 名新疆柯尔克孜族人 7 个红细胞血型系统基因型电泳

2.2 新疆柯尔克孜族人 7 个红细胞血型系统的抗原基因频率分布 经验证本组 113 名新疆柯尔克孜族健康献血者的 7 个血型基因分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 (表 2)。

2.3 新疆柯尔克孜族与国内不同地区人群 7 种血型基因频率分布比较 见表 3-4。

表 3 113 名新疆柯尔克孜族健康献血者与中国不同地区人群 Kell, Duffy, Diego, Kidd, Dombrock 和 Colton 血型基因频率分布比较

	n	红细胞血型系统基因频率											
		k	K	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Di <sup>a</sup>	Di <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Do <sup>a</sup>	Do <sup>b</sup>	Co <sup>a</sup>	Co <sup>b</sup>
新疆柯尔克孜族	113	0.991 2	0.008 8	0.725 7*	0.274 3	0.057 5 <sup>△</sup>	0.942 5	0.615 0 <sup>#</sup>	0.385 0	0.238 9 <sup>▲</sup>	0.761 1	1.000 0	0.000 0
新疆维吾尔族 <sup>[3]</sup>	158	0.984 2	0.015 8	0.699 4	0.300 6	0.047 4	0.952 6	0.541 2	0.452 6	0.234 2	0.765 8	0.994 0	0.005 9
新疆回族 <sup>[4]</sup>	220	0.993 2	0.006 8	0.872 7	0.127 3	0.015 9	0.984 1	0.495 5	0.504 5	0.138 6	0.861 4	0.993 2	0.006 8
西藏藏族 <sup>[1]</sup>	409	1.000 0	0.000 0	0.921 8	0.078 2	0.034 2	0.965 8	0.551 3	0.448 7	0.150 4	0.849 6	0.997 6	0.002 4
四川彝族 <sup>[5]</sup>	120	/	/	0.945 8	0.029 2	0.016 7	0.983 3	0.525 0	0.475 0	0.125 0	0.875 0	1.000 0	0.000 0
黑龙江满族 <sup>[6]</sup>	173	1.000 0	0.000 0	0.872 0	0.069 6	0.026 0	0.974 0	0.482 7	0.517 3	/	/	/	/
成都汉族 <sup>[7]</sup>	332	1.000 0	0.000 0	0.951 8	0.048 2	0.040 7	0.959 3	0.442 8	0.557 2	0.066 3	0.933 7	1.000 0	0.000 0

\* 与新疆回族、西藏藏族、四川彝族、黑龙江满族及成都汉族比较,  $\chi^2$  值分别为 21.890, 64.164, 53.869, 40.883 及 91.284,  $P < 0.05$ ;  $\Delta$  与新疆回族、四川彝族比较,  $\chi^2$  值分别为 8.876, 5.527,  $P < 0.05$ ; # 与新疆回族、黑龙江满族及成都汉族比较,  $\chi^2$  值分别为 8.586, 9.631 及 20.031,  $P < 0.05$ ;  $\blacktriangle$  与新疆回族、西藏藏族、四川彝族及成都汉族比较,  $\chi^2$  值分别为 10.515, 9.866, 10.226 及 51.306,  $P < 0.05$ 。

表 4 新疆柯尔克孜族健康献血者与中国不同地区人群 Yt 血型基因频率分布比较

	n	Yt <sup>a</sup>	Yt <sup>b</sup>
新疆柯尔克孜族	113	0.946 9*	0.053 1
新疆维吾尔族 <sup>[8]</sup>	362	0.932 3	0.067 7
新疆塔吉克族 <sup>[9]</sup>	100	0.940 0	0.060 0
宁夏回族 <sup>[10]</sup>	300	0.991 7	0.008 3
西藏藏族 <sup>[10]</sup>	303	0.998 3	0.001 7
西安汉族 <sup>[11]</sup>	220	0.990 9	0.009 1
南京汉族 <sup>[12]</sup>	2015	0.999 8	0.000 2

\* 与宁夏回族、西藏藏族、西安汉族、南京汉族比较,  $\chi^2$  值分别为 16.319, 28.327, 10.52, 196.280,  $P < 0.05$ 。

3 讨论

PCR 技术的发明, 基因多态性各种检测方法的不断出现, 使得红细胞血型研究已从血清学检测进入了分子生物学领域。Kell 血型系统是第 1 个由抗球蛋白试验发现的红细胞血型, K 和 k, Js<sup>a</sup> 和 Js<sup>b</sup> 是 2 组具有等位基因关系的抗原, 抗-K 可引起严重的输血反应和新生儿溶血病。K 基因频率在中国各民族人群中均较低, 属稀有血型抗原基因, 如各地汉族人群为 0-0.000 3<sup>[13-14]</sup>, 少数民族中新疆维吾尔族和回族、青海撒拉族的 K 基因频率分别为 0.015 8、0.006 8、0.002 3<sup>[3-4, 15]</sup>, 西藏藏族、黑龙江满族、青海土族和蒙古族中 K 基因频率均为 0<sup>[1, 6, 15]</sup>。本组 113 名新疆柯尔克孜族健康献血者均为 Js<sup>b</sup>/Js<sup>b</sup>, K 基因频率为 0.008 8, 与国内报道的各地区人群分布特点相似。

Duffy 血型系统主要含 Fy<sup>a</sup> 和 Fy<sup>b</sup> 2 种多态性抗原, 它们的差异在于 1 个错义突变导致的单一氨基酸改变 (G125A>Gly42Asp)<sup>[16]</sup>, 其相对应的抗体均能引起急性或迟发溶血性输血反应。Duffy 血型抗原在不同人群中的频率差异很大, 有明显的种族差异性<sup>[17]</sup>。本组新疆柯尔克孜族献血人群 Fy<sup>a</sup> 与 Fy<sup>b</sup> 基因频率分别为 0.725 7、0.274 3, 与新疆维吾尔族相似, Fy<sup>b</sup> 基因频率明显高于新疆回族、西藏藏族、四川彝族、黑龙江满族和成都汉族人群 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

Di<sup>a</sup> 和 Di<sup>b</sup> 是 Diego 血型系统最具有临床意义的 1 对抗原, 其多态性表现在带 3 蛋白基因 SLC4A119 外显子 2561 位上碱基 C>T 的突变。抗-Di<sup>a</sup>, 抗-Di<sup>b</sup> 是 Diego 血型最有临床意义的红细胞同种异型抗体, 可引起轻重程度不等的新生儿溶血病 (HDN) 和溶血性输血反应<sup>[18]</sup>。Di<sup>a</sup> 和 Di<sup>b</sup> 抗原分布有明

显的种族差异性, 在蒙古人种中 Di<sup>a</sup> 基因频率较高, 而在高加索人和黑人中却非常罕见。本组新疆柯尔克孜族献血人群 Di<sup>a</sup> 基因频率与我国成都汉族、黑龙江满族、西藏藏族和新疆维吾尔族相近, 但较新疆回族和四川彝族有明显差异 ( $P < 0.05$ )<sup>[1, 3-7]</sup> (表 3)。

Jk<sup>a</sup> 和 Jk<sup>b</sup> 是 Kidd 血型系统的 1 对等位基因, 在所有人群中显现出多态性<sup>[19]</sup>。Jk<sup>a</sup> 和 Jk<sup>b</sup> 等位基因频率接近, 调查显示欧洲白人中多数 Jk<sup>a</sup> 频率略高于 Jk<sup>b</sup>, 在东亚地区人群中则普遍是 Jk<sup>b</sup> 频率略高于 Jk<sup>a</sup><sup>[20]</sup>。而本组新疆柯尔克孜族献血人群 Jk<sup>a</sup> 和 Jk<sup>b</sup> 等位基因频率却呈现与新疆维吾尔族、西藏藏族、四川彝族和浙江畲族人群 ( $Jk^a = 0.560 0, Jk^b = 0.440 0$ ) Jk<sup>a</sup> 略高于 Jk<sup>b</sup> 相同的分布规律<sup>[3, 1-6, 21]</sup>, 明显不同于新疆回族、黑龙江满族和成都汉族人群 Jk<sup>b</sup> 略高于 Jk<sup>a</sup> 的规律<sup>[4, 6-7]</sup> (表 3)。

Dombrock 血型系统是 1 个发现较晚的血型, 东亚人种 Do<sup>a</sup> 抗原的表达频率远低于欧美人种, 基因频率存在明显差异<sup>[22]</sup>。本组新疆柯尔克孜族健康血型人群 Do<sup>a</sup> 和 Do<sup>b</sup> 基因频率除了与新疆维吾尔族人相近外, 与我国其他地区人群比较均有明显的差异 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

Yt 血型系统主要由 Yt<sup>a</sup> 和 Yt<sup>b</sup> 2 种抗原组成, 抗原表达存在地区差异, 美国黑人和白人人群的 Yt<sup>b</sup> 等位基因频率相对较高, 而日本人群中尚发现 Yt<sup>b</sup><sup>[8]</sup>。Yt<sup>b</sup> 基因频率在我国不同地区、民族频率分布较低。新疆柯尔克孜族健康献血人群 Yt<sup>a</sup> 和 Yt<sup>b</sup> 等位基因频率与新疆维吾尔族和塔吉克族人<sup>[8-9]</sup> 相近, Yt<sup>b</sup> 基因频率略高于国内其他人群, 尤其与宁夏回族、西藏藏族、及西安与南京汉族人明显不同<sup>[10-12]</sup> ( $P < 0.05$ ) (表 4)。

Colton 血型抗原位于水通道蛋白 AQP1 上, 仅有 1 种多态性, 即 1 个高频抗原 Co<sup>a</sup> 和 1 个低频抗原 Co<sup>b</sup>。国内目前仅有在新疆维吾尔族、回族和塔吉克族人群中检测到 Co<sup>a</sup> 和 Co<sup>b</sup> 等位基因<sup>[3-4, 23]</sup>, 而在已报道的部分四川彝族、浙江畲族、云南裕固族以及部分地区汉族人群 Colton 血型分布调查中都只检测到 Co<sup>a</sup> 基因, 无 Co<sup>b</sup> 基因<sup>[5-6, 22, 24]</sup>。本组新疆柯尔克孜族健康献血人群 Colton 血型同样呈单态性分布 (表 2)。

综上所述, 本组调查数据显示, 新疆柯尔克孜族 Duffy、Diego、Kidd、Dombrock 和 Yt 血型系统基因频率分布具有独特的分布特点; Kell 和 Colton 血型系统基因分布与国内汉族、维吾尔族、回族、藏族、满族人群相似, Colton 血型抗原呈单态性分布。我们的研究不仅有助于了解新疆柯尔克孜族人稀

有血型遗传背景、民族迁徙情况有意义,而且对涉及该民族的临床用血、组织配型、器官移植等方面工作也有重要意义因检测资金有限致研究标本数量受到限制是该研究的不足,细致深入的讨论尚待扩大标本量进一步研究。

参 考 文 献

[1] 张嵘,田力,李晓娟.西藏藏族人群多个红细胞血型系统基因多态性研究.中国输血杂志,2014,27(5):505-507.

[2] 郑秀芬.概率学统计学基础与 DNA 遗传标记系统参数计算//郑秀芬.法医 DNA 分析.北京:中国人民公安大学出版社,2002:383-387.

[3] 林国跃,杜小璐,单金晶,等.中国新疆维吾尔族人群 MNS、Duffy 和 Kell 等稀有血型的基因分子遗传分析.中国组织工程研究,2016,20(1):123-127.

[4] 林国跃,杜小璐,单金晶,等.中国新疆回族人 9 种稀有血型系统基因频率调查研究.新疆医科大学学报,2016,39(8):1026-1031.

[5] 辛友畔,田力,宋宁,等.四川地区彝族 ABO 等 8 个血型的分子遗传学研究.中国输血杂志,2013,26(1):41-45.

[6] 刘杰,郝露萍,赵素珍,等.黑龙江省满族 10 个红细胞血型系统群体遗传特征调查分析.黑龙江医药科学,2000,23(6):46-48.

[7] 洪纓,巩天祥,周昌华,等.成都地区献血人群 Kell 等 9 个血型系统抗原基因分型研究.中国输血杂志,2012,25(8):763-766.

[8] 谢莉,贺云蕾,库热西江,等.多重 PCR 筛选 K、Yt<sup>b</sup> 血型抗原的方法研究.中华医学遗传学杂志,2014,31(1):78-81.

[9] 沈传伟,易婷曲.PCR-SSP 法检测 100 例新疆塔吉克族 Yt 血型基因血样.地方病通报,2005,20(3):83.

[10] Liu M, Jiang D, Liu S, et al. Frequencies of the major alleles of the Diego, Dombrock, Yt, and Ok blood group systems in the Chinese Han, Hui, and Tibetan nationalities. Immunohematology, 2003, 19(1):22-25.

[11] 刘孟黎,蒋冬玲,刘晟.西安地区汉族 Yt 血型基因频率研究.中国输血杂志,2005,15(5):320-321.

[12] 陈妍,马玲,陈宝安,等.南京地区汉族人群 Yt<sup>b</sup> 血型抗原基因频率的调查与分析.中国输血杂志,2014,27(10):1018-1019.

[13] Liu Z, Zeng R, Chen Q, et al. Genotyping for Kidd, Kell, Duffy, Scianna, and RHCE blood group antigens polymorphisms in Jiangsu Chinese Han. Chin Med J, 2012, 125(6):1076-1081.

[14] 包于勤,丁苏鄂,谢云峥,等.10057 例上海地区献血者 K 抗原频率的调查.临床输血与检验,2003,5(3):203-204.

[15] 贾嫫.高海拔地区四民族 Kell 系统血型分布.临床检验杂志,2005,23(1):56.

[16] Iwamoto S, Omi T, Kajii E, et al. Genomic organization of the glycoprotein D gene: Duffy blood group Fya/Fyb alloantigen system is associated with a polymorphism at the 44-amino acid residue. Blood, 1995, 85(3):622-626.

[17] 苏宇清,陈晓明,梁延连,等.深圳人群 Duffy 血型基因多态性的研究.中国输血杂志,2013,4(26):335-338.

[18] 张金菊,李勇,蒙青林.人类红细胞血型 Diego (DI, O10) 研究进展.中国输血杂志,2014,27(6):670-673.

[19] 杰夫·丹尼尔(英).Kidd 血型系统//杰夫·丹尼尔.朱自严,主译.人类血型.2 版,北京:科学出版社,2007:409-411.

[20] 吴筱莹,何颖军,林志铭,等.Kidd 血型抗原基因定型技术的建立与初步应用.广东医学,2011,23(32):3066-3068.

[21] Yan L, Zhu F, Fu Q, et al. ABO, Rh, MNS, Duffy, Kidd, Yt, Scianna, and Colton blood group systems in indigenous Chinese. Immunohematology, 2005, 21(1):10-14.

[22] 刘孟黎,刘晟.西安地区汉族 Dombrock 血型的基因分型研究.中国输血杂志,2003(16)4:256-257.

[23] 祝宏,吴亚玲,刘晋辉,等.新疆塔吉克族 Colton 血型系统基因型分析.浙江预防医学,2006,18(3):64-66.

[24] 陈妍,马玲,刘衍春.中国南京地区汉族人群 Colton 血型等 4 个血型系统稀有血型的初步调查.中国实验血液学杂志,2015,23(5):1474-1477.

(2016-09-08 收稿,2017-08-08 修回)

本文编辑:蔡辉

《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》出版

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

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

(《中国输血杂志》编辑部)

## 佛山市顺德区无偿献血者核酸检测情况分析

夏传友 刘志泉 陈永飞 梁丽雯(佛山市顺德区中心血站,广东 佛山 528300)

**摘要:目的** 分析顺德区无偿献血者核酸检测(NAT)结果,了解顺德地区核酸检测(NAT)呈反应性结果人群分布情况。**方法** 采用美国罗氏全自动 NAT 检测分析系统,对 2015 年 1 月~2016 年 12 月血站经 2 遍不同厂家 ELISA 检测及 ALT 检测,结果均呈非反应性的献血者 58 715 人份血液标本进行 HBV、HCV、HIV 3 项 NAT 联检,对检出有反应性的混样池进行单人份拆分。**结果** 在 58 715 例 2 遍不同厂家 ELISA 检测及 ALT 检测均呈非反应性的血液标本中,共检测 9 786 个标本混样池,其中 116 个混样池呈反应性,混样池阳性率为 1.19% (116/9786);对混样呈反应性的混样池所属标本进行拆分单检,呈反应性的标本为 69 例,拆分阳性反应率为 59.48% (69/116)。NAT 检测出 69 例 HBV-DNA 呈反应性,标本阳性率为 0.12% (69/58715),HCV-RNA 和 HIV-RNA 的结果均呈非反应性;在 69 例 HBV-DNA 呈反应性的标本中,按男女性别、户籍、献血次数等因素进行分析统计,均具有统计学差异( $P < 0.05$ )。**结论** 目前顺德地区血清学 ELISA 检测合格血液中的输血传播疾病风险主要是输血感染 HBV;通过进行核酸检测,可以分析掌握 HBV、HCV、HIV 在本区献血人群中的分布规律,调整有关献血招募策略,有助于进一步提高血液安全。

**关键词:**核酸检测(NAT);酶联免疫吸附试验(ELISA);无偿献血者

**中图分类号:**R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0935-03

**Nucleic acid test analysis of voluntary blood donors in Shunde District of Foshan** XIA Chuanyou, LIU Zhiquan, CHEN yongfei, LIANG Liwen. Shunde Blood Center, Foshan 528300, Guangdong, China.

**Abstract: Objective** Our purpose is to analyze the results of nucleic acid test (NAT) performed on voluntary blood donors in an effort to map out the overall distribution of NAT-positive patients in Shunde. **Methods** A parallel test was performed on all donor samples collected from January 2015 to December 2016. We collaborated with two service providers to cover ELISA reagents tests and ALT detection. 58 715 ELISA and ALT dual-negative blood samples were picked and moved on to a joint test for HBV/HCV/HIV, following the Roche Cobas's 201 system protocol. Automated detection algorithms was applied to all six mixed-sample pools. Each pool would be further analyzed for single sample separation if determined reactive. **Result** The 58715 samples were divided into 9786 sample pools, of which, 116 were determined reactive with a rate of 1.19% ((116/9 786). 69 blood samples were later found positive and reconfirmed by NAT to be HVB-DNA positive, which presents a positive rate of 0.12% (69/58 715). These cases were closely analyzed based on factors of gender, registration location and individual blood donation records. The significant difference is described by value P, which, in this case, was less than 0.05. **Conclusion** At present, the major infection source in the ELISA qualified samples in Shunde district is HBV. We believe that by analyzing the distribution of HBV, HCV and HIV in blood donors and adjusting the sample process strategy of blood donation can improve blood safety in this region.

**Key words:** nucleic acid test (NAT); enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); voluntary blood donors

输血传播感染性疾病的预防和控制是全社会关注的焦点。目前,我国采供血机构主要采用酶联免疫吸附试验(ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay)检测相关病毒的抗原或抗体,但由于“窗口期”、病毒变异、免疫静默感染等造成“漏检”,使得输血传播疾病的风险仍然存在<sup>[1-3]</sup>。近年来发展的高度敏感、高度特异的核酸检测技术(NAT, nucleic acid amplification testing),目前已成为发达国家和部分发展中国家血液筛查检测的常规内容,2010 年卫生部启动我国核酸血液筛查试点工作<sup>[4]</sup>。为进一步保证输血安全,提高血液及其血液制品的质量,本站从 2015 年 1 月正式将 NAT 纳入血液安全放行。对献血者的血液标本进行血清学检测,进

行 2 遍不同厂家 ELISA 检测及 ALT 检测,结果均呈非反应性的血液标本再进行核酸(NAT)联合检测,现将检测情况报告如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 研究对象** 2015 年 1 月~2016 年 12 月本血站采集的且经 2 遍不同厂家 ELISA 检测及 ALT 检测,结果均呈非反应性的无偿献血者血液标本 58 715 份,总人数 42 357 人,其年龄为 18~60 岁,男性 26 925 人、女性 15 432 人。献血者健康体检均符合国标《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)。**1.2 标本采集及运输** 献血者血液采集后留取 2 支血液标本,第 1 支采用 EDTA-K<sub>2</sub>真空抗凝管留取 5 mL,用于 ELISA、ALT、血型等检测,第 2 支采用 EDTA-K<sub>2</sub>带分离胶真空抗凝管

留取 8 mL 用于 NAT 检测。运送时标本放置于冷藏储存箱, 温度控制在 2-10℃, 4 h 内离心, 72 h 内完成检测。

**1.3 试剂与仪器** ELISA 试剂盒: HBsAg 诊断试剂盒(美国雅培、厦门英科新创); 抗-HCV 诊断试剂盒(美国强生、厦门英科新创); HIV 抗原/抗体诊断试剂盒(美国伯乐、上海科华); 抗-TP 诊断试剂盒(厦门英科新创、上海科华)。以上试剂盒均有中国生物制品检定所批批检及防伪标签, 外部质控品由北京康彻斯坦生物有限公司提供。ALT 试剂盒由贝克曼公司提供, 外部质控品由英国朗道公司提供。NAT 试剂盒: 核酸定性筛查试剂盒(Cobas TaqScreen MPX Test/MPX v2.0) 由美国罗氏公司提供; 核酸 HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA1 阳性标准质控品由北京康彻斯坦生物有限公司提供。上述试剂、质控品均在有效期内使用。ELISA 采用全自动酶免分析仪(FAME 24/20); 全自动加样仪(Xantus-44/OH-200)。NAT 筛查和 NAT 确证系统都采用 Roche Cobas201 全自动核酸提取扩增检测系统; Hamilton STAR 6908 全自动混样仪; CobasAmpliPrep 395252 核酸提取仪及 Cobas-Taqman Analyzer 393098 核酸扩增检测仪; 台式低速冷冻离心机(ROTANTA 460R); 生物安全柜(Heal Force); 全自动试管开盖机(Biogain)。所有设备使用前进行了校准和维护, 维护包括日维护、周维护、月维护。

**1.4 检测流程** 采用 2 种不同厂家的试剂以 ELISA 方法对 HBsAg、抗-HCV、HIV 抗原/抗体、抗-TP 进行检测, 采用速率法对 ALT 进行检测; 对上述检测项目呈非反应性的血液标本采用 Cobas TaqScreen MPX Test 进行 1 遍 NAT; 并对单项呈反应性的标本做 NAT 拆分单检试验。

**1.5 核酸检测策略** 用全自动加样仪和全自动核酸提取、扩增检测系统对标本混合(pool)检测: 每个 1 级混样池(pool)包含 6 个纳入 NAT 检测的无偿献血者标本, 每个标本取 167 μL 血浆至一级混样池, 全自动混样仪加样; 一级混样池标本采用 Cobas TaqScreen MPX Test, v 2.0 试剂; 在全自动核酸提取仪中应用 MGP 磁珠分离技术原理提取核酸, 核酸扩增检测仪扩增检测 HBV、HCV、HIV 靶序列, 在 PDM 服务器(Roche Cobass201 系统自带的服务器)中自动判读结果, 每组检测均设置质控对照(HBV/HCV/HIV-1、HIV-2、HIV-M 及阴性对照), 每个一级混样池均含内对照(IC); 全自动核酸提取、扩增检测系统检出呈反应性的一级混样池拆分为 6 个组, 组成该一级混样池的原始标本做单标本检测, 单标本检测呈反应性则判定为 NAT 反应性, 单标本检测呈非反应性则判定为 NAT 非反应性。

**1.6 统计分析** 采用 SPSS20.0 统计学软件, 性别、户籍、献血次数等计数资料组间率的比较采用卡方检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 2 遍不同厂家 ELISA 及 ALT 检测均呈非反应性的血液标本 NAT 结果见表 1。**

对 58 715 例经 2 遍不同厂家 ELISA 检测及 ALT 检测均呈非反应性的血液标本进行 NAT 检测, 共检测 9 786 个标本混样池, 其中 116 个混样池呈反应性, 混样池阳性率为

1.19% (116/9786); 对混检呈反应性的混样池所属标本进行拆分单检, 呈反应性的标本为 69 例, 拆分阳性率为 59.48% (69/116)。NAT 检测出有 69 例 HBV-DNA 呈反应性, 标本阳性率为 0.12% (69/58715), HCV-RNA 和 HIV-RNA 的结果均呈非反应性。

**表 1 2 遍不同厂家 ELISA 检测及 ALT 检测均呈非反应性血液标本的 NAT 结果**

	抗-HBV	抗-HCV	抗-HIV
ELISA、ALT 检测均呈非反应性标本数	58 715	58 715	58 715
NAT 呈反应性标本数	69	0	0
阳性率(%)	0.12	0	0

**2.2 69 例 NAT 检测 HBV-DNA 反应性无偿献血者的性别、年龄段、户籍、献血次数及受教育程度情况 见表 2。**

**表 2 69 例 NAT 检测 HBV-DNA 反应性无偿献血者的一般资料情况**

分类要素	无偿献血人数	NAT 反应性人数	NAT 阳性率(%)	
性别*	男	26 925	53	0.20
	女	15 432	16	0.10
户籍**	本地	23 034	26	0.11
	外地	19 323	43	0.22
献血次数***	首次	22 835	27	0.12
	多次	19 522	42	0.22
年龄段(岁)	18-	9 566	4	0.04
	26-	13 618	12	0.09
	36-	12 579	28	0.22
	46-	6 346	25	0.39
	56-60	178	0	0
受教育程度	小学	794	4	0.50
	初中	9 461	19	0.20
	高中	15 905	25	0.16
	大专	9180	10	0.11
	大学	5879	5	0.09
	研究生	325	1	0.31
其他	812	5	0.62	
合计	42 357	69	0.16	

\* 性别组间进行比较,  $\chi^2 = 5.235, P < 0.05$ ; \*\* 户籍组间进行比较,  $\chi^2 = 7.769, P < 0.05$ ; \*\*\* 献血次数进行比较,  $\chi^2 = 6.076, P < 0.05$

**3 讨论**

输血安全的主要风险之一就是被筛查病毒的窗口期, NAT 是在分子生物学水平基础上直接对病原体核酸进行检测, 是血液中病原体存在的最直接证据。研究表明, 通过 NAT 检测, 可将输血传播 HBV、HCV 和 HIV 的 ELISA 检测窗口期分别由原来的 56、70 和 22 d 缩短至 41、12 和 11 d<sup>[5]</sup>, 而且不受病毒变异、个体免疫因素影响, 使输血感染相关病毒的风险降到最低, 极大程度地保障血液安全。因此, 国外很多国家, 如美国、德国、荷兰、新加坡等很早就开展了 NAT 检测。

本研究分析结果显示, Cobass201 检测系统完成了 58 715 例血液标本的 NAT 检测, 共检测 9 786 个标本混样池, 其中 116 个混样池呈反应性, 混样池阳性率为 1.19% (116/9786), 对混检呈反应性的混样池所属标本进行拆分单检, 呈反应性的标本为 69 例, 拆分阳性率为 59.48% (69/116), NAT 检测出 69 例 HBV-DNA 呈反应性, 标本阳性率为 0.12%

(69/58 715), 低于合肥地区的 0.24%<sup>[6]</sup>, 但高于沈阳地区的 0.014%<sup>[7]</sup>; HCV-RNA 和 HIV-RNA 的结果均呈非反应性; 说明 NAT 检测对 HBV 窗口期感染最有意义, 这与我国是乙型肝炎高感染区, 感染人群基数大有关, 也与刘德春等<sup>[8]</sup>报道的一致。而且有研究发现, 隐匿性 HBV 感染与 HBV 血清转换前窗口期献血者是造成 HBsAg 筛查后输血传播感染 HBV 的主要原因<sup>[3]</sup>, 这也是传统 ELISA 血清学检测方法中, HBV 漏检率高于 HCV 与 HIV 的原因之一。由表 2 数据分析, 69 例 NAT 检测 HBV-DNA 反应性无偿献血者的在不同性别、户籍、献血次数的分布中, 均具有统计学意义。男性献血者阳性者率高于女性献血者, 可能是由于在社交活动、生活习惯不同, 男性暴露于危险因素的途径和机会更多有关<sup>[9]</sup>。在 42 357 例无偿献血者户籍与 NAT 检测结果的关系分析中, 本地、外地户籍的无偿献血者所占比例分别为 54.38% (23 034/42 357) 和 46.62% (19 280/42 357); 本地组与外地组阳性率分别为 0.11% 和 0.22%, 其差异具有统计学意义, 主要原因可能是由于顺德地区近几年外籍流动人口比例大, 大部镇街的外籍流动人口数接近甚至超过本地户籍人口数, 而流动人口主要以农民工为主, 研究表明农民工有较高的乙肝病毒携带率, 与农民工居住环境卫生条件差相关<sup>[10]</sup>。按献血次数统计, 在首次及多次献血人群中, 阳性率分别 0.12% 和 0.22%, 具有统计学差异。值得注意的是, 2015 年度的首次及多次献血人群阳性率分别为 0.09% 和 0.17%, 2016 年度的首次及多次献血人群阳性率分别为 0.14% 和 0.05%。分析其原因, 估计是由于 2015 年起开始进行核酸检测, 淘汰该部分反应性多次献血人群后, 2016 年的多次献血人群阳性率与 2015 年相比呈下降趋势。一般认为, 招募多次献血者, 可有利于保证血液质量, 降低输血传播疾病发生的几率, 而在本站开展核酸检测的初期, 淘汰了既往未检出危险因素的多次献血者, 保留了危险因素相对较低的多次献血者, 更大程度地保障了临床用血安全。按照年龄段分析阳性率, 除 56-60 岁年龄段外, 呈现随着年龄段的递增阳性率逐渐升高的趋势, 主要集中在 36-45 岁、46-55 岁这两个年龄段, 阳性率分别为 0.22% 和 0.39%, 考虑与乙肝疫苗普遍接种的免疫策略有关, 随着乙肝疫苗免疫防治对象范围的扩大, 政府大力开展乙肝防治的宣传教育, 因此使得低龄的献血人群比大龄献血人群感染乙肝的几率降低<sup>[11]</sup>。按受教育程度分类, 可以发现, 从小学至大学学历, 随着文化程度的提高, 阳性率呈下降趋势; 研究生学历献血人群的阳性率为 0.31%, 较初中、高中、大专、大学学历献血人群高, 其原因估计是因为研究生学历献血人群基数较少, 即使检出 1 例反应性标本, 也会导致阳性率偏高。通过上述分析情况, 在本地区开展献血招募时, 面对广大献血人群可适当增加防治乙肝的相关资讯; 同时, 面向特定人群可有针对性地进行宣教, 如在外来人口密集的镇街, 针对 36-55 岁之间年龄段的男性献血者, 可加强宣传, 使有乙肝接触史、暴露史等有潜在危险的献血者自动放弃献血。同时, 面向高学历人群进行招募, 动员首次献血人群积极献血的同时注意保留多次献血人群, 有望可通过相

关措施有效地降低危险因素。献血招募是 1 个周期长、见效慢的过程, 希望通过适时调整献血招募策略, 可以从源头减少高危献血者, 保障血液安全。

尽管 NAT 从理论上并不能完全消除感染“窗口期”, 但病毒核酸转阳之前的血液传染性极低, 可以有效地预防经输血传播病毒性疾病<sup>[12]</sup>。随着 NAT 技术在临床检验中应用的日趋完善和成熟, NAT 技术的灵敏度和特异性已经能够满足血液筛查的目的, 应用该技术进行血液筛查能够显著的缩短病原体检出的窗口期。此外, NAT 检测技术的应用, 虽然使血液检测成本大大增加, 但相比受血者的身体健康、公众效应、诉讼成本来说还是利大于弊, 所以说开展核酸检测筛查血液对减少输血传播感染性疾病的残余风险意义重大。综上所述, 通过 NAT 检测应用于献血者血液筛查, 从而掌握 HBV、HCV、HIV 在顺德区献血人群中的分布规律, 有助于进一步提高血液安全, 从而降低病毒经输血传播的风险, 提高输血安全系数, 保障人民群众的身体健康。

### 参 考 文 献

- [1] Busch MP, Keinman SH, Jackson S, et al. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion transmitted infections diseases. *Transfusion*, 2000, 40(2): 143-159.
- [2] Soldan K, Davison K, Dow B. Estimates of the frequency of HBV, HCV, and HIV infections donations entering the blood supply in the United Kingdom, 1996-2003. *Euro Surveil*, 2005, 10(2): 17-19.
- [3] Allain JP. Occult hepatitis B virus infection; implications in transfusion. *Vox Sang*, 2009, 86(2): 83-91.
- [4] 中华人民共和国卫生部办公厅(卫办医政函[2010]226号). 关于开展 2010 年血站核酸检测试点的通知.
- [5] 刘强, 钱榕, 彭继红, 等. 病毒核酸检测在采供血机构血液筛查中的应用. *实验与检验医学*, 2010, 28(4): 375-382.
- [6] 程卫芳, 张浩, 周学勇, 等. 核酸检测在合肥地区献血者血液筛查中的应用. *临床输血与检验*, 2016, 18(5): 471-474.
- [7] 王芳, 金钊, 林松峰, 等. 核酸检测在血液 HBV 筛查中的应用研究. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(4): 795-851.
- [8] 刘德春, 孙波, 徐群, 等. 核酸检测技术与酶联免疫检测技术在血液筛查中的初步应用比较. *中国输血杂志*, 2007, 20(1): 43-45.
- [9] 刘建华, 蔡衍珊, 陈健, 等. 广州市自然人群乙型肝炎流行现状分析. *中国疫苗和免疫*, 2010, 16(5): 438-442.
- [10] 匡宝玉, 李霞, 梁意引, 等. 顺德地区乙型肝炎感染者调查. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(6): 1576-1579.
- [11] 李建杰, 洪佳冬. 2006-2013 广州乙型肝炎流行病学分析. *现代预防医学*, 2015, 42(8): 1363-1366.
- [12] Mitsunaga S, Fujimura K, Matsumoto C, et al. High-through put HBV-DNA and HCV-RNA detection system using a nucleic acid purification robot and real-time detection PCR: its application to analysis of post transfusion hepatitis. *Transfusion*, 2002, 42(1): 322.

(2017-02-17 收稿, 06-20 修回)

本文编辑: 夏玲

· 论著 ·

# 对千人口献血率概念的应用和修正探讨

常纓 张燕 赵凤绵 李文策 崔玉兰 杨建强 李玮 卢丽芬(河北省血液中心, 河北 石家庄 050071)

**摘要:**目的 通过对石家庄地区人口结构分析,千人口献血率概念在采供血中的应用效果进行探讨,结合中心采供血发展趋势,设定血源招募的合理发展方向,有效提升血液采集效能。**方法** 对 2012-2015 年石家庄地区人口以适龄献血段为界进行上下划分,计算千人口献血率(‰)、千人口献血量(‰)和适龄献血人群千人口献血率(‰),并对有关人口数据进行统计学分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。**结果** 近年来,石家庄地区未成年组和老年组人口占比呈逐年增加趋势,适龄献血组人口占比逐年下降,未来几年适龄献血组人口继续保持减少趋势。**结论** 以常住人口为基数测算得出的千人口献血人数、千人口献血人次和千人口献血量 3 个比率值具有显著差异,其中,适龄献血千人口献血人次/人数/献血量比率能更好地反映当地血站的血源募集能力,适宜作为血站行业之间的比对指标。采供血机构应以适龄献血人群献血率为核心指标,通过增加适龄人群献血频率和提高 400 mL 采集率等合理措施提升采血效能。

**关键词:**千人口献血率,千人口献血量,血源招募策略

**中图分类号:**R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0938-03

世界卫生组织将千人口献血率 (donations per thousands) 作为评价 1 个国家或地区血液供应水平重要指标,但是目前国内对千人口献血率的概念有不同的解释和应用,有的是以献血人数占常住人口数的千分率,有的是以献血人次占常住人口数的千分率<sup>[1]</sup>,还有的是以献血量占常住人口数的千分率<sup>[2]</sup>。3 种解释意义不同,得出的数值截然不同。究竟哪种解释更能有效反映本地区血液采集水平和发展趋势?我们分析了 2012-2015 年石家庄地区的人口年龄结构和变化趋势,比较了每年献血者总人数、献血者总人次和献血量分别与石家庄地区常住人口的千分率,通过对不同概念的“千人口献血率”的比较,探讨了未来几年能够反映采供血事业发展、血源招募方向的千人口献血率,以保障临床血液供应,报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 一般资料** 石家庄地区 2012-2015 年不同年龄段人口数量资料来源于河北省统计局。献血人数、献血人次、固定献血者血量以及献血者总血量等数据来源于 2012 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日,河北省血液中心计算机现代血站管理信息系统。

**1.2 计算公式** 千人口献血人数比率(‰)=献血人数÷常住人口数×1000‰<sup>[1]</sup>。千人口献血人次比率(‰)=献血人次÷常住人口数×1000‰<sup>[1]</sup>。千人口献血量比率(‰)=献血量÷常住人口数×1000‰<sup>[2]</sup>。适龄献血人口差值=未成年人口数量-适龄人口数量;老年组人口差值=适龄献血组人口数量-老年组人口数量。未成年组指<18 周岁,适龄献血组指 18-55 周岁,老年组指>55 周岁。固定无偿献血者是指至少献过 3 次血,且近 12 个月内献血至少 1 次,并承诺未来 1 年

之内再次献血的的无偿献血者。

**1.3 统计学分析** 对 2015 年<18 周岁未成年组人口数量和 18-55 周岁适龄献血组人口数量做全样本年度分组统计对比。适龄献血人口差值与老年组人口差值之间做配对样本 *t* 检验,献血人数、人次、血量之间的千分率分别做配对样本 *t* 检验。

## 2 结果

**2.1 本市未成年组人口情况** 见表 1。未成年组人口数量逐年增加,占比呈上升趋势(图 1)。

表 1 2012-2015 年石家庄市未成年组人口情况

	未成年组(n)	总人口(n)	占比(%)
2012 年	2 020 352	10 386 000	19.45
2013 年	2 126 603	10 499 800	20.25
2014 年	2 224 405	10 616 200	20.95
2015 年	2 244 779	10 701 600	20.97

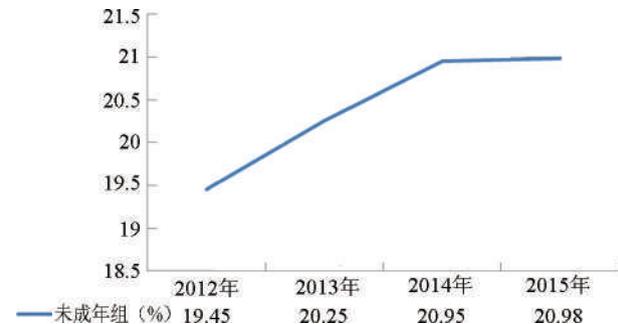


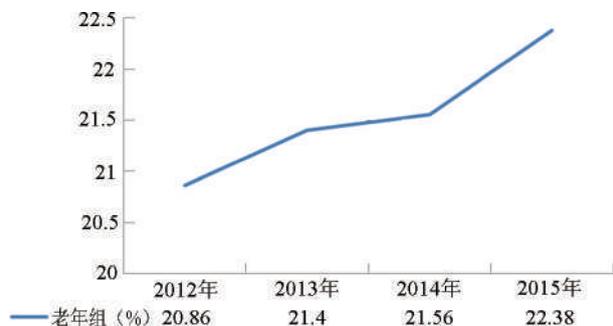
图 1 石家庄未成年组人口比例发展趋势

**2.2 本市老年组人口情况** 见表 2。老年组人口数量逐年增加,占比呈上升趋势(图 2)。

**2.3 适龄献血组人口情况** 见表 3。适龄献血组人口数量逐年减少,伴随石家庄市总人口数量逐年增加,适龄献血组人口占比呈下降趋势(图 3)。

**表 2** 2012-2015 年石家庄市老年组人口情况

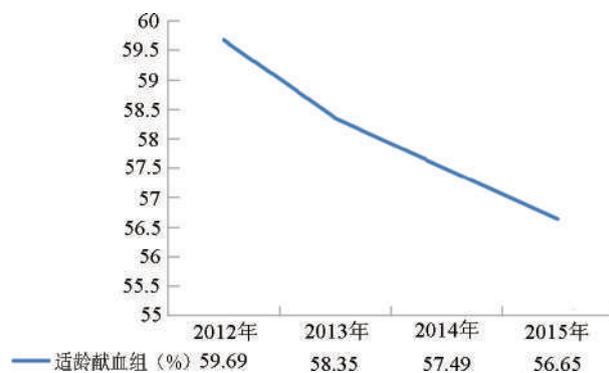
	老年组人口(万)	总人口(万)	占比(%)
2012年	2 166 282	10 386 000	20.86
2013年	2 246 736	10 499 800	21.40
2014年	2 289 197	10 616 200	21.56
2015年	2 395 721	10 701 600	22.38



**图 2** 石家庄市老年组人口比例发展趋势

**表 3** 2012-2015 年石家庄市适龄献血组人口情况

	适龄献血人口(n)	总人口(n)	占比(%)
2012年	6 201 445	10 386 000	59.69
2013年	6 128 696	10 499 800	58.35
2014年	6 104 830	10 616 200	57.49
2015年	6 063 341	10 701 600	56.65



**图 3** 石家庄市适龄献血组人口比例发展趋势

**2.4 未来 15 年各年龄段人口变化情况** 未来 15 年(2016-2030 年),未成年组(3-17 周岁段)人口进入适龄献血组、适龄献血组(41-55 周岁段)人口进入老年组,及 2 组差值的变化情况(来自 2015 年的人口数据)见表 4。

未来 15 年,适龄献血组平均人口数大于未成年组和老年组人口数量平均值( $P < 0.05$ ),但进入适龄献血组人口数量平均值显著小于进入老年组人口数量平均值( $P < 0.05$ ),除了 2017 年和 2030 年外,每年未成年组人口数量进入适龄献血组的人口数量,均小于适龄献血组人口数量进入老年组人口的数量,提示适龄献血组人口数量呈现下降趋势。

**表 4** 石家庄未来 15 年各年龄段人口情况

未成年组 年龄(岁)	人口数 (n)	适龄献血组 年龄(岁)	人口数 (n)	老年组 年龄(岁)	人口数 (n)	未来 15 年	适龄献血 人口差值	老年组 人口差值
3	176 087	41	118 028	56	115 912	2030 年	58 059	2 117
4	126 031	42	136 842	57	139 832	2029 年	-10 811	-2 990
5	147 617	43	160 414	58	143 739	2028 年	-12 797	16 675
6	152 585	44	173 516	59	144 661	2027 年	-20 931	28 854
7	142 477	45	189 739	60	141 553	2026 年	-47 262	48 186
8	134 917	46	164 387	61	136 024	2025 年	-29 470	28 363
9	125 245	47	179 262	62	128 295	2024 年	-54 017	50 967
10	120 536	48	143 288	63	124 859	2023 年	-22 752	18 429
11	120 035	49	163 761	64	113 683	2022 年	-43 726	50 078
12	85 642	50	173 754	65	105 961	2021 年	-88 112	67 793
13	108 479	51	171 091	66	98 782	2020 年	-62 612	72 308
14	99 057	52	216 005	67	85 530	2019 年	-116 948	130 475
15	99 922	53	148 049	68	81 868	2018 年	-48 127	66 182
16	87 418	54	78 859	69	75 760	2017 年	8 559	3 099
17	86 610	55	109 672	70	70 509	2016 年	-23 062	39 163
均值	120 844±26 837*		155 111±34 225		113 798±26 124*		-34 267±40 715*	41 313±34 708

注: $t_{未/献血人口}$ 、 $t_{献/老人口}$ 、 $t_{献/老年差值}$  分别是 3.260、4.610、3.986,均为  $P < 0.05$

未来 15 年适龄献血组人口数量减少情况见图 4。除 2017 年和 2030 年进入适龄献血组人口数量增加之外,其他年份适龄献血组人口数量均在减少,2019 年将会减少至最低点。



**图 4** 未来 15 年适龄献血组人口减少趋势

**2.5 2012-2015 年献血者人数、人次和献血量及其千分率情况对比** 2012-2015 年总人口中献血者总人数、总人次、献血量及其千分率见表 5,4 年来,献血人数、献血人次和献血量的千分率平均值分别是 13.22±0.30、15.79±0.47 和 29.54±1.23。除 2012 年外,在石家庄总人口连续增长、献血总量逐年增加的情况下,千人口献血量比率不升反降;献血总人数及千分率则呈双降趋势;只有献血者总人次及千分率稳步提升。2012-2015 年适龄献血人群中献血者总人数、总人次、献血总量千分比见表 6。

**3 讨论**

通过表 1-3 可见,石家庄总人口数量逐年增加,其中未成年组和老年组人口数量逐年增加,适龄献血组人口数量逐

年减少;图 1-3 显示,未成年组人口占比在激增后趋稳,老年组人口占比持续增加,适龄献血组人口占比则呈逐年明显下

降趋势。目前本地区整体人口分布比例大约是:未成年组:适龄献血组:老年组=1:3:1,呈现为纺锤形分布。

表 5 2012-2015 年石家庄献血者(人数/人次)占总人口千分率

	总人口	献血者总人数	%e(人数)	献血者总人次	%e(人次)	献血总量	%e(U)
2012 年	10 386 000	134 044	12.91	156 873	15.1	288 108.5	27.74
2013 年	10 499 800	142 900	13.61	167 476	15.95	312 057.5	29.72
2014 年	10 616 200	140 831	13.27	169 830	16	322 768	30.4
2015 年	10 701 600	140 074	13.09	172 516	16.12	324 122	30.29
均值	/	/	13.22±0.30*	/	15.79±0.47*	/	29.54±1.23*

注:t 人次/人数=13.520,t 人数/血量=29.407,t 人次/血量=35.185

表 6 石家庄献血者(人数/人次)占适龄献血组千分率

	适龄献血组人数	献血者总人数	%e(人数)	献血者总人次	%e(人次)	献血总量	%e(U)
2012 年	6 201 445	134 044	21.61	156 873	25.30	288 108.5	46.46
2013 年	6 128 696	142 900	23.32	167 476	27.33	312 057.5	50.92
2014 年	6 104 830	140 831	23.07	169 830	27.82	322 768	52.87
2015 年	6 063 341	140 074	23.10	172 516	28.45	324 122	53.46
均值	/	/	22.78±0.78*	/	27.22±1.36*	/	50.93±3.17*

注:t 值分别是 11.924,22.493,25.962,均为 P<0.05

表 4 显示,未来 15 年,未成年组人口进入适龄献血组的人口数量小于适龄献血组人口进入老年组人口数量,而且有统计学差异(P<0.05),即:因整体岁数结构变化,退出适龄献血组的人口数量大于新进入的数量,作为血源开发来源的适龄献血组人口数量呈下降趋势,而且将持续减少。一方面,说明人口老龄化趋势远比 30-50 年的预期要快。另一方面,随着 2 孩儿政策的放开,15 年后未成年组人口可能会增加,可能会逐渐扭转哑铃型人口分布结构。但也不排除由于生活成本不断提高等社会因素影响,今后一段时期增幅能否继续维持上升,尚不可知。而适龄献血人口组作为人口年龄结构的中坚力量,上有老下有幼,上下负担都很重,能否完全承担起本地区在未来 1 个时期的血源保障责任,至少从当前人口占比的数据看,需持审慎态度。

表 5 显示,2012-2015 年献血人数千分率、献血人次千分率和献血量千分率平均值各不相同(分别是 13.22‰、15.79‰和 29.54‰),除 2012 年数据偏低外,献血总人数和千分率下降,符合适龄献血组人口数量和人口占比逐年减少的趋势;在献血总量逐年增加的情况下,献血量千分率变化并不呈完全正相关,其主要原因是地区人口总数增长起到拖滞作用,说明千人口献血量也不能准确反映本地区血液采集水平和发展趋势<sup>[1]</sup>;作为国内通用的献血者总人次及其千分率,均呈现上升趋势,如果以此公式定位,石家庄市千人口献血率(15.79‰)已达到世界发达国家水平(13.3‰-64.6‰)的范围<sup>[3]</sup>。

表 6 显示,作为日常血源招募的适龄献血人群,在 4 年来人群总数下降的前提下,献血人数千分率相应呈现正相关降低趋势,而献血人次千分率和献血量千分率则稳步提高,因此,能更准确地体现本中心对采血目标人群的开发状况和采集效能。

未来几年,总体人口结构上两端增大、中间减少的两极分化趋势将继续增大,伴随而来的还有二孩生育、老年疾病等手术用血需求的持续增加,如何更好地、有针对性地做好适龄献血人群的血源开发,应成为各级采供血机构必须着手解决的现实问题。作为无偿献血政策制定部门,应当考虑修

订现行法规政策,在保障献血者身体健康的前提下,适度缩短献血间隔,有条件的放宽献血年龄,延缓适龄献血人口的减少趋势。作为采供血机构,则应将工作重点放在发展更多的适龄健康人群成为献血者,进而通过改善献血服务行为等措施,尽可能挽留献血者,同时,要在符合法律规范条件下,通过增加献血者人次、提高 400 mL 采集率等措施,保持采血量合理增长,满足临床用血的需求。

综上所述,千人口献血人数、千人口献血人次和千人口献血量 3 个比率定义内涵不同,应用效果也不同,以常住人口为基数测算的千人口献血人次/人数比率主要反映出 1 个城市献血的参与程度,与国家卫生计生委的口径一致,可以与当地其它公共卫生指标,如:千人口床位数、医生/护士数,某一疾病的发病率相呼应;千人口献血量比率则客观反映对 1 个城市所有年龄人群血液需求的保障程度,更能体现血站针对当地医疗机构用血需求的供血能力。对采供血机构而言,单纯以千人口献血人次比率衡量自身血源招募水平,容易模糊了目标开发人群的界限,而人群目标更为明晰的适龄千人口献血率能更好地反映了本地区的血源发展趋势和血液采集效能。建议采供血机构在业绩指标评价体系中补充增加适龄千人口献血率(人次/人数/献血量),在日常工作中更加关注本地区人口的变化趋势,将更多的精力发展目标人群开发上,大力发展和巩固固定献血者队伍,增加献血人次和提高 400 mL 采集率,才是血源招募推动采供血事业良性发展的方向。

参 考 文 献

[1] 尹湧华.中位数-频数分步法应用于我国千人口献血率的评估.中国输血杂志,2015,28(3),299-301.  
 [2] 上海市血液中心文件.关于征求《<输血医学常用术语>修改单》意见的函.沪血发[2016]40 号  
 [3] GDBS. Summary report 2011. Geneva, WHO,2011:1-9.

(2017-03-06 收稿,06-20 修回)

本文编辑:夏玲

# 临床输血病历质量精准评估与分析

王晓平<sup>1</sup> 杨君青<sup>2</sup>(1.邯郸市第一医院 输血科,河北 邯郸 056002;2.秦皇岛市中心血站)

**摘要:目的** 通过规范严格的输血病例管理,提高病历书写质量,为临床输血安全提供保障。**方法** 制订输血病历检查量化评分标准,对 1 009 份临床输血病历进行评估分析。**结果** 2014 年 1 月至 2015 年 6 月 1 009 份临床输血病史中缺陷病历数为 179 份(占 17.7%)。随着每季度检查深入,总缺陷病历、一级缺陷病历与二级缺陷病历出现率逐渐下降,直至 2015 年第二季度分别降至 14.2%、2.1%、1.6%( $P < 0.05$ )。然而,三级缺陷病历出现率下降不明显( $P > 0.05$ )。临床输血病历的病程记录输血指征不合理 35 份(占 19.6%),无输注过程情况描述 23 份(占 12.8%),无临床症状描述或输血后疗效评 17 份(占 9.5%)。**结论** 临床输血病历检查与督导以及培训相关人员是提高输血病历质量,保障输血安全的有效手段。

**关键词:** 临床输血;病历;检查

**中图分类号:** R457.1 R197.323.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0941-03

**Accurate assessment and analysis of medical cases on blood transfusion** WANG Xiaoping<sup>1</sup>, YANG Junqing<sup>2</sup>. 1. The First Hospital of Handan, Handan 056002, China; 2. Qinhuangdao Blood Transfusion Center.

**Abstract: Objective** To improve the quality of medical case through strict case management of blood transfusion and to provide additional security for transfusion.**Methods** 1 009 transfusion cases were attached to this study and a scoring system was constructed to quantify them. **Results** Between January 2014 and June 2015, 179 defective cases were reported (account for 17.7%). Then, quarterly supervision and inspection and overall defective cases were strengthened; defective cases of level 1 and 2 were decreased. So in the second quarter of 2015, overall defective cases, defective cases of level 1 and 2 only accounted for 14.2%, 2.1%, 1.6% ( $P < 0.05$ ). However, it had no significantly change on the prevalence of cases of level 3 ( $P > 0.05$ ). There were 35 cases (which accounted for 19.6%). The transfusion indications of which were not reasonable. There were 23 cases (which accounted for 12.8%), and of which, the descriptions of blood transfusion were blank. There were 17 cases (which accounted for 9.5%), of which, clinical symptoms and evaluation of transfusion were absent.**Conclusion** Supervision and inspection are valid methods to provide security for transfusion and improve the quality of blood transfusion cases.

**Key words:** transfusion; case; inspection

临床输血病历是临床医师对患者进行临床输血治疗的原始记录,是医疗事故或纠纷认定是非的重要依据<sup>[1]</sup>。提高临床输血病历的书写质量,不断完善和细化医院临床用血的管理制度<sup>[2]</sup>,定期检查输血病历,是保障临床输血安全的主要手段之一。我院是三级甲等医院,尽管输血治疗一直严格执行了《临床输血技术规范》和《医疗机构临床用血管理办法》的要求,但规范书写临床输血病历一直以来也是输血治疗上的一个薄弱环节。为此我院临床用血管理委员会定期对临床输血病历进行检查并全院公示,对于发现的问题限期整改,并根据情节轻重给予相应的处罚或奖励。一年多来取得了良好的效果,现总结如下。

## 1 资料来源与方法

**1.1 资料来源** 2014 年 1 月-2015 年 6 月全院输血病历 1 009 份。

**1.2 病历检查方式与标准** 临床用血管理委员会指定专门医务人员,经过严格培训。每季度随机调取各用血科室临床输血病历进行检查,包括:输血治疗知情同意书、输血前检测、输血适应证评估、病程记录、输血后疗效评价、输血过程管理等。对检查标准进行量化评分(表 1)。根据出现缺陷后果的严重程度将检查项分级,一级缺陷为严重缺陷,二级缺陷为较严重缺陷,三级缺陷为一般缺陷。

**1.3 统计学处理** 数据采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 缺陷病史情况** 2014 年 1 月-2015 年 6 月 1 009 份临床输血病史中缺陷病历数为 179 份(占 17.7%)。随着每季度检查深入,总缺陷病历、一级缺陷病历与二级缺陷病历出现率逐渐下降,直至 2015 年第二季度分别降至 14.2%、

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.025

△作者简介:王晓平(1962.01-),女,副主任技师,本科,主要从事临床输血血型血清学研究,电话:15631006165, Email: sxk5235@163.com; △通信作者:杨君青(1973.07-),女,副主任技师,本科,主要从事临床输血血型血清学研究,电话:13623340860, Email: 13623340860@126.com

2.1%、1.6% ( $P < 0.05$ )。然而,三级缺陷病历出现率下降不明显 ( $P > 0.05$ )。

表 1 输血病历检查量化评分标准 (总分:100 分)

项目	检查内容及分值	扣分
1 输血治疗知情同意书(10分)	1.1 无“输血治疗知情同意书”或“无患者或家属签字”★	10
	1.2 有“输血治疗知情同意书”但内容填写不全或不正确(包括签字时间未精确到分钟、检测结果未以阴性或阳性填写、输血检测结果未回报但签字时未注明)一项不合格▲	5
2 输血前检测(10分)	2.1 未做输血前相关检查项目或项目不全(包括血型及肝功能、乙肝五项、HCV、HIV、TP 抗体等相关检测)▲	10
	2.2 有医嘱无检验报告单▲	5
	2.3 无医嘱有检验报告单	3
3 输血适应证评估(30分)	3.1 无相关检验报告单	5
	3.2 无临床表现描述	5
	3.3 输血指征不合理★	20
4 病程记录(15分)	4.1 有输血治疗,病程记录无记载★	15
	4.2 输血病程记录不完整	
	4.2.1 病历首页无血型或填写不全	2
	4.2.2 病程记录(包括输血原因、血型、输注成分、输注量)缺项▲	5
	4.2.3 无输注过程情况描述	2
	4.2.4 临时输血医嘱时间、品种、数量与输血记录(病程记录、护理记录、输血申请单、输血记录单、配发血报告单)不一致	2
5 输血后疗效评价 20分	4.2.5 手术输血患者手术记录、麻醉记录、护理记录无出血量、输血记录	2
	4.2.6 手术出血量与输血量、发血量信息不一致	2
	5.1 无检验报告单	5
	5.2 无临床症状描述或输血后疗效评估	5
	5.3 每次未制定输注无效性后续治疗方案	4
	6 输血过程管理(10分)	6.1 无输血前双人核对记录★
7 输血不良反应监测(5分)	6.2 血液从发出到开始输血超过 30 min	3
	6.3 血液从发出到输血结束超时限	2
	7.1 有输血不良反应报告单,病程记录和护理记录中无相关输血不良反应和评估处理记录▲	3
	7.2 病程记录中有输血不良反应和评估处理记录但未填写输血不良反应报告单▲	2

备注:标记“★”者为一级缺陷,标记“▲”者为二级缺陷,无标记者为三级缺陷

表 2 2014 年 1 月-2015 年 6 月临床输血缺陷病史情况

年份	季度	病例数	缺陷病历		一级缺陷病历		二级缺陷病历		三级缺陷病历		缺陷病历平均
			病例数	百分比(%)	病例数	百分比(%)	病例数	百分比(%)	病例数	百分比(%)	
2014 年	第 1 季度	151	37	24.5	15	9.9	8	5.3	14	9.3	94.08
	第 2 季度	169	39	23.1	13	7.7	15	8.9	12	7.1	93.99
	第 3 季度	164	28	17.1	9	5.5	7	4.3	12	7.3	94.28
	第 4 季度	170	25	14.7	8	4.7	2	1.2	13	7.6	95.04
2015 年	第 1 季度	165	23	13.9	6	3.6	4	2.4	13	7.9	95.79
	第 2 季度	190	27	14.2	4	2.1	3	1.6	20	10.5	96.44
总计		1 009	179	17.7	55	5.5	37	3.67	90	8.9	94.94

2.2 缺陷病历不足之处 临床输血病历的病程记录输血指征不合理 35 份(占 19.6%),无输注过程情况描述 23 份(占 12.8%),无临床症状描述或输血后疗效评 17 份(占 9.5%)。

### 3 讨论

输血病历的规范书写,体现了临床对完整的输血过程的控制和医院对临床输血标准化管理,是保障患者输血安全,避免医疗纠纷,保护医务人员的重要证据。<sup>[3]</sup>根据《医疗事故处理条例》当患者因输血引发医疗纠纷被诉讼时,法律认定医疗机构是否存在过错,首先是医院是否遵守了输血的法律法规,具有法律效力的就是输血病历。输血病历的书写质量既能反映出临床科学合理用血的水平,也是临床医师病历书写技巧和能力的体现。加强输血病历的标准化、规范化,是减少输血安全隐患,确保临床输血安全的重要工作,必须引起高度的重视。

本文资料显示临床输血病历中存在的问题是:输血治疗

同意书填写不规范;输血指征不合理;无输血过程记录或记录不规范;临时医嘱与输血病程记录不一致;无输血疗效评估;输血反应未上报等。暴露出个别医生临床输血法规、规范把握不准,科学合理输血知识欠缺,输血病历书写流程模糊不清等问题。我院在严格执行《河北省病历书写规范》的同时又制定了多项规章制度和操作规程,主要包括:《临床输血病程记录规范》、《临床用血前评估和用血后疗效评价制度》、《输血全过程的血液管理制度》、《临床输血管理实施细则》等。定期进行全院的输血专项培训,并针对不同科室病历检查中发现的问题进行科室专项培训。在 18 个月中举办全院性临床输血专项培训 6 次,各临床科室输血相关专项指导培训 215 次,内容涉及有关输血法规、临床科学合理用血前沿知识、院内规章制度等。另外,还利用院周会、科周会、早餐会、交班会等形式开展临床合理输血教育。对检查出的缺陷病历在院报和医院内网上逐一进行公示并与科室的质量考核挂钩。医院临床输血委员会督促相关科室制定整改

措施,限期整改。本文资料显示通过一系列检查督导与整改,病历检查中一级缺陷和二级缺陷发生率明显下降,二级缺陷也降到了 2% 以下,三级缺陷仍时有发生。因此,我们认为临床输血病历管理是一项持续改进工作。

表 3 179 份缺陷病历问题汇总

		检查内容及分值	缺陷数
1	输血治疗知情同意书	1.1 无“输血治疗知情同意书”或“无患者或家属签字”	4
		1.2 有“输血治疗知情同意书”但内容填写不全或不正确(包括签字时间未精确到分钟、检测结果未以阴性或阳性填写、输血检测结果未回报但签字时未注明)	21
2	输血前检测	2.1 未做输血前相关检查项目或项目不全(包括血型及肝功能、乙肝五项、HCV、HIV、TP 抗体等相关检测)	4
		2.2 有医嘱无检验报告单	5
		2.3 无医嘱有检验报告单	3
3	输血适应证评估	3.1 无相关检验报告单	11
		3.2 无临床表现描述	13
		3.3 输血指征不合理	35
4	病程记录	4.1 有输血治疗,病程记录无记载	15
		4.2 输血病程记录不完整	
		4.2.1 病历首页无血型或填写不全	2
		4.2.2 病程记录(包括输血原因、血型、输注成分、输注量)缺项	6
		4.2.3 无输注过程情况描述	23
		4.2.4 临时输血医嘱时间、品种、数量与输血记录(病程记录、护理记录、输血申请单、输血记录单、配发血报告单)不一致	12
4.2.5	手术输血患者手术记录、麻醉记录、护理记录无出血量、输血量记录	5	
		4.2.6 手术出血量与输血量、发血量信息不一致	1
5	输血后疗效评价	5.1 无检验报告单	13
		5.2 无临床症状描述或输血后疗效评估	17
6	输血过程管理	6.1 无输血前双人核对记录	4
		6.2 血液从发出到开始输血超过 30 min	0
		6.3 血液从发出到输血结束超时限	0
7	输血不良反应监测	7.1 有输血不良反应报告单,病程记录和护理记录中无相关输血不良反应和评估处理记录	3
		7.2 病程记录中有输血不良反应和评估处理记录但未填报输血不良反应报告单	7

## 参 考 文 献

- [1] 胡妙菲,张伟强,鄢丽娜,等.1100 份临床输血病历病程记录规范性调查.临床血液学杂志,2014,27(11):1053-1055
- [2] 俞松意,沈健.临床输血病历质量评估与探讨.临床血液学杂志

2013,26(10):961-693

- [3] 林建成,沈雨青,马东礼,等.临床输血病历缺陷分析与防范对策.临床血液学杂志,2014,27(8):715-716

(2016-10-19 收稿,2017-04-01 修回)

本文编辑:李弘武

## 《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目

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

· 论著 ·

# 洛阳地区 2 798 份无偿献血影响因素调查问卷统计分析

马红丽 李会侠 朱丽莉 吕运来(洛阳市中心血站,河南 洛阳 471000)

**摘要:目的** 探讨洛阳地区人群无偿献血行为的相关影响因素,为促进本地区无偿献血工作持续发展提供理论依据。**方法** 采用知信行(KAP)模式理论设计问卷调查表,选取 2014 年 1 月-2015 年 12 月 4 个市区采血屋、6 个县采血屋为调查地点,随机向被调查者发放问卷调查表,发放问卷 3 200 份,回收有效问卷 2 798 份,对被调查者的一般情况、献血认知和态度、献血动机和行为进行统计分析。**结果** 2 798 份被调查者中献血者 1 472 份、未献血者 1 326 份;两者比较,性别、年龄、文化程度、职业  $P$  值均  $<0.05$ ;献血者中男性比例 58.91% 高于女性 41.09%;25-34 周岁年龄段参与献血最多为 32.40%;职业划分,农民占比例最高为 30.43%;被调查者相关知识的知晓率最高是 71.77%,献血者和未献血者比较  $P < 0.05$  差异有统计学意义;在了解献血知识的来源途径方面,以街头献血屋和献血车为最高占 56.83%;献血者献血动机以奉献爱心比例最高占 70.99%;献血者对专业技能的满意率最高为 87.64%;愿意再次参加献血的比例为 86.14%;首选到固定采血点献血的比例为 66.24%;48.85% 的献血者献血目的是奉献爱心不需要回报。**结论** 针对不同人群制定多样化的宣传策略,多渠道全方位的加大宣传力度,提高广大群众对无偿献血知识的知晓率,创建更安全、卫生、温馨的献血场所,营造良好的献血氛围,吸引更多的人群加入到无偿献血队伍中来。

**关键词:**知信行(KAP);无偿献血;影响因素;洛阳

**中图分类号:**R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0944-03

**Statistical analysis of the questionnaire of the influencing factors of 2 798 Unpaid Blood Donation in Luoyang** MA Hongli, LI Huixia, ZHU Lili, LV Yunlai, Luoyang Blood center, Luoyang 471000, China

**Abstract: Objective** To analysis the influencing factors of the voluntary blood donation in Luoyang, to provide the theory basis for the sustainable development of blood donation. **Methods** To according to the known nobuyuki (KAP) theory design the questionnaire, to select the 4 blood collection rooms in city and 6 blood collection rooms in counties of between January 2014 and December 2015, Randomly send 3 200 questionnaires and recycling 2 798 effective questionnaires, to statistical analysis the factors of the blood donors. **Results** Blood donors were 1 472 and no blood donors were 1 326 in 2 798 respondents, both comparison, the gender and age and level of education and professional were statistically significant; The male proportion is higher than women in blood donors; The age group of 25 to 34 years of blood donors is the most (32.40%); The proportion of the farmers of blood donors is the highest(30.43%); The awareness of the relevant knowledge in the respondents is the highest(71.77%); About blood donation knowledge way, the blood donations of the streets is the highest (56.83%); The proportion of the dedication of love is the highest (70.99%) in the donation motives; In the aspect of professional skills, the satisfaction rate of the blood donors is the highest (87.64%); The proportion of willing to once again to participate in blood donation is 86.14%; The proportion of preferred to fixed blood collection point is 66.24%. **Conclusion** To develop the propaganda strategy of diversified for different people, to increase publicity efforts and improve the awareness rate of the donation knowledge of general population, to set up the blood donation site of more safe, health, warm; To create a good atmosphere and attract more people to join the team of blood donation.

**Key words:**know nobuyuki (KAP); unpaid blood donation; influence factor; luoyang

随着医疗体制改革的深化和输血事业发展,临床用血需求快速增长,血液供需矛盾日益突出,为更好地建立一支固定的无偿献血队伍,我们采用知信行(KAP)模式理论系统开展了洛阳地区人群无偿献血行为影响因素的调查研究,旨在为本地区无偿献血工作的宣传、招募策略提供具体的理论依据和指导性建议。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 自 2014 年 1 月-2015 年 12 月,选取 4 个市区采血屋、6 个县采血屋咨询或者献血的健康人群,年龄在 18-55 周岁之间。

**1.2 方法** 按照知信行(KAP)的理论设计问卷调查表,包括被调查者的一般情况、献血认知和态度、献血动机和行为 3 部分。由经过培训的调查人员现场发放问卷、现场回收问卷。共发放问卷 3 200 份,回收问卷 3 185 份,有效问卷 2 798 份,有效回收率 87.44%。

**1.3 数据处理** 有效问卷统一录入 Excel 表,使用 Excel 软件对数据资料进行整理归纳,应用 SPSS17.0 统计软件进行统计学处理,2 个或多个样本率的比较采用  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$ , $P$  值 $<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果(表 1-7)**

**表 1 被调查对象基本特征** ( $n=2\ 798$ )

人口学特征	调查人数	献血人群 (%)	未献血人群 (%)	
性别	男	1 531(48.68)	867(58.91)	664(50.08)
	女	1 267(51.32)	605(41.09)	662(49.92)
年龄(岁)	18-24	756(27.02)	297(20.18)	459(34.62)
	25-34	879(31.42)	477(32.40)	402(30.32)
	35-44	684(24.45)	408(27.72)	276(20.81)
	45-55	479(17.12)	290(19.70)	189(14.25)
	65-74	100(3.58)	52(3.43)	48(3.58)
文化程度	初中及以下	798(28.52)	432(29.35)	366(27.60)
	高中/中专	657(23.48)	364(24.73)	293(22.10)
	大专/本科	1 282(45.82)	629(42.73)	653(49.25)
	研究生及以上	61(2.18)	47(3.19)	14(1.06)
职业	工人	696(24.87)	378(25.68)	318(23.98)
	农民	863(30.84)	448(30.43)	415(31.30)
	学生	395(14.12)	119(8.08)	276(20.81)
	军人	26(0.93)	21(1.42)	5(0.38)
	公务员	64(2.29)	48(3.26)	16(1.21)
	教师	69(2.47)	46(3.12)	23(1.73)
	个体	165(5.90)	102(6.93)	63(4.75)
	医务人员	102(3.65)	76(5.16)	26(1.96)
	公司职员	311(11.12)	172(11.68)	139(10.48)
	外来务工	107(3.82)	62(4.21)	45(3.39)

注:献血人群和未献血人群比较,性别  $\chi^2$  值 = 4.00,  $P$  值 = 0.046 < 0.05; 年龄  $\chi^2$  值 = 10.48,  $P$  值 = 0.015 < 0.05; 文化程度  $\chi^2$  值 = 46.80,  $P$  值 = 0.000 < 0.05; 职业  $\chi^2$  值 = 93.82,  $P$  值 = 0.000 < 0.05

**表 2 被调查者对相关法律法规内容知晓情况** ( $n=2\ 798$ )

献血相关法律法规知识	总知晓人数 (知晓率%)	献血人群 (知晓率%)	未献血人群 (知晓率%)
①知道我国颁布的《献血法》	2 008(71.77)	1 086 (73.78)	922(69.53)
②知道公民献血年龄是 18-55 周岁(多次献血者延长到 60 周岁)	1 999(71.44)	1 143(77.65)	856(64.56)
③知道 2 次献全血间隔时间 6 个月	1 894(67.69)	1 144(77.72)	750(56.56)
④知道洛阳地区献血满 1 000 mL 可以免费用血	930(33.23)	541(36.75)	389(29.34)
⑤知道血站是公益事业单位	1 918(68.59)	1 059(71.94)	859(64.78)

注:献血人群和未献血人群知晓率比较  $\chi^2$  值 = 18.90,  $P$  值 = 0.001 < 0.05

**表 3 被调查者了解献血知识的主要来源途径** ( $n=2\ 798$ )

献血知识途径	统计总人数 (%)	献血人群 (%)	未献血人群 (%)
①电视、广播、报刊、网络媒体宣传	1 562(55.83)	776(52.72)	786(59.28)
②街头献血屋和献血车的宣传	1 590(56.83)	852(57.88)	738(55.66)
③单位、学校举办宣传讲座	600(21.44)	306(20.79)	294(22.17)
④亲人、朋友的宣传	526(18.80)	276(18.75)	250(18.85)

注:献血人群和未献血人群知晓率比较  $\chi^2$  值 = 35.33,  $P$  值 = 0.000 < 0.05

**3 讨论**

本次调查结果表 1 显示,性别、年龄、文化程度、职业均是影响无偿献血行为的相关因素,献血者中男性比例

58.91% 高于女性 41.09%,与文献[1]报道的结果一致,究其原因不外乎女性特殊生理期和女性顾虑多、恐惧等心理特点相关联,在今后的工作中应加大对女性群体的宣传力度,关注女性生理和心理特点,消除女性献血前的顾虑和恐惧;献血者中 25-34 周岁年龄段的居民参与无偿献血最多为 32.40%,18-24 周岁献血比例较低为 20.18%,实际上该年龄段的人群多为在校大学生,他们的身体状况较好,思维活跃,团队意识和社会责任感较强,针对大学生应进一步落实鼓励、奖励机制,激发大学生献血的积极性,拓展他们成为固定的献血者;献血者中职业划分,农民占比例最高为 30.43%,其次为工人占 25.68%,医务人员和公务员献血比例偏低为 5.16% 和 3.26%,医务人员和公务员作为无偿献血队伍中的特殊群体,他们的献血行为能带动广大的人群积极参与到无偿献血中来,在今后工作中我们应加大对医务人员和公务员群体的宣传力度,为他们提供合适的献血时机和场所,让更多的人加入到无偿献血队伍中来。

**表 4 献血者献血动机** ( $n=1\ 472$ )

献血动机	统计人数	所占比例 (%)
①有益健康	736	50.00
②奉献爱心	1 045	70.99*
③社会责任感	743	50.48
④可以享受用血优惠	413	28.06
⑤单位动员	104	7.07
⑥从众心理	82	5.57
⑦冲动好奇	99	6.73
⑧领取纪念品	80	5.43
⑨检查血型	102	6.93

\* 奉献爱心占比例最高为 70.99%

**表 5 献血者对献血环境、服务态度、专业技能满意度统计** ( $n=1\ 472$ )

	专业技能满意度统计			
	非常满意 (%)	比较满意 (%)	一般 (%)	不满意 (%)
①对献血环境及卫生方面	536(36.41)	606(41.17)	302(20.52)	28(1.90)
②对工作人员的服务态度	725(49.25)	541(36.75)	193(13.11)	13(0.88)
③对工作人员专业技能的满意度	724(49.18)	566(38.45)	172(11.68)	10(0.68)

注:非常满意和比较满意合计率(%),①77.58;②86.01;③87.64

**表 6 献血者再次献血的意愿、方式、意向** ( $n=1\ 472$ )

	统计人数	所占比例 (%)
再次献血的意愿	奉献爱心不需要回报	719 48.85
	小纪念品	482 32.74
	医疗优惠	660 44.84
	精神奖励	470 31.93
更愿意接受的献血方式	流动采血车	400 27.17
	固定采血点	975 66.24
	血站	33 2.24
	单位组织	59 4.01
再次献血意向	不会	13 0.88
	可能会	75 5.10
	可能会	381 25.88
	会	1 003 68.14

表 2 和表 3 结果显示,被调查者对《献血法》、献血年龄、献血间隔、免费用血政策、血站是公益事业单位等知晓率,最高是 71.77%,最低是 33.23%,其中献血者和未献血者比较  $P < 0.05$  差异有统计学意义。被调查者了解献血知识的主要

来源途径是街头献血屋和献血车占 56.83%，亲人和朋友的宣传较低为 18.80%。在以后的工作中针对献血相关的法律法规及献血知识，我们应采取多渠道多样化的宣传策略，让他们了解血站工作、了解献血事业，提高广大人群对相关知识的知晓率并积极参与无偿献血。

表 4 至表 6 结果显示，献血者献血动机以奉献爱心比例最高占 70.99%，与文献[2]统计的最高比例奉献爱心 68.0% 基本一致，其次社会责任感占 50.48%，充分说明本地区无偿献血者整体思想素质较高，以奉献爱心、社会责任感为己任，具有崇高的利他主义和人道主义精神，这也是本地区无偿献血事业顺利发展的坚实基础。被调查者中，28.06% 属于可以享受用血优惠为目的，这也是我们鼓励大家参与无偿献血，献血者本人和直系亲属可以享受免费用血的宣传内容之一。本次调查发现，献血者对献血环境及卫生、工作人员服务态度、专业技能方面的满意率为 77.58%、86.01%、87.64%。愿意再次参加无偿献血的人群比例为 86.14%，66.24% 的献血者首选到固定采血点参加无偿献血，48.85%

的献血者献血目的是奉献爱心不需要回报。

综合以上分析，无偿献血不仅仅是个人的无私奉献，它是一项社会的系统工程，需要社会各个层面各个部门的配合和支持。通过针对不同人群制定多样化的宣传策略，多渠道全方位的加大宣传力度，提高广大人群对无偿献血知识的知晓率，创新动员和招募策略，创建更安全、卫生、温馨的献血场所，营造良好的献血氛围，吸引更多的人群加入到无偿献血队伍中来，共同推动无偿献血工作持续健康发展。

### 参 考 文 献

[1] 沈建忠,陈兆庆,陶刚,等. 宝山市无偿献血相关知信行调查. 中国输血杂志, 2015, 28(8): 897-899.

[2] 周素,李国强,陆采慧,等. 桂林市居民自愿无偿献血影响因素调查分析. 内科, 2015, 10(3): 365-367.

(2016-10-27 收稿, 2017-03-31 修回)

本文编辑:李弘武

## · 论 著 ·

# 2013-2015 拉萨市互助献血潜在风险分析

德吉卓嘎(西藏自治区血液中心,西藏 拉萨 850000)

**摘要:目的** 随着我区血源紧张局面的出现,为缓和供不应求的状态,我中心启动了互助献血,虽然在一定程度上缓解了临床供血的压力,得到了广大医疗机构和患者的支持和认可。但互助献血也带来一系列的问题,这其中的利与弊需要我们共同思考。**方法** 收集西藏自治区血液中心自 2013-2015 年全部互助献血者,做无偿献血者与互助献血者不合格率的对比。**结果** 互助献血者不合格率为 22.4%,无偿献血者不合格率 1.7%。**结论** 在血液供需矛盾日益突出的现阶段,互助献血仍然是保障急救和临床医疗用血需求的特殊献血模式,但互助献血存在的各潜在风险,我们需要加大无偿献血宣传力度和深度,普及亲属互助献血的不利因素,日益壮大自愿无偿献血队伍,让亲属互助献血逐渐退出历史的舞台。

**关键词:** 拉萨;互助献血;风险

**中图分类号:**R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0946-02

互助献血是指家庭、亲友、同事及社会人员为指定病人献血,他是随着《中华人民共和国献血法》的贯彻实施,我国已面实现 100% 的无偿献血,但随着全国血源紧张局面的出现,我区也不例外血库存出现了严重的供不应求,为缓和供不应求状态,我中心与各大医院协商后启动了互助献血,虽然在一定程度上缓解了临床供血的压力,对无偿献血起到一定的宣传作用,产生了一定的社会效益和经济效益,得到了广大医疗机构和患者的支持,但互助献血也带来一系列的问题。这其中的利与弊需要我们共同思考。随着互助献血工作的日渐成熟,也逐一暴露出了互助献血存在的潜在风险,现笔者对互助献血的弊端与原因进行分析如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 西藏自治区血液中心自 2013 年 1 月 1 日-2015 年 4 月 25 日,全部互助献血者共计 2 304 人,其中合格人数 1 803 人,不合格 500 人。

**1.2 方法** 采用无偿献血者与互助献血者不合格率的对比,以及在采血车上暴漏出的问题进行统计。

## 2 结 果

互助献血者各项指标的不合格率远大于无偿献血者的不合格率,详见表 1。

表 1 拉萨市献血者不合格率分布表

类型	转氨酶	乙肝	梅毒	丙肝	合计
互助献血者 合格	2 044	2 140	2 258	2 300	2 304
不合格	260	164	46	4	474
不合格率(%)	12.7	7.6	2.0	0.1	22.4
无偿献血者 合格	11 736	736	11 781	11 819	47 120
不合格	97	52	49	14	212
不合格率(%)	0.8	0.4	0.4	0.1	1.7

### 3 讨论

我市自 2005 年开始运营以来,临床用血全部来自街头无偿献血,由于,近几年血液供需紧张问题的日益突出,为缓解临床用血紧张的趋势,及时给病患提高安全血液,我中心与我市各大医疗机构经协商启动了互助献血,随着互助献血工作的日渐成熟和深入,逐步暴露出一系列互助献血存在的潜在风险。

互助献血作为一种特殊的献血模式,当自愿献血者数量不足或遭遇突发意外事件时,在缓解血液紧张方面发挥了一定的作用<sup>[1]</sup>,然而,互助献血和自愿无偿献血存在一定的差异,前者难以实现科学、合理的控制和管理<sup>[2]</sup>。血站工作人员严格按照《血站工作的实办法》要求献血者提供有效的身份证件方可献血登记,在此次调查对象的自无偿献血者当中未出现一例献血者本人与所持身份证件不符现象,但互助献血者,因迫于给亲属输血治疗疾病的原因,已出现 5 例未满足法定献血年龄者或未持身份证件冒用他人身份证件者。

存在互助献血演变成有偿献血的危险,亲属自身不愿献血或没有符合献血条件时,用金钱雇佣他人代替献血,易导致非法卖血,谋取不当得利<sup>[3]</sup>,工作人员在采血车上已发现 2 例有偿献血者。

开展无偿献血的主要目的是“从低危人群中采合格血液,保证献血者和受血者的健康”<sup>[4]</sup>,亲属互助献血为亲属的救治或第三方金钱的需要,隐瞒自身存在的危险行为或存在的健康问题,使输血存在潜在的传播疾病的风险,研究表

明,互助献血比无偿献血者包含更多的不合格献血者<sup>[2]</sup>,这给临床安全用血提出了巨大的挑战,增加临床用血的危险性。

互助献血是《中华人民共和国献血法》所提倡的献血方式,是卫生部《医疗机构临床用血管理办法(试行)》(下称《办法》)的明确要求<sup>[5]</sup>,国家为保障公民临床急救用血的需要,提倡并指导择期手术的患者自身储血,动员家族、亲友、所在单位以及社会互助献血,是我国在新形式下保障急救和临床医疗用血需求的一种特殊献血模式形式,属于无偿献血范畴。但,互助献血潜在献血的强迫性;潜在输血传染风险;是催生了“血托”和卖血牟利现象的温床。然而,血液供需矛盾日益突出的现阶段,互助献血仍然是保障急救和临床医疗用血需求的一种无偿献血模式。为保障向临床提供安全、便利、充足的血液,应积极加大无偿献血宣传力度和深度,普及无偿献血相关知识,使自愿无偿献血的有利隐私和亲属互助献血的不利因素深入人心、家喻户晓,从而日益壮大自愿无偿献血队伍,让亲属互助献血逐渐退出历史的舞台。

### 参 考 文 献

- [1] 刘国强.互助献血实施办法的探讨.中国卫生事业管理,1999,135(8):476-479.
- [2] 林昂,庄文.亲友互助献血与街头自愿无偿献血血液筛查结果对比分析.实用医技杂志,2008,15(9):1155-1156.
- [3] 关有青.互助献血中常见问题初探.医学信息杂志,2013,23(8):16-167.
- [4] 吴晓东,霍志强,安淑萌.谈无偿献血的重要性.中国医药导报,2007,13(4):76-77.
- [5] 吴晓东,霍志强,安淑萌.谈无偿献血的重要性.中国医药导报,2007,13(4):76-77.

(2016-07-14 收稿,2017-04-01 修回)

本文编辑:李弘武

## 第三届输血医学高等教育与学科建设发展研讨会成功举办

2016 年 7 月,国家标准化管理委员会修改国家标准《GB/T13745-2009 学科分类与代码》,在“临床医学”下增设二级学科“输血医学”,其下设多个三级学科。为进一步探讨和交流输血医学在国家“双一流”建设中的学科体系建设和发展方向、输血医学高等教育人才培养模式、师资队伍建设和相关科学研究,2017 年 7 月 20 日在合肥市举办第三届输血医学高等教育与学科建设发展研讨会。

本次会议由中国医学科学院北京协和医学院输血研究所、南方医科大学、安徽医科大学主办。会议涉及输血医学高等教育和学科建设国际现状和发展情况、我国输血医学学科体系建设和发展方向、我国输血医学高等教育培养模式及方案、学生科研能力培养、师资队伍建设和如何利用行业资源提升输血医学学科地位和影响力等内容。

北京协和医学院研究生院常务副院长李利民教授介绍了百年协和的历史使命,“双一流”建设任务,以及对输血医学学科建设的思考。

# 改良采集模式在外周血干细胞采集中的应用\*

安媛<sup>1</sup> 张铮<sup>2</sup> 杜彬<sup>2</sup> 任召祺<sup>2Δ</sup> 杨超<sup>2Δ</sup> (1.北京市红十字血液中心,北京 100088;2.火箭军总医院)

**摘要:目的** 研究费森尤斯血细胞分离机的改良采集模式在外周血干细胞采集中的应用效果。**方法** 2013 年 1 月-2016 年 12 月,将火箭军总医院 135 名行外周血造血干细胞采集术的健康供者或自体采集患者分成 2 组,使用费森尤斯血细胞分离机,对照组采用机器默认模式进行采集;实验组改良采集模式,通过手动调节模式进行采集。将 2 组采集后的干细胞质量进行比较,同时比较 2 组采集模式对供者的外周血液指标的影响。**结果** 2 种采集模式对供/患者的 Hb、RBC、Hct 和 WBC 结果的影响无统计学意义 ( $P>0.05$ ),实验组的 Plt 降幅小于对照组 ( $P<0.05$ );实验组的产品体积少于对照组,细胞浓度高于对照组 ( $P<0.01$ );但实验组采集所耗时间高于对照组 ( $P<0.05$ )。**结论** 改良外周血干细胞的采集模式,可最大限度地减少供/患者血小板的损失,提高了 PBSC 终产品的质量。手动模式在短时间内大容量采集干细胞上具有优势。2 种模式各有优缺点,应根据供/患者的具体情况选择不同的采集模式,以达到最佳的采集效果。

**关键词:** 外周血造血干细胞;采集;血细胞分离机;改良模式

**中图分类号:** R714.4 R457.1 R331.1<sup>+</sup>41 **文献标识码:** C **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0948-03

近年来,临床通过使用血细胞分离机采集外周血干细胞,已经成为治疗恶性血液病和某些实体瘤的重要方法,且发展极为迅速,逐步代替了骨髓移植<sup>[1]</sup>。外周血造血干细胞移植(PBSCT)因细胞植入率高、造血和免疫功能重建快、移植相关并发症少等优点,临床应用日益广泛。从供者骨髓中动员足量的造血干细胞是 PBSCT 成功的关键。PBSCT 后造血功能的重建及移植物抗宿主病(GVHD)的发生等,与采集的造血干细胞质量与数量有着极其重要的关系。如何使用血细胞分离机通过最少采集次数而采集到足够高质量的外周血造血干细胞(PBSC),最大限度地控制供/患者其他血液成分的损失,同时,满足造血干细胞移植成功的需要,减轻患者的经济负担,是采集 PBSC 追求的目标。医院输血科自 2007 年使用费森尤斯血细胞分离机,已经成功采集近千例外周血干细胞。自 2015 年起,医院输血科应临床要求再次改进了采集方案,在白膜泵出量处理上,由原先的机器默认模式改为手动调节模式,取得了良好的采集效果,现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 1 月-2016 年 12 月在医院输血科进行外周血干细胞采集术者 135 名 242 例次。其中,异基因健康造血干细胞供者 99 名共采集 198 例次;拟进行自体造血干细胞移植的患者 36 名,共采集 44 例次。男 98 例,女 37 例,年龄 19-64 岁,体重 48-68 kg。2013 年 1 月-2014 年 12 月采集的 63 例 118 次为对照组,2015 年 1 月-2016 年

12 月采集的 72 例 124 次为实验组。

**1.2 PBSC 采集前动员方案** 健康供者采用重组人类粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员,一般剂量为 5 μg/Kg,皮下注射 2 次/d,d4 开始采集 PBSC。患者采用化疗联合 G-CSF 方案,在联合化疗后白细胞降至最低,开始回升后 d2 应用 G-CSF,每日监测血常规,当 WBC>5.0×10<sup>9</sup>/L,Plt>50×10<sup>9</sup>/L 时进行 PBSC 采集。动员过程中少数供/患者会出现骨痛、肌肉酸痛、头痛、失眠等不良反应,经处理后均好转。

**1.3 仪器与耗材** PBSC 采集使用血细胞分离机(德国费森尤斯),耗材为血细胞分离吸附置换套件 PIYA(德国费森尤斯),抗凝剂(ACD-A,南四川格尔)。流式细胞检测使用 FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD),标记抗体为 CD34-PE、阴性对照 MouseIgG1-PE 及 CD45-FITC(美国 BD)。血常规检测使用全自动血液分析仪(日本 Nihon Kohden),手工计数采用标准的牛鲍氏血细胞计数板。

**1.4 PBSC 采集方法** 严格按照操作流程安装耗材,采用双针单个核细胞(MNC)程序,自检机器正常后输入患者相应的参数(性别、身高、体重、血细胞比容)。根据患者采血、回路静脉的条件来调整血液流速,一般设为 50 mL/min;全血处理量为 2-3 倍血容量,一般为 8 000-12 000 mL;视患者白膜层厚度调整单个循环血量,一般能达到 2-3 cm 厚度,一般单个循环血量为 250-450 mL;ACD-A 与全血比例先设为 1:10,10-12 个循环后调整为 1:12。选用 16 G 穿刺针行肘静脉穿刺静脉,必要时行双腔中心静脉插管术,以建立良好的血管通路来采集干细胞。运行时间一般 4-6 h,采集 1 次/d,一般采 1-2 次,采集到足够的细胞数量。在白膜泵出量处理上,对照组采用机器默认模式,依靠细胞监测器监测控制白膜泵出量;实验组将管路从细胞监测器中取出,依据肉眼观察的情况,当监测到粉红层手动停止白膜泵出。整个采集过程观察白膜层的变化和收集尾部的颜色变化,由操作人员动态调

doi:10.13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2017. 08. 028

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(31600681,81400274);Δ 共同通信作者:任召祺(1982.08-),女,主管技师,主要从事临床输血研究,电话:010-66343282, Email: renzq\_2008 @ 126.com;杨超(1982.01-),女,主治医师,主要从事临床输血与干细胞临床转化研究,电话:010-66343933, Email: yangchao0120@ 126.com

整收集参数。

**1.5 PBSC 流式检测** 有核细胞与标记抗体避光混合 15 min, 加入溶血素 1 mL 避光 10 min, 离心后弃上清, 加 500  $\mu$ L PBS 重悬细胞, 上机检测。使用 CELL QUEST 软件, 计数 10 万个细胞, 窗口开设、设门均按国际标准法要求, 测定收集产品中 CD34<sup>+</sup> 细胞的百分含量。

**1.6 细胞活性检测** 0.4% 台盼蓝实验检测细胞存活率, 死细胞被染成明显蓝色, 而活细胞拒染呈无色透明状。

**1.7 采集效率计算** 外周单个核细胞(MNC)采集效率的计算公式: 
$$\frac{A}{\left(\frac{B+C}{z} \times D \times 0.001\right)} \times 100$$
 A = 最终获得的

PBMNC 的数量, B = 分离前的 PBMNC 数量, C = 分离后的 PBMNC 的数量, D = 处理的采集者的总血量<sup>[2]</sup>。

**1.8 统计学分析** 计量资料用  $\bar{x} \pm SD$  表示, 用 SPSS17.0 统

计学软件进行统计分析, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$  具有统计学意义。相关性分析采用 Spearman 秩相关分析, 用 *R* 表示, 以  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$  具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 2 种干细胞采集模式对血液学结果的影响** 采集后供/患者的血红蛋白(Hb)、红细胞计数(RBC)和浓缩红细胞(Hct)均有所下降, 但无统计学意义( $P > 0.05$ ); 采集后供/患者的 RBC、Hct 与 Hb 的降幅相一致( $P < 0.05$ )。2 种采集模式对 Hb、RBC、Hct 结果的影响, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。采集后 2 组供/患者的血小板计数(Plt)比采前均有所下降( $P < 0.01$ ), 但实验组的 Plt 降幅小于对照组( $P < 0.05$ ) (表 1、2)。

**表 1** 2 种干细胞采集模式对 RBC、Hb 和 HCT 的影响 (x $\pm$ s)

	Hb(g/L)		RBC*( $\times 10^{12}$ /L)		Hct*(%)	
	采前	采后	采前	采后	采前	采后
对照组(n=118)	115.13 $\pm$ 21.35	109.22 $\pm$ 23.17	3.85 $\pm$ 0.82	3.77 $\pm$ 0.86	34.61 $\pm$ 6.43	31.32 $\pm$ 7.14
实验组(n=124)	115.47 $\pm$ 19.28	110.59 $\pm$ 25.87	3.87 $\pm$ 0.83	3.86 $\pm$ 0.89	34.88 $\pm$ 5.43	32.46 $\pm$ 7.28

\* RBC、Hct 与 Hb 降幅均一致,  $R = 0.863$ ,  $P < 0.05$ ; 2 种采集模式对 Hb、RBC、Hct 结果影响无差异,  $P > 0.05$

**表 2** 2 种干细胞采集模式对 Plt 和 WBC 的影响 (x $\pm$ s)

	Plt( $\times 10^9$ /L)			<i>t</i>	WBC( $\times 10^9$ /L)		
	采前	采后*	降幅**		采前	采后	降幅
对照组(n=118)	196.32 $\pm$ 92.17	107.68 $\pm$ 65.32	88.64 $\pm$ 26.35	23.38	36.85 $\pm$ 8.18	35.46 $\pm$ 8.95	1.39 $\pm$ 3.41
实验组(n=124)	191.56 $\pm$ 83.29	123.84 $\pm$ 75.24	67.72 $\pm$ 17.28	27.08	34.89 $\pm$ 7.56	35.81 $\pm$ 7.29	-0.92 $\pm$ 4.54

\* 与采前相比, 采后 Plt 有所下降,  $P < 0.01$ ; \*\* Plt 降幅, 实验组小于对照组,  $t = 24.81$ ,  $P < 0.05$

**2.2 采集后 PBSC 的质量控制** 见表 3。

**表 3** 采集后 PBSC 的质量控制比较 (x $\pm$ s)

	对照组(n=118)	实验组(n=124)
细胞浓度( $\times 10^{11}$ /个)	2.36 $\pm$ 1.02	3.01 $\pm$ 0.96*
MNC(%)	53.54 $\pm$ 14.36	51.56 $\pm$ 13.15
CD34 <sup>+</sup> (%)	0.74 $\pm$ 0.29	0.75 $\pm$ 0.38
体积(mL)	203.17 $\pm$ 35.74	157.56 $\pm$ 26.34*
采集效率(%)	59.29 $\pm$ 27.11	58.65 $\pm$ 24.31
MNC 计数( $\times 10^8$ /kg)	4.34 $\pm$ 1.74	4.14 $\pm$ 1.65
CD34 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ /kg)	6.00 $\pm$ 1.59	6.02 $\pm$ 1.87

\* 细胞浓度和体积差异比较:  $t = 12.91$ 、 $51.27$ ,  $P < 0.01$ ; kg 为患者即受者的体重

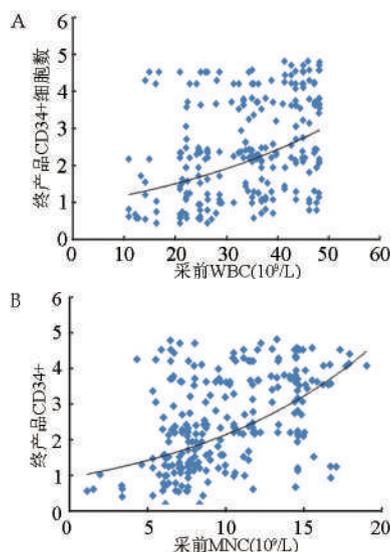
**2.3 对比 2 种采集模式的采集过程** 见表 4。

**表 4** 2 组采集模式的采集过程对比 (x $\pm$ s)

	采集时间(min)	总循环血量(mL)
对照组(n=118)	241.22 $\pm$ 27.65	10 804.92 $\pm$ 26.33
实验组(n=124)	276.79 $\pm$ 25.24*	11 097.16 $\pm$ 31.62*

\* 与对照组相比,  $t = 47.23$ 、 $813.46$ ,  $P$  均  $< 0.05$

**2.4 242 份 PBSC 中的 CD34<sup>+</sup> 细胞数与采集前供/患者的 WBC 和 MNC 计数的相关关系** PBSC 的 CD34<sup>+</sup> 细胞数与采集前供/患者的 WBC 计数弱相关, 有统计学意义 ( $R = 0.347$ ,  $P < 0.01$ ); PBSC 的 CD34<sup>+</sup> 细胞数与采集前供/患者的 MNC 计数弱相关, 有统计学意义 ( $R = 0.463$ ,  $P < 0.01$ ) (图 1)。



**图 1** 终产品中的 CD34<sup>+</sup> 细胞数与采集前供/患者的 WBC(A) 和 MNC 计数(B) 的相关性 (n=242)

**3 讨论**

外周血干细胞移植治疗恶性血液病已经广泛运用于临床, 能否采集到足够的外周血干细胞是移植成功的前提和关键<sup>[3]</sup>。外周血干细胞的密度、大小类似于 MNC, 生物物理学特征也与 MNC 相似。因此, 一般采用血细胞分离机单采 MNC 以获得外周血干细胞<sup>[4]</sup>。费森尤斯血细胞分离机是通

过血液成分的密度差异,利用梯度离心的原理,使供血者的部分全血通过血细胞分离机进行体外循环,从供血者的全血中提取相应成分的血细胞,再将剩余血液还输给供血者的闭环过程<sup>[5]</sup>。它配有界面探测器,可实时监测分离机腔内采集情况,能直接观察到终产品。机器收集 PBSC 时,分为两个阶段:一是利用血浆泵将白膜泵出,直到细胞感应器发现细胞或泵出量达到预设容量;二是利用血浆泵收集白膜,观察到红细胞时就停止收集。

但由于血小板密度接近 MNC,故收集白膜时会收集到供/患者的血小板,采集结束后所有供/患者的血小板均会下降。机器默认程序受电脑软件的限制,收集 MNC 时有可能误将血小板认为是 MNC。我们在白膜泵出量处理上进行改良,不依靠细胞监测器监测控制白膜泵出量,而是将管路从细胞监测器中取出,依据肉眼观察的情况泵出白膜。这样就不采集或少采集血小板,通过回输通道血小板就回输给患/供者,减少了不必要的血小板的收集。到了白膜收集阶段,当肉眼监测到粉红层时,手动停止收集,不做红细胞的收集。陆颖等<sup>[6]</sup>在使用费森尤斯血细胞分离机时,血小板损失率为 $(47.11 \pm 11.55)\%$ 。我们通过手动控制白膜泵出量,将血小板降幅由原来的 $(88.64 \pm 26.35) \times 10^9/L$ 减少到 $(67.72 \pm 17.28) \times 10^9/L$ ,血小板损失率为 $(35.35 \pm 9.31)\%$ ,减少了供/患者的血小板损失。

由于患者在移植前要综合评价身体条件,以选择移植的时间,因此预先分离的造血干细胞需低温冷冻保存。目前临床低温冻存干细胞的成本高,收费昂贵,终产品体积越大,收费越贵。且低温冷冻保存需按比例加入细胞冷冻保护剂,其主要成分二甲基亚砜(DMSO),随干细胞回输后可引起面部潮红、恶心、呕吐等不良反应,并且发生率与剂量有关<sup>[7-8]</sup>。我们改进细胞采集模式后,在未减少产品细胞数的前提下,减少了干细胞采集物的终产品量,并减少了细胞冻存保护液的加入,降低了回输不良反应发生的机率。

不过,手动采集所需时间和总循环血量要明显高于自动采集模式( $P < 0.05$ ),且由于是人工观察,若操作人员经验不足则会影响采集效果。手动模式在短时间内大容量采集干细胞上更有优势。若供/患者采集前血小板计数较低,且需要2次采集,或单次需要获得更多外周血造血干细胞,为保证供/患者采集顺利进行,采取何种模式还应视情况而定。

此外,最佳的采集时间也是影响单个核细胞收集效率因素之一。我们发现分离前白细胞计数和 MNC 计数与 CD34<sup>+</sup>细胞虽具有相关性( $P < 0.01$ ),但相关性并不明显( $0.3 < R < 0.5$ )。这与文献报道相一致<sup>[9]</sup>,采集前的白细胞和 MNC 均

无法精确直接反应 CD34<sup>+</sup>细胞的动员情况。在动员过程中,用分离前外周血白细胞计数来预测造血干细胞的最佳采集时间有一定的临床意义,但不能仅仅依靠白细胞的数量高低来决定采集的最佳时间,应避免因过度依赖外周血白细胞计数的明显升高,而错过最佳采集时间。因此,在后来的研究中,我们通过对外周血单个核细胞及 CD34<sup>+</sup>细胞检测,来决定采集的时机并预测采集效果,一般在 G-CSF 应用 3 d 后开始检测,以此确定最佳采集时间。

## 参考文献

- [1] Zhao XF, Mao XF, Wan DM, et al. Modified busulfan and cyclophosphamide conditioning regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of patients with hematologic malignancies. *Transplantation Proceedings*, 2014, 46(5): 1531-1535.
- [2] 闰国伟, 宋朝阳, 黄睿, 等. 健康供者外周血造血干细胞动员及采集效果分析. *实用医学杂志*, 2013, 29(9): 1463-1465.
- [3] Majhail NS, Farnia SH, Carpenter PA, et al. Indications for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation, 2015, 21(11): 1863-1869.
- [4] 王晓宁, 姚建娜, 刘芳, 等. 血细胞分离机不同采集程序对外周血造血干细胞分离效果的影响. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(5): 1529-1532.
- [5] 王晓杰, 陆宏, 娄海林. 费森尤斯卡比血细胞分离机采集外周血单个核细胞的护理. *临床护理杂志*, 2012, 11(6): 26-28.
- [6] 陆颖, 邓春江, 丁思娇, 等. 不同血细胞分离机采集造血干细胞对供者血小板水平的影响. *中国输血杂志*, 2010, 23(3): 184-185.
- [7] 张亚斌, 王福喜. 探讨脐血造血干细胞移植在临床应用中的研究进展. *中国医药指南*, 2013(3): 470-471.
- [8] Polchow B, Keibel K, Schmiedeknecht G, et al. Cryopreservation of human vascular umbilical cord cells under good manufacturing practice conditions for future cell banks. *J Translational Med*, 2012, 10(1): 1-17.
- [9] Rossi G, Skert C, Morello E, et al. PBSC mobilization in lymphoma patients: analysis of risk factors for collection failure and development of a predictive score based on the kinetics of circulating CD34<sup>+</sup> cells and WBC after chemotherapy and G-CSF mobilization. *Hematological Oncol*, 2015, 33(3): 125-132.

(2017-03-30 收稿, 06-22 修回)

本文编辑:夏玲

## 1 120 名骨科预输血患者血小板抗体检测结果分析\*

梁静<sup>1</sup> 桂霞<sup>2△</sup> 郑淑贤<sup>1</sup> 刘潇<sup>2</sup>

(1.新疆医科大学第六附属医院 输血科,新疆 乌鲁木齐 830002; 2.新疆医科大学附属肿瘤医院)

**摘要:**目的 分析影响骨科拟输血患者的血小板特异性抗体(抗-HPA)与组织相容性抗体(抗-HLA-I)阳性的相关因素。**方法** 选取 1 120 名骨科择期手术拟输血患者,分别检测血小板抗体抗-HPA 与抗-HLA-I,按患者性别、有无输血史、有无妊娠史以及民族、病种等指标分组,评估这些指标对患者血小板抗体阳性的影响。**结果** 本组骨科择期手术拟输血患者血小板抗体总阳性率 8.93%(100/1 120),其中抗-HLA-I 占 77%(77/100)、抗-HPA 占 14%(14/100)、抗-HLA-I+抗-HPA 占 9%(9/100)。本组女性与男性患者的血小板抗体阳性率为 13.10(68/519) vs 5.32(32/601)( $P<0.01$ );有无输血史患者的血小板抗体阳性率为 15%(15/100) vs 8.33(85/1 020)( $P<0.05$ );有无妊娠史的女性患者血小板抗体阳性率为 15.68%(53/338) vs 8.43%(15/178)( $P<0.05$ )。**结论** 骨科拟输血患者中女性患者,尤其是有妊娠史者,以及有输血史患者的血小板抗体阳性率较高,可作为临床开展血小板检测的相关因子,确保安全输血。

**关键词:**血小板抗体检测;HLA-I 抗体;HPA 抗体;安全输血;性别;输血史;妊娠史临床特点

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 R68 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0951-02

血小板抗原分为 2 类:一类是与其他细胞或组织共有的抗原,称为血小板非特异性抗原,如人类白细胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)及 ABO 血型抗原等;另一类是血小板特异性抗原(human platelet antigen,HPA);其中血小板上的 HLA 主要是 HLA-I 类抗原<sup>[1]</sup>。目前,血小板的研究和临床应用已是输血医学重要研究内容之一<sup>[2]</sup>,血小板抗体已广泛涉及器官移植、骨髓抑制及疾病遗传等临床范畴<sup>[3-4]</sup>;因此血小板抗体检测同样对骨科预输血患者具有重要的临床意义。为进一步明确骨科预输血患者血小板抗体检测的临床特点及意义,我们针对 1 120 例骨科预输血病例开展了血小板抗体的临床检验,现报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象一般资料** 选取 2016 年 4-9 月本院住院部收治的全部 1 120 名骨科择期手术预输血患者作为研究对象,受检者中男性 601 例、女性 519 例,年龄 21-57(39.7±7.8)岁;汉族 986 名、维吾尔族 83 名、回族 26 名、哈萨克族 25 名。所有受检对象或其直系亲属均签署《知情同意书》后,采集静脉血 3 mL/(人)份于 EDTA-K 抗凝试管中,以 3 000<sub>x</sub>g 离心 1 min 获取血浆标本并放置 2-6℃ 保存,当天检测。

**1.2 仪器与试剂** 抗-HPA 检测试剂盒(批号 20160734)、二磷酸氯喹(批号 20160826)、抗-HPA 筛检细胞(冻干粉型,批号 20160864),均为长春博德生物技术有限责任公司。血小板专用低速离心机(TXL-4,长春博德生物技术有限责任公司);冰箱(专用型星星 LSC-288c)。

**1.3 检验方法** 以抗-HPA 检测试剂盒度患者做抗-HPA 检测,阳性标本采用 0.2 mol/L、pH 4.0 的二磷酸氯喹预处理区分抗-HPA/抗-HLA-I,严格按试剂盒说明书操作。

**1.4 分析指标** 从患者的性别、民族、病种、输血史和妊娠史等方面评估抗-HPA 体阳性患者的分布特征。

**1.5 统计学方法** 数据处理采用 SPSS 19.0 统计学软件,计量资料以“均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )”表示,行  $t$  检验,计数资料行  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1** 1 120 名骨科择期手术预输血患者血小板抗体检测共检测出血小板抗体阳性 100 例,阳性率 8.93%;其中抗-HLA-I 阳性占 76%(76/100),抗-HPA 阳性 15%(15/100),抗-HLA-I+抗-HPA 阳性 9%(9/100)。

**2.2** 性别、民族、病种及有无输血史、妊娠史与患者血小板抗体阳性率的关系见表 1-5。

**表 1** 不同性别骨科拟输血患者的血小板抗体阳性率及分布特征

<i>n</i>	HLA-I 抗体	HPA 抗体	HLA-I + HPA 抗体	合计
男性 601	26(4.3)	4(0.7)	2(0.3)	32(5.32)
女性 519	50(9.6)	11(2.1)	7(1.3)	68(13.1)*
合计 1 120	76(6.8)	15(1.3)	9(0.8)	100(8.9)

注:与男性比较,\* $P<0.05$

**表 2** 不同民族受检者的 HPA 与 HLA-I 抗体阳性率[ $n(\%)$ ]

<i>n</i>	HLA-I 抗体	HPA 抗体	HLA-I + HPA 抗体	合计
汉族 986	70(7)	11(1.1)	8(0.8)	89(9.0)
维吾尔族 83	4(4.8)	2(2.4)	1(1.2)	7(8.4)
回族 26	1(3.8)	1(3.8)	0	2(7.7)
哈萨克族 25	1(4.0)	1(4.0)	0	2(8.0)
合计 1 120	76(6.8)	15(1.3)	9(0.8)	100(8.9)

注:组间比较, $P>0.05$

表 3 不同病种受检者的 HPA 与 HLA- I 抗体阳性率 [n(%)]

n	HLA- I 抗体	HPA 抗体	HLA- I + HPA 抗体	合计
腰椎间盘突出症	121 9(7.4)	2(1.7)	1(0.8)	12(10.0)
腰椎管狭窄症	68 6(8.8)	1(1.5)	0	7(10.3)
骨折	319 20(6.2)	4(1.3)	3(0.9)	27(8.5)
骨性关节炎	435 25(5.7)	6(1.4)	4(0.9)	35(8.0)
脑出血	53 5(9.4)	1(1.9)	1(1.9)	7(13.2)
滑膜炎	102 9(8.8)	1(1.0)	0	10(9.8)
再障性贫血	22 2(9.0)	0	0	10(9.8)
合计	76(6.8)	15(1.3)	9(0.8)	100(8.9)

注:组间比较, P>0.05

表 4 有无输血史的骨科拟输血患者者血小板抗体阳性率及分布特征

n	抗-HLA- I	抗-HPA	抗-HLA- I + 抗-HPA	共计
有输血史患者	100 14(14.0)*	1(1.0)	1(1.0)	15(15.0) <sup>△</sup>
无输血史患者	1 020 63(6.2)	13(1.3)	8(0.8)	85(8.3)*
合计	1 120 76(6.8)	15(1.3)	9(0.8)	100(8.9)

\* 与无输血史患者比较,  $\chi^2 = 7.784, P < 0.01$ ;  $\Delta$  与无输血史患者比较,  $\chi^2 = 4.429, P < 0.05$

表 5 有无妊娠史的骨科女性拟输血患者的血小板抗体阳性及分布特征

n	抗-HLA- I	抗-HPA	抗-HLA- I + 抗-HPA	共计
有妊娠史	338 36(10.7)*	10(2.9)	7(2.1)	53(15.7)
无妊娠史	181 11(6.0)	4(2.2)	3(1.7)	18(9.9)
合计	519 47(9.1)	14(2.7)	10(1.9)	71(13.7)

注:与无妊娠史比较, \* P<0.05

**2.3 血小板抗体阳性骨科手术患者的输血情况** 本组 100 名血小板抗体阳性者中,最终有 48 人在术中输血,其中有 41 人输血时输注的均为 ABO, RhD 同型的去白细胞悬浮红细胞 1.5 U-6 U(3.2±1.8)mL,未输注血浆、血小板,因而无输血不良反应发生;5 人在手术中出血>1 000 mL,除输注 ABO, RhD 同型的去白细胞悬浮红细胞外,3 人还同时输注了血浆 620 mL-1 100 mL(833±274)mL,2 人分别输注 ABO, RhD 同型血小板各 1 个治疗量无配型,也无输血不良反应发生;还有 2 名抗-HLA-I 强阳性(4+)患者分别输注洗涤红细胞 2 U, 3 U, 同样无输血不良反应。

### 3 讨论

HPA 是人类血小板特异性抗原,其免疫原性通过输血、妊娠及药物等免疫使受者产生相应的抗体,有可能导致血液输注无效、输血后紫癜、各类免疫性血小板减少症等临床问题。HLA 的主要为人体细胞、组织共有抗原系统,分布于血小板与白细胞中,属于血小板非特异性抗原,最主要的是 HLA- I 类抗原,其抗原性较强,患者输注 HLA 不配合的血小板很容易引起血小板同种免疫和血小板输注无效<sup>[5]</sup>。血小板的抗体存在不仅会导致患者输注血小板无效,还会提高期非溶血性输血反应(NHTR)的发生率,因此患者在输注各种血液制品前检测血小板抗体具有一定意义<sup>[6]</sup>。

本组 1 120 名骨科择期手术拟输血患者的血小板抗体检测结果显示,8.93%患者呈阳性,其中抗-HLA- I 占 76%、抗-HPA 抗体占 15%及 HPA 和 HLA-I 混合抗体阳性仅占 9%。由于本组病例中除汉族外的其他民族患者比例很低(表 2)

(最多的维吾尔族人病例数其尚不及汉族的 1 成),且本院是骨科专科医院,病种相对单一,亦无肿瘤和血液病患者,故本组不同民族患者血小板抗体检验结果不具有可比性;而本组骨科各类疾病(手术)患者的血小板阳性率虽然相近(表 3),但也不能说明不同疾病是否影响对患者血小板检测的结果,张秋会<sup>[9]</sup>等研究在肿瘤患者中 HPA 检出率 12%,与笔者研究差异不大;而本组男性患者中血小板抗体阳性者所占比例及阳性率明显低于女性患者(P<0.01)(表 1)——这主要与女性单独受这一特殊的免疫因素影响有关,本组有妊娠史的女性患者的血小板抗体阳性率即明显高于无妊娠史的女性(P<0.05)(表 5)。同样,本组中有输血史的患者其血小板抗体阳性率亦明显高于与无输血史患者(P<0.05)(表 4)。

尽管本组血小板抗体阳性患者中,最终仅有 2 人在术中输注了血小板,且无抗-HPA 与抗-HLA- I 阳性导致的小血小板输注无效,但本组仍足以说明骨科手术拟输血患者行血小板抗体检测,不但可具体了解血小板抗体性质、分布,以预防血小板输注无效的发生,还可提示对患者需要输注的其他血液成分(如悬浮红细胞、血浆等)做滤除白细胞、洗涤或(和)辐照等处理,对预防和减少非溶血性输血不良反应。有一定的作用,如发热反应、过敏反应等<sup>[7]</sup>。

综上所述,骨科拟输血患者中女性患者(尤其是有妊娠史者)以及有输血史患者的血小板抗体阳性率较高。这与其他文献报道血液疾病、肿瘤患者血小板抗体产生特点相一致<sup>[9]</sup>。对于骨科拟输血(尤其是输血小板)治疗的患者检测血小板抗体,选择合适的血制品输注,有助于提高输血安全性<sup>[8]</sup>。样本病种单一、民族病例少为本研究的不足之处,为保障临床输血的安全提供可靠研究数据,我们还需进一步扩大病源病种、民族等方面的研究。

### 参考文献

- [1] 荣春书,王伟刚,连鑫,等.肾移植受者多反应性抗体与 HLA 抗体的相关性研究.中国实验诊断学,2016,20(5):703-706.
- [2] 安群星,安宁,尹文.西安地区男性献血员 HLA 抗体筛查分析.陕西医学杂志,2015,44(7):913-914.
- [3] 吴萍萍,金娟,王宇成,等.ELISA 法和 LABScreen 法检测 HLA 抗体结果的差异.中华肾脏病杂志,2013,29(5):321-325.
- [4] 徐研,洪纓,万理科,等.成都地区女性献血者 HLA 抗体分布.中国输血杂志,2014,27(9):943-945.
- [5] 夏文杰,叶欣,邓晶,等.血小板输注无效患者血小板同种抗体及血小板特异性糖蛋白抗体表达的研究.中华血液学杂志,2010,31(9):594-598.
- [6] 吴宇辰,徐笑红,叶红宇.血小板抗体对非溶血性输血反应的影响.中国输血杂志,2015,28(8):1018-1019.
- [7] 袁强,陈雪,成岚,周昌华,傅雪梅,李幼平,王乃红,王莉.白细胞滤过的小板预防血小板输注无效和人类白细胞抗原同种免疫反应的 Meta 分析[J].中国医学科学院学报.2011,(4):412-420.
- [8] 陈月宽,颜利江,费良芬,刘福慧,徐艳,黄美容.176 例输血不良反应的分析[J].中国输血杂志.2015,(12):1504-1506.
- [9] 张秋会,胡兴斌,孙文利,安群星,张婧,尹文.血小板抗体检测及配型在肿瘤患者中的临床应用[J].中国输血杂志.2016,(7):708-710.

(2016-11-29 收稿,2017-08-17 修回)

本文编辑:蔡辉

## 自身免疫性溶血性贫血患者 ABO 血型鉴定及抗体筛查

刘红冰<sup>1</sup> 兰炯采<sup>2</sup> 李艳英<sup>1</sup> 杨波<sup>1</sup>(1. 洛阳市中心血站, 河南 洛阳 471000; 2. 南方医科大学 南方医院)

**摘要:**目的 探讨自身免疫性溶血性贫血(AIHA)患者的 ABO 血型鉴定及抗体筛查方案。方法 2015 年 1 月-2016 年 12 月 46 例 AIHA 患者试管法进行 ABO 正反定型,直接抗球蛋白试验及间接抗球蛋白试验判定自身免疫性溶血性贫血,氯喹放散或自身红细胞吸收自身抗体后,进行不规则抗体筛查及抗体特异性鉴定。结果 46 例 AIHA 患者 DAT 均阳性,IAT 阳性患者 20 例。在 20 例 IAT 阳性患者,抗筛阳性者 6 例(30%),抗体特异性鉴定:抗-E 4 例,抗-c 1 例,抗-cE 1 例。此外,ABO 正反定型不一致者 18 例,IAT 阳性者 11 例,28 例 ABO 血型未受干扰者中,IAT 阳性者 9 例,间抗阳性者比间抗阴性者更容易发生 ABO 血型鉴定困难,差异有统计学意义( $\chi^2 = 46.00, P < 0.001$ )。结论 正确判定 AIHA 患者 ABO 血型及抗体筛查,选择合适血液输注,有利于提高临床输血安全性。

**关键词:**自身免疫性溶血性贫血(AIHA); ABO 血型; 抗体筛查

**中图分类号:**R457.1<sup>†</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0953-02

自身免疫性溶血性贫血(AIHA)患者因其直接抗球蛋白试验(DAT)和间接抗球蛋白试验(IAT)阳性,会导致 ABO 正、反定型困难<sup>[1]</sup>,ABO 血型误定会影响临床安全输血。现将我们的分析报告如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 研究对象和纳入/排除标准** 1)2015 年 1 月-2016 年 12 月 AIHA 患者 46 例,系成都、郑州和洛阳地区病例;2)诊断标准:①临床有溶血性贫血证据(贫血、网织红细胞升高、骨髓红系增生活跃、血清间接胆红素升高、结合珠蛋白降低等);②排除药物溶血、物理化学因素导致的溶血、遗传性疾病导致的溶血等;③其它实验室或临床资料(直接抗球蛋白试验阳性、皮质激素有一定疗效等)。本组病例中,女 31 例、男 15 例,年龄 15~59 岁。40 岁以下 35 例(76.09%),原发性 28 例,继发性 18 例(继发于淋巴瘤、红斑狼疮、类风湿性关节炎等疾病);温抗体型 44 例,冷抗体型 2 例。

**1.2 试剂** 抗-A、抗-B 血型定型试剂、ABO 血型反定型试剂盒(北京金豪,批号分别为 20151117、20160217);RhD(IgM)血型定型试剂、抗球蛋白(抗 IgG,C3d)检测试剂盒、抗体筛选红细胞试剂和谱细胞(上海血液生物,批号分别为:20160821、20160325、20160617、20160811)。

**1.3 方法** ABO 正、反定型采用试管法,直接抗球蛋白试验(DAT)、间接抗球蛋白试验(IAT)、氯喹放散试验和 IAT 阳性患者自身红细胞吸收自身抗体法,均参考文献[2]。不规则抗体筛查及抗体特异性鉴定按试剂说明书操作。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件中卡方进行数据分析,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 AIHA 患者 ABO 定型被干扰** 46 例 AIHA 患者 DAT 均

阳性,IAT 阳性患者 20 例。ABO 正反定型不一致者 18 例(39.13%,均为温抗体型),IAT 阳性者 11 例,均经反定型和氯喹放散试验正确判定了 ABO 血型(表 1)。28 例未受干扰者中,IAT 阳性者 9 例。间抗阳性者比间抗阴性者更容易发生 ABO 血型鉴定困难,差异有统计学意义( $\chi^2 = 46.00, P < 0.001$ )。

**2.2 AIHA 患者抗体筛查** AIHA 患者 IAT 阳性 20 例,未经自身红细胞吸收自身抗体抗筛均为阳性,经自身红细胞吸收自身抗体后,抗筛阳性者 6 例(30%)。抗体特异性鉴定:抗-E 4 例,抗-c 1 例,抗-cE 1 例。此 6 例患者在抗筛及抗体特异性鉴定之前输血均有 Hb 不升高或溶血加重史;抗体特异性鉴定后,输血 RhD CcEe 同型红细胞,Hb 均升高并未发生溶血加重。

**表 1** 18 例温抗体型 AIHA 患者氯喹放散前/后 ABO 血型

n	直抗	间抗	放散前 ABO 血型		放散后 ABO 血型		
			正定型	反定型	正定型	反定型	
1 组	6	+	+	AB	B	B	B
2 组	5	+	+	AB	A	A	A
3 组	3	+	+	AB	O*	A	A
4 组	4	+	-	AB	O*	O	O**

\* 反定型 O、A、B 红细胞均凝; \*\* 反定型 A、B 红细胞凝

## 3 讨论

正确判定患者 ABO 血型,是临床安全有效输血的前提之一<sup>[3]</sup>。AIHA 患者 DAT 阳性,红细胞上已包被了自身抗体,在胶体介质中(ABO 定型试剂血清)可能发生非特异性凝集,干扰 ABO 正定型;AIHA 患者如果 IAT 阳性,血清中有游离的自身抗体和/或同种抗体,可能在盐水介质中非特异性凝集 ABO 反定型红细胞,干扰反定型<sup>[1]</sup>。本组 46 例 AIHA 中,全部直抗阳性,其中正定型受干扰者 18 例;间抗阳性者 20 例,反定型受干扰者 3 例(第 3 组 3 例,氯喹放散后证实为 A 型,但放散前反定型 A 细胞凝集)。正定型受干扰者,红细胞均经氯喹放散后得以正确定型,反定型受干扰者

· 个案报告 ·

# 高效价抗-D 致双胎新生儿 D 抗原遮蔽合并 HDFN 1 例

王海娟<sup>#</sup> 袁佳<sup>#</sup> 凤婧 赵虹 朱凯 陈剑<sup>△</sup>

(四川大学华西第二医院检验科, 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 四川 成都 610041)

**摘要:**目的 分析 1 例 RhD 阴性母亲高滴度抗-D 致双胎新生儿 D 抗原遮蔽血清学特点, 并讨论双胎新生儿发生 HDFN 的救治。**方法** 采用微柱凝胶法及盐水法、热放散试验等检测血型, 采用微柱凝胶技术检测父亲、母亲、大婴、小婴的不规则抗体、抗体鉴定及抗体效价。**结果** 父亲、母亲、大婴、小婴的 ABO 血型和 Rh 分型分别为 B、dC-Cee; B、DCcEe; O、DCcEe; B、DCcEe, 大婴、小婴 RHD 基因检测结果均为 *RHD/d* (阳性), 母亲及大婴、小婴抗体筛查均为阳性, 抗体鉴定结果显示血清中均存在抗-D, 母亲产前、产后抗体效价均为 1024, 大婴、小婴经及时输血换血治疗病情得到控制。**结论** 母亲高滴度抗-D 可导致新生儿 D 抗原完全遮蔽, 在临床检测过程中需采用多种血清学方法及基因检测验证此类现象, 避免误判血型结果。对产前 RhD 阴性和特殊情况的孕产妇进行抗体筛查和鉴定, 对其新生儿可能发生 HDFN 的输血换血救治具有非常重要的意义。

**关键词:** Rh 血型抗体; D 抗原遮蔽; 新生儿溶血病; 假阴性

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0954-03

新生儿胎儿溶血病 (hemolytic disease of fetal and newborn, HDFN), 是指母婴血型不合引起的同种免疫性溶血病。主要由于新生儿遗传的父源性血型抗原为母亲所缺少, 当胎-母血液交流时, 刺激母亲产生相应的血型抗体。其中 IgG 性质的抗体能透过胎盘屏障, 进入胎儿血液循环, 导致 HD-FN。临床上常见的 HDFN 为 ABO 和 Rh 血型系统不合导致。Rh 血型系统尤其以 RhD 血型不合导致的 HDFN 最为严重, 引起的溶血病通常发生在第 2 胎及以后, 其造成的溶血病约占 HDFN 的 14.3%<sup>[1]</sup>。我们在工作中遇到了 1 例抗-D 效价高达 1024 的孕妇, 生产的 2 个双胎新生儿出生后均发生重度 HDFN, 并且均出现 RhD 抗原遮蔽现象: 即新生儿 RhD 抗原被母亲的抗-D 封闭, 导致常规 RhD 抗原检测方法检测为阴性。胎儿经提前剖宫产, 早期及时换血输血救治重度 HD-

FN 获得成功, 患儿于 2016 年 12 月 26 号入院, 经治疗, 于 2017 年 1 月 14 号康复出院, 现报道如下。

## 1 病例简介

孕妇 G5P034+2 周, 既往因流鼻血有输血史, 具体输血情况不详。4 次药物流产史。本次怀孕经试管婴儿术怀孕双胎, 孕 34+2 周时在外院检查发现 Rh 血型抗体效价升高, 转入本院, 检测结果显示血清中存在抗-D, 效价为 1 024。遂入院待产, 根据患者的临床情况, 在孕 34+6 周时行剖宫产娩出 1 对龙凤胎, 大婴为男孩, 小婴为女孩, 出生后因早产、低体重、全身皮肤黄染、贫血貌、新生儿原始反射减弱等临床表现转入本院新生儿科。大婴实验室结果为血红蛋白 (Hb): 124 g/L、血小板 (Plt):  $31 \times 10^9/L$ 、总胆红素 (TB): 121.7  $\mu\text{mol/L}$ 、小婴实验室结果为 Hb: 98 g/L、Plt:  $81 \times 10^9/L$ 、TB: 87.7  $\mu\text{mol/L}$ 。

doi: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.031

#并列第一作者;  $\Delta$ 通信作者: 陈剑 (1969.02-), 女, 副主任医师, 主要从事临床输血相关研究, 座机: 028-85501354, Email: 896268307@qq.com

(第 3 组), 虽然 A 型红细胞在镜下有轻度凝集, 但细胞膜完整, 取 1 滴加玻片上, 加盐水后轻摇即散开, 证实为假凝集。

AIHA 患者如果血浆/血清中有游离的自身抗体, 自身抗体会非特异性凝集抗筛细胞。因此, 抗体筛查 (抗筛) 前必须去除自身抗体<sup>[1]</sup>。本组间抗阳性 20 例, 去除自身抗体以前抗筛均阳性。去除自身抗体可以用自身红细胞氯喹放散反复操作后, 直至 DAT 阴性, 再用该红细胞吸收血浆中自身抗体。本组用此法排除自身抗体干扰后再做抗筛, 证实被自身抗体掩盖的同种抗体 6/20 例。间抗阳性的 AIHA 患者, IAT 主侧配血均会有凝集, 因此输血必须凭精准的抗筛结果选择供者, 即选择与患者 ABO、RhD 同型、缺乏不规则抗体对应抗原的红细胞配血, 并作自身对照, 选择凝集不强于自身对照

的供者红细胞输注<sup>[3]</sup>。本组 6 例抗筛阳性者, 鉴定出抗体特异性后用此法配血输血, 均避免了无效输血或溶血加重。

## 参考文献

- [1] 兰炯采. 加强对自身免疫性溶血性贫血输血前试验的研究. 中国输血杂志, 2012, 25(4): 295-296.
- [2] 兰炯采, 贡中桥, 陈静娴. 输血免疫学实验技术. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 32-34, 37-38, 45-47, 67-70.
- [3] 兰炯采. 自身免疫性溶血性贫血患者的配血试验. 中国输血杂志, 2015, 28(7): 753-754.

(2017-02-24 收稿, 06-20 修回)

本文编辑: 夏玲

2 血型血清学检测

2.1 试剂与仪器 抗体筛查细胞(西班牙 GRIFOLS, 批号 16032); 抗体谱细胞(荷兰 SanQuin, 批号 8000229188); 人 ABO 反定型用红细胞(北京金豪, 批号 2016123021); 抗-D (IgM) 血型定型试剂(上海血液生物, 批号 20151805); ABO/Rh 正反定型血型定型试剂卡(Ortho BioVue, 批号 ABR184A); 微柱凝胶卡(西班牙 GRIFOLS, 批号 16049.01)。戴安娜全自动配血及血型分析仪(西班牙 GRIFOLS); 电热恒温水箱(上海跃进); KDC-40 低速离心机(安徽科大中佳); KA-2200 细胞洗涤离心机(日本 KUBOTA); 孵育器及离心机(西班牙 GRIFOLS)。

2.2 双胎新生儿 RhD 抗原血清学鉴定 用微柱凝胶法、盐水玻片法、盐水试管法检测(方法参考试剂说明书), RhD 抗

原均为 RhD 阴性, 将 2 名患儿红细胞先用 37℃ 生理盐水洗 3 遍, 然后于 45℃ 水浴箱中热放散 15min, 取出后再用 37℃ 生理盐水洗涤 3 次, 取红细胞盐水试管法检测 RhD 抗原, 结果均为 RhD 阳性(2+), 证明了 2 名新生儿红细胞上存在 RhD 抗原。

2.2.1 双胎新生儿 RhD 抗原分子生物学鉴定 送中国医学科学院北京协和医学院输血研究所, 检测方法及步骤参见<sup>[2]</sup>, 双胎新生儿基因检测结果均为 RHD/d。

2.2.2 母亲、父亲、大婴、小婴的 ABO 血型和 Rh 分型 分别为 B、dCCee; B、DCcEe; O、DCcEe; B、DCcEe。

2.3 不规则抗体筛查与抗体鉴定 将母亲、大婴、小婴血浆分别与抗体筛查细胞和抗体鉴定谱细胞进行反应, 反应格局如表 1, 结果显示母亲、大婴、小婴血清中均存在抗-D。

表 1 不规则抗体筛查与抗体鉴定结果

序号	Rh-Hr																				实验结果(血清)												
	kell					Duffy				Kidd		Lewis		P	MNS				Luther		Xg	母亲			大婴			小婴					
	C	D	E	c	e	C <sup>W</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	盐水	AHG	盐水	AHG	盐水	AHG	
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+	
2	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+	
3	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+	
4	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+	
5	+	0	0	0	+	0	0	+	0	+	/	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	
6	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	
7	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	/	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	
8	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	
9	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	/	+	+	0	w	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	
11	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	/	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+	
12	W	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	3+	2	2+	0	2+	
13	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	
14	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	/	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0	3+	0	2+	0	2+	
15	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
16	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
抗筛 I	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+	
抗筛 II	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	+	w	+	+	0	+	0	+	+	0	3+	0	2+	0	2+
抗筛 III	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0

2.4 双胎新生儿溶血试验 3 项检测结果 见表 2。

表 2 双胎新生儿溶血试验 3 项结果

	DAT	ABO 外游离试验	ABO 外放散试验
大婴	4+	3+	4+
小婴	4+	3+	4+

2.5 母亲抗-D 效价测定结果 母亲生产前和生产后抗-D 效价分别为 1 024、1 024。

2.6 双胎新生儿换血及输血前后 Plt、Hb、TB、抗-D 效价的变化 见表 3 和表 4。

表 3 大婴换血及输血前后各项检测指标的变化

	Plt(×10 <sup>9</sup> /L)		Hb(g/L)		TB(μmol/L)		抗-D 效价	
	前	后	前	后	前	后	前	后
第 1 次换血	128	34	85	141	121.7	134.1	512	512
第 2 次换血	17	26	97	188	210.4	195.2	512	512
第 3 次输血	90	77	93	139	37.1	20.9	128	64

表 4 小婴换血及输血前后各项检测指标的变化

	Plt(×10 <sup>9</sup> /L)		Hb(g/L)		TB(μmol/L)		抗-D 效价	
	前	后	前	后	前	后	前	后
第 1 次换血	251	81	98	130	87.7	123.9	512	512
第 2 次输血	105	91	97	132	101.1	58.3	512	512
第 3 次输血	223	216	98	152	45.3	38.3	128	128

3 讨论

Rh 血型不合引起的 HDFN 临床症状通常比较严重, 尤以 RhD 血型不合引起的 HDFN 最为严重, 通常发生在 2 胎及以后, 很容易导致新生儿出生后出现黄疸、贫血、水肿、肝脾肿大, 甚至死胎或新生儿死亡等, 如治疗不及时, 病死率极高<sup>[3]</sup>。通常母亲抗体效价与 HDFN 的发病率呈正相关<sup>[4]</sup>, 一般认为 Rh 血型不合抗体效价在 16 时具有临床意义, 需密切监测胎儿相关指标变化<sup>[5]</sup>。

本病例中, 母亲抗-D 效价高达 1024, 考虑与其输血、反

复妊娠及流产有关。双胎新生儿初次血型鉴定盐水法、试管法、血型卡检测 RhD 抗原均为阴性,由于患儿全身皮肤黄染、贫血貌、胆红素升高、临床表现严重、并发多种症状,结合母亲抗-D 效价为 1024,实验室考虑初次 RhD 血型鉴定结果可能为假阴性,疑似 RhD 抗原“遮蔽现象”,我们将患儿红细胞在 45℃ 进行热放散试验,第 1 次热放散后 D 抗原仍为阴性,考虑热放散时震荡力度不够,重复试验时加大震荡力度, RhD 抗原检测结果为阳性(2+),由此说明红细胞上存在 D 抗原,随后的基因血型检测报告也证实了该结果。本病例的经验总结:对可能发生 HDFN 的新生儿,实验室不能以初次检测 RhD 阴性就直接报告该结果,一定要结合母亲产前抗体情况和新生儿产后的临床表现来明确结果的可靠性和下一步的检测方案。

患儿输血、换血血液制品的选择: ABO 血型同患儿, RhD 血型同母亲,为纠正贫血和高胆红素血症,大婴进行了 2 次换血、1 次输血,小婴 1 次换血、2 次输血。通常 1 次换血治疗,能够置换出患儿体内约 85% 的致敏红细胞和抗体<sup>[6-7]</sup>,降低胆红素 30%~40% 左右<sup>[8-9]</sup>。本病例双胎患儿第 1 次换血后,血红蛋白水平明显升高,但胆红素水平不仅未降低反而上升,可能原因为:胎儿在母亲体内时,由于 HDFN 导致红细胞的致敏和破坏,使患儿血红蛋白下降,胆红素上升,但升高的胆红素可以通过母亲肝脏代谢而排到母体外,一旦脱离母体,患儿的肝脏系统发育不够完善,对胆红素的代谢能力急剧下降,导致出生后胆红素水平急剧升高。即便出生后立即予以换血,但换血后残留在患儿体内的致敏红细胞仍然不断地被破坏,导致患儿胆红素短期内继续升高。但通过多次换血或输血治疗,患儿体内致敏的 RhD 阳性红细胞被 RhD 阴性红细胞置换出来,胆红素水平也逐渐降低。

同时我们发现换血和输血治疗后患儿血浆中抗体效价无明显下降,可能是由于 IgG 抗-D 不仅分布于血管内,还分布于血管外的组织器官中,且后者为多,半衰期较长,故尽管血浆内的 IgG 抗-D 被置换出来,但血管外组织器官中高含量的 IgG 抗-D 仍然可以通过扩散作用不断地进入血管内<sup>[10]</sup>。所以仍需对患儿进行随访,并定期监测胆红素水平。

换血和输血治疗后,由于换入和输入的血液制品中没有血小板,导致患儿换血和输血后血小板均有下降,因大婴血小板降低明显,达到输注血小板的指征:血小板低于  $30 \times 10^9 / L$ <sup>[11]</sup>,为防止发生出血现象,大婴在换血后予以预防性输注

血小板,患儿未见出血症状。

本病例提示,产前 RhD 阴性和特殊情况的孕产妇进行抗体筛查和鉴定,对其新生儿可能发生 HDFN 的输血换血救治具有非常重要的临床意义。随着我国“二孩政策”的放开, RhD 阴性女性孕产 2 胎的几率明显增高,为避免 HDFN,建议对抗体筛查阴性的孕妇在生产前注射抗-D 免疫球蛋白<sup>[12]</sup>,本病例中 RhD 阴性孕妇曾经有过输血史及妊娠史,但没有使用抗-D 免疫球蛋白预防 HDFN(目前国内尚没有该制品),导致本次双胎新生儿重度 HDFN 并 RhD 抗原“遮蔽现象”。

参 考 文 献

[1] Moise KJ Jr, Argoti PS. Management and prevention of red cell alloimmunization in pregnancy: a systematic review. *Obstet Gynecol*, 2012, 120(5): 1132-1139.

[2] 陆松松, 宋宁, 李宏, 等. 两步法分析 RhD 阴性及 D 变异体分子机制. *中国输血杂志*, 2011, 24(3): 219-222.

[3] 张秋会, 于长江, 张献清, 等. 新生儿溶血病致 D 抗原遮蔽现象引起 D 抗原假阴性的鉴定与分析. *临床血液学杂志*, 2013, 26(4): 219-221.

[4] Moise KJ. Hemolytic disease of the fetus and newborn. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2013, 11(10): 664-666.

[5] 王婧, 潘家华. 母婴 Rh 血型不合溶血病的诊治进展. *中国新生儿科杂志*, 2016, 31(2): 152-155.

[6] 陈妙蝉, 蔡葵. 换血治疗重症新生儿高胆红素血症血液指标效果分析. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(8): 966-967.

[7] 蒋永江, 陈继昌. 新生儿高胆红素血症换血治疗研究新进展. *中国实用医药*, 2007, 2(1): 44-45.

[8] 吴孟兴, 屈柯暄, 周蓉, 等. 新生儿溶血病换血治疗临床效果分析. *检验医学与临床*, 2014, 11(24): 3459-3462.

[9] 向静, 王宁, 阿布力克木·吐尔地. 核因子- $\kappa$ B 信号通路的研究进展. *新疆医科大学学报*, 2011, 34(1): 15-17.

[10] 徐文皓, 李志强. 血浆置换术治疗高效价抗-D 患者效果评价. *中国输血杂志*, 2011, 24(9): 752-754.

[11] 胡庆文, 赵国胜. 新生儿重症监护病房重度血小板减少患者的血小板输注治疗. *国际输血及血液学杂志*, 2002, 25(6): 567-567.

[12] 郭永建. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(三). *中国输血杂志*, 2016, 29(10): 1210-1218.

(2017-02-27 收稿, 06-20 修回)

本文编辑:夏玲

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www. cjbt. cn

bloo. cbpt. cnki. net

# 陕西省血液核酸集中化检测的实践和探讨

段勇 郭燕 叶世辉<sup>△</sup>(陕西省血液中心,陕西 西安 710061)

**摘要:目的** 总结陕西省血液核酸集中化检测情况,分析存在的问题,探讨今后推进核酸集中化检测应关注的环节额。**方法** 对陕西省血液中心 2015 年 12 月-2016 年 8 月标本核酸集中化检测情况进行分析。**结果** 2015 年 12 月-2016 年 8 月,陕西省血液中心共检测血液核酸标本 211 012 份,其中集中化检测标本 89 602 份,占总检测量的 42.4%。核酸阳性标本共检出 207 份,阳性率 0.98%,其中集中化检测标本检出阳性 98 份(1 份 HIV,97 份 HBV),阳性率 1.09%,血液中心标本检出阳性 109 份(均为 HBV),阳性率 0.9%。**结论** 陕西省血液核酸集中化检测可发挥血液中心的资源优势,提高血液检测系统化、规范化、科学化水平,完善区域内信息化建设和应急血液联动机制,进一步保障区域化血液安全和应急用血。

**关键词:** 血站;集中化检测;核酸检测

**中图分类号:** R457 R446 **文献标识码:** C **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0957-03

**Implementation and reflection of centralized blood screening of nucleic acid test in Shaanxi province** DUAN Yong, GUO Yan, YE Shihui. Shaanxi Blood Center, Xi'an 710061, China. Corresponding author: YE Shihui

**Abstract: Objective** To summarize the operation of Centralized Blood Screening (CBS) in Shaanxi province, to analyze existing problems and discuss some associated ideas in promoting CBS in future. **Methods** The detection results of CBS from December 2015 to August 2016 were analyzed. **Results** Among the 211 012 samples detected by nucleic acid testing (NAT) from December 2015 to August 2016 in Shaanxi province, 89 602(42.4%) were from CBS. 207 samples were positive in total and the positive rate was 0.98%, among which, 98 (1 was HIV positive and 97 were HBV positive) were from CBS and 109 (all were HBV positive) were from Shaanxi Blood Center and the positive rates were 1.09% and 0.9% respectively. **Conclusion** CBS could provide Blood Center with comprehensive benefits, promote the systematization, standardization and scientization of blood detection, improve regional information construction and blood emergency response mechanism, and guarantee emergency blood use.

**Key words:** blood stations; centralized blood screening (CBS); nucleic acid test (NAT)

2006 年卫生部颁布的《血站管理办法》中要求各省级血液中心“应承担所在省、自治区、直辖市血液的集中化检测任务”。2013 年《血站设置规划指导原则》(卫计生发〔2013〕23 号)中明确要求“血液中心实验室应当承担区域集中化检测任务”,国家卫计委还在《全面推进血站核酸检测工作实施方案(2013-2015 年)》以及《推进血站核酸检测的三年行动规划》中对血液核酸集中化检测进行全面、具体的部署。陕西省血液中心 2015 年 12 月起对省内安康、商洛、铜川、延安、榆林 5 个血站的血液标本进行核酸集中化检测,2016 年 4 月起对解放军西安血站的血液标本进行核酸集中化检测。截止 2016 年 8 月 31 日,共集中化检测标本 89 602 份,运行情况良好,现将核酸集中化检测实践的经验体会介绍如下。

## 1 核酸集中化检测的背景

2015 年 11 月陕西省卫计委下达文件,为全面推进全省血液核酸检测工作,要求未开展核酸检测的安康、商洛、铜川、延安、榆林 5 个血站 11 月底前将血液标本送至陕西省血液中心进行核酸检测,2016 年 4 月起解放军西安血站的标本

送至陕西省血液中心进行核酸集中化检测。

陕西省血液中心 2012 年 6 月份通过核酸实验室验收,正式开展血液核酸检测工作,年检测标本量为 17 万份,日检测标本量约 450 人份。开展核酸集中化检测以后,每日将增加 300-400 人份检测量,核酸实验室从人员配备、检测能力及质量管理等多方面有能力承担日检测量 800 人份核酸集中化检测任务。

陕西省血液中心地处省内中心,榆林、延安位于陕北地区,安康、商洛位于陕南、铜川位于关中地区,榆林最远距离西安 600 公里,其余 4 个血站距离西安均不到 250 公里。5 个地市到西安均有高速公路,延安还有高铁直达,能够实现每日集中化检测血液标本的运输。

## 2 核酸集中化检测前的准备

**2.1 双方签署集中化检测合同** 合同指定双方联络人,明确各自的法律责任及义务,规定检测费的收取标准及方式、检测标本运送时间及方式、检测结果的发布时间及方式。

**2.2 血液管理系统的改造升级** 由于陕西省血液中心和这 6 家血站使用不同厂家的血液计算机管理系统,1 个月时间内不能实现相互之间信息化联网。因此,仅对陕西省血液中心信息系统的血液检测模块进行升级,增加了集中检样本的

识别接收和检测报告发布功能。

**2.3 血液运输方式的选择** 为保证血液标本运输质量,节省人力物力,选择专业的具有冷链运输经验的标本运输物流公司,使用专业血液标本运输箱,运输全过程实现冷链控制,保证血液标本质量。

**2.4 人员培训**陕西省血液中心制定《血液标本接收、处理、保存、销毁操作规程》、《检测报告审核、签发管理程序》,对相关岗位职责、采血试管规格、标本留取量、标签粘贴方法及位置、标本保存条件、包装及运输方式、运输途中注意事项、接收标准、再检标本的留取方式及质量标准、检测报告的发放和接收、相关质量记录的填写等内容作出规定,并进行培训。

### 3 核酸集中化检测的实施

**3.1 标本的采集、离心及储存** 核酸标本采用含惰性分离胶的 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管,留取 5 mL 静脉血,标本留取后试管立即颠倒混匀 6-8 次。核酸标本采集后放置 4℃ 冰箱保存,并在 4 h 内进行离心处理,离心机使用水平转子,离心力 800-1 600 g,离心 20 min,离心后血浆量应不少于 2 mL。核酸标本采集后,在离心处理前后应保存在 2-8℃。

**3.2 标本的挑拣** 除榆林外,其余 5 家送检单位在酶免检测和 ALT 检测完成后,挑出不合格标本,仅送检酶免检测和 ALT 检测合格的核酸标本。由于榆林地理位置最远,核酸标本在酶免检测和 ALT 检测完成之前送检,由陕西省血液中心集中化检测实验室负责酶免检测和 ALT 检测不合格标本的挑拣。送检单位核酸标本的处理流程图见图 1。

**3.3 标本的包装与运输** 标本管置于试管架,试管架隔离密封包装,包装材料应防水、防破损、防外泄、保温、易于消毒处理,放置标本运输箱时标本管口向上。运输采用专业标本运输箱,运输过程温度控制在 2-10℃,避免剧烈颠簸。

**3.4 标本的交接** 送检单位标本运抵陕西省血液中心血液检测实验室后,双方工作人员当面交接,实验室人员将核酸检测标本逐个扫描,录入标本信息。同时逐一检查标本质量是否符合要求。如存在标本管上无标识或标识不清、不正确,标本管不符合要求,标本量不足或被稀释等不符合要求的情形,将予以拒接。拒接的标本信息,及时通知送检单位,重新进行留样。标本交接完成后,打印标本交接单(包括合格和拒接标本),双方签字确认。

**3.5 标本的检测和结果报告发布** 为便于集中化检测结果的追溯、档案保存和查询,集中化检测的标本与陕西省血液中心的标本分开进行检测。集中化检测报告通过扫描,以 PDF 文件格式邮件发送到送检单位,保证核酸标本在 72 h 内进行检测。集中化检测工作流程图见图 1。

**3.6 标本的保存和处理** 检测后的不合格标本,按照《血液标本接收、处理、保存、销毁操作规程》进行处理,合格标本将原试管标本放置标本专用保存盒,置-25°冷库保存,保存时间不少于 3 年,同时打印标本留样信息进行保存。

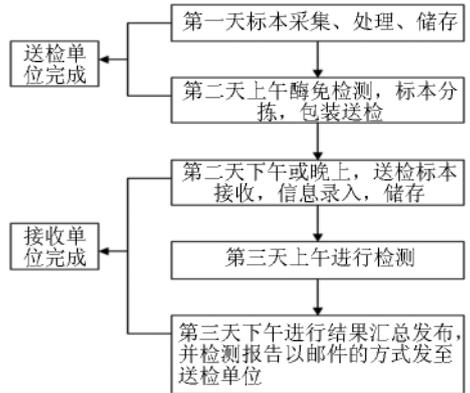


图 1 集中化检测工作流程图

### 4 核酸集中化检测实践体会

**4.1 集中化检测的优点** 采供血机构血液集中化检测可以有效整合资源,降低行政管理和血液检测成本,提高血液检测水平。国内一些地区前期已经开展集中化检测或进行相关探讨<sup>[1-5]</sup>。根据国家卫计委的要求,血液核酸检测在 2015 年底全面开展,对于一些采供血机构来说,短时间内新建核酸实验室、购置仪器、培训检测人员等存在较大困难。陕西省安康等 6 家血站规模较小,6 家血站每日合计标本仅 300-400 份,陕西省血液中心承担集中化检测工作后,可充分利用陕西省血液中心先进的检测设备和技术力量,发挥血液中心的资源优势,提高血液检测系统化、规范化、科学化水平,提高集中化检测区域内血液安全性,这是小型血站各方面条件较局限的实验室难以做到的。

**4.2 核酸集中化检测结果** 2015 年 12 月-2016 年 8 月,陕西省血液中心共检测血液核酸标本 211 012 份,其中集中化检测标本 89 602 份,占总检测量的 42.4%。核酸阳性标本共检出 207 份,阳性率 0.98‰,其中集中化检测标本检出阳性 98 份(1 份 HIV, 97 份 HBV),阳性率 1.09‰,血液中心标本检出阳性 109 份(均为 HBV),阳性率 0.9‰。

**4.3 集中化检测运行中的主要问题** 由于核酸检测对标本要求较高,在集中化检测开始前对送检单位和运输公司重点进行标本质量要求及有关注意事项的培训。在实际运行中发生的问题主要与标本有关:1) 标本不符合要求,如严重的乳糜标本 16 份,严重的溶血标本 1 份,未离心标本 7 份,这些标本全部拒收,要求重新送样;2) 标本数量与清单数量不符的情况,与送检单位电话沟通核实;3) 检测过程中发生标本 1 份撒漏,通知送检单位重新留样,送检。以上问题也提示我们,标本质量问题是集中化检测工作重点关注的环节。由于标本运输由专业标本运输公司承担,保证了运输过程的冷链控制和标本运输的质量,标本运输环节未出现问题。

### 5 集中化检测今后需要关注的问题

陕西省血液中心开展的集中化检测,是为完成陕西省 2015 年内全省血液核酸检测全覆盖的紧急任务,是权宜之策,如果将来常规开展集中化检测工作,我们应考虑以下几点:

**5.1 信息系统区域内联网** 陕西省血液中心与 6 家送检单

位使用的信息管理系统没有进行联网,标本检验前的信息和检验中、检验后的信息未实现关联,集中化核酸检测报告的发布采用原始的纸质报告,核酸检测结果未能与送检单位酶免结果在系统内自动汇总,送检单位需要手工录入核酸不合格结果信息,采供血过程没有实现“血管到血管”的全过程信息化管理,存在血液安全隐患。如果长期开展核酸集中化检测工作,送检单位与检测单位使用标准化信息管理系统,建立集中化检测区域内信息系统联网,实现送检单位与检测单位数据库共享,标本检验前、检验中、检验后以及检测结果与血液隔离放行、临床发放等过程关联,实现集中化检测模式下采供血全过程的信息化管理。

## 5.2 集中化检测应急保障系统的建立

**5.2.1 集中化检测备用实验室** 集中化检测实验室如果发生问题,将会对整个区域的血液供应产生严重的影响,因此,应至少建立 1 个异地的集中化检测备用实验室。备用实验室应至少不与常规集中化检测实验室在同一座楼内,具备与常规集中化检测实验室同等检测能力,在发生突发事件时,可随时启用,能独立完成所有的检测。

**5.2.2 信息管理系统的备份** 集中化检测区域内联网的系统应建立完善的备份系统,至少包括数据库、网络线路、存储器等,并实现数据库的实时备份,在条件和资金允许的情况下,争取建立异地的备份系统<sup>[6]</sup>。

**5.2.3 紧急供血应急措施** 血液核酸集中化检测周期长,一般为 48-72 h,在血液库存少或者临床紧急用血时,极有可

能发生因核酸检测结果未出,影响临床供血。因此,实施集中检测后,各血站应提前采取各种措施,如提高血液库存量、规范特殊和稀有血液成分提前预约机制等,保证临床供血。除此之外,还应探讨建立区域内血液紧急调配机制,在集中化检测实现区域内信息系统联网、数据库信息共享的基础上,实现血液应急调配时检测结果互认、调入血液可以不用更换标签、不再进行检验、可以直接发往临床,简化血液调配流程,保证紧急情况的临床供血。

## 参考文献

- [1] 刘庆武,马孝英,王金玉,等.宁夏实行全区血液集中化检测工作探讨.中国输血杂志,2009,22(2):151-152.
- [2] 张勇,姜标.血站集中化检测中几个关键点的控制.临床输血与检验,2005,7(3):209.
- [3] 沈武,王迅.血液安全与集中化检测.中国输血杂志,2005,20(2):184-186.
- [4] 胡文辉,程时平.跨地区集中化检测工作的几点认识和体会.中国输血杂志,2009,22(5):414-416.
- [5] 程时平,王水应.合理利用卫生资源,提高血液安全.中国输血杂志,2006,19(2):172-173.
- [6] 邹峥嵘,周国平,朱永明.血站血液集中化检测的实践与思考.中国输血杂志,2014,27(11):1085-1087.

(2016-10-25 收稿,2017-06-02 修回)

本文编辑:闻欣

## · 输血管理 ·

# 临床用血评价系统的建立与应用

何桂鲜 黄杰<sup>△</sup> 夏芹芹(成都市第二人民医院 输血科,四川 成都 610021)

**摘要:目的** 通过对本院临床用血评价系统建立后相关数据的分析,探讨更加有效、合理的评价方法与考核指标,推进临床科学合理用血,节约血液资源。**方法** 制定临床合理用血评估及公示制度,建立本院输血适应证,严格分级分层管理,严格执行临床用血申请分级审批、计划符合性评价、输血前适应证和输血后效果评价及输血病历抽查考核,总结分析 2012-2014 年之间用血趋势及合理用血评价相关指标数据。**结果** 经过实践临床用血评价系统后,用血趋势上:2013 年和 2014 年相比 2012 年,手术台次和出院人次及用血量均有所增加,但 2013 年单位手术台次红悬用量由 2012 年的 0.4 U 降至 0.28 U、血浆用量由 2012 年的 0.47 U 降至 0.14 U;单位出院人次红悬用量由 2012 年的 0.14 U 降至 0.11 U、血浆用量由 2012 年的 0.16 U 降至 0.06 U,2014 年相比 2013 年单位手术和单位出院人次红悬的用量持续下降,血浆用量基本持平。合理用血上:2013 年比 2012 年红悬合格率,输血申请单合格率,计划符合性合格率,及自体输血率均有所提高,2014 年较 2013 年血浆的合理用血也有所提高。**结论** 通过制定和完善临床用血评价制度,建立临床合理用血评价体系,加强临床用血管理,能有效促进我院临床合理用血并节约血液资源。

**关键词:** 临床用血评价;合理用血;用血趋势

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>2 **文献标识码:** C **文章编号:** 1004-549X(2017)8-0959-04

**Establishment and application of clinical blood transfusion evaluation system** HE Guixian, HUANG Jie, XIA Qinqin. Department of Transfusion, Second People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610021, China. Corresponding author: HUANG Jie.

**Abstract: Objective** To analyze our hospital's clinical blood transfusion data which was collected after the new estab-

ishment of clinical blood transfusion evaluation system into practice, and to discuss more effective and reasonable evaluation methods and evaluation indexes, so as to improve the scientific and rational use of blood and to preserve clinical blood resources. **Methods** Assessment and promotion on rational clinical use of blood was established. Clinical indications for transfusion were created in our hospital and strict hierarchical management policy. The grading transfusion approval and compliance evaluation plan were implemented strictly. The pre-transfusion indication and post-transfusion effect was evaluated, in addition to an assessment of blood transfusion records. Furthermore, blood use tendency and rational blood use evaluation data between 2012 and 2014 were analyzed. **Results** After the practice of clinical blood transfusion evaluation system, in accordance with the trend of blood use, compared to 2012, all operations, discharges and blood usage increased in 2013 and 2014, but the suspended red blood cell dosage per operation in 2012 were 0.4 U, which declined to 0.28 U in 2013 and the amount of plasma per operation declined from 0.47 U to 0.14 U. The unit discharges of suspended red blood cell dosage declined from 0.14 U in 2012 to 0.11 U in 2013 and the amount of plasma declined from 0.16 U to 0.06 U. Compared to 2013, the suspended red blood cell usage per operation and per discharges continued to decline in 2014 and correspondingly, same amount of plasma also declined. On the rational use of blood, an improvement was seen in the reasonable utilization rate of suspended red blood cell and blood plasma, the eligibility rate of blood transfusion application and the compliance rate of blood use plan and the rate of autologous blood transfusion in 2013 than 2012, and in 2014 compared with the year of 2013. **Conclusion** Through the development and improvement of clinical blood use evaluation system and the establishment of clinical blood transfusion evaluation system, the enhancement of clinical blood management not only can promote the scientific and rational use of blood in our hospital effectively, but also can preserve the blood resource.

**Key words:** clinical blood transfusion evaluation system; rational use of blood; trend of blood use

血液制品是一种特殊的医疗用品,输血治疗是治疗某些疾病和抢救治疗的重要手段<sup>[1]</sup>。但输血也存在感染经血传播性疾病等风险,同时近几年我国临床用血快速增长,全国许多地方血液供应紧缺已成为常态<sup>[1]</sup>。作为大型综合医院,我们贯以提高合理用血水平,使每次输血治疗尽可能取得预期效果,将血液效用最大化作为临床服务的宗旨。随着 2012 年 8 月 1 日颁布的《医疗机构临床用血管理办法》出台,我院相应建立及完善了一系列的临床合理用血制度,包括临床用血申请审批制度、临床合理用血评估及公示制度,加强用血管理,加强合理用血培训,严格按制定的输血适应证进行评价考核、严格进行输血申请单、用血计划符合性的评价,提高临床医生合理用血的意识,从而节约了临床用血,提高了输血质量。本研究根据以上政策制定前后的数据分析,分析我院临床用血持续改进情况。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床用血评价系统方法建立

**1.1.1 临床用血评价制度建立** 根据 2012 年出台的《医疗机构临床用血管理办法》,我院制定了《临床用血管理办法实施细则》,具体明确了用血质量管理组织及各职能部门责任,并制定了《临床用血评估及公示制度》、《输血适应证》,完善了《临床用血申请审批制度》,其中建立起了分级审批的程序及临床用血评价组织结构,制定了评价标准、评价的具体内容、职能部门考核办法,并组织医护人员进行培训。

#### 1.1.2 临床用血评价方案的制定

**1.1.2.1 分级评价** 按临床科室用血管理小组—输血科—医务部、质管部进行分级评价。

**1.1.2.2 评价标准** 《医疗机构临床用血管理办法(2012 年版)》、《临床输血技术规范》及医院《临床用血管理办法实施细则》、我院《输血适应证》,对科室和医师临床用血情况

进行评价。

**1.1.2.3 明确评价具体内容** 1) 临床科室用血管理小组自查:负责每月对本科室医师合理用血情况、临床用血医疗文书规范书写进行评价,按要求并进行统计分析,包括:患者输血百分比、输血适应证合格率、输血同意书签署率、输血病程记录(及时性、完整性与真实性等)、填写是否规范统一(手术记录、麻醉记录、护理记录术后记录中输血量与发血量一致)等,填写表格上报医务部质量管理办公室、输血科。2) 输血科输血管理人员核实临床上交表格。3) 输血科对临床用血情况进行评价:包括每月统计分析各科输血量及输血率、申请单合格率(100%考核)、计划用血符合性统计(100%考核)、输血不良反应统计(100%考核)、医生每次合理用血评价及统计(考核覆盖 90%),每季度统计以上各指标,进行科室排名并与上年同期进行横向比较分析。4) 输血科将临床用血情况向用血科室反馈。5) 输血科将临床用血情况向职能部门上报。从 2014 年开始并将全院用血情况在本院《医务简讯》上进行公示;将医生及科室不合理用血情况向医务科及质管部汇报,医务科向科室发出整改通知要求整改。6) 输血科对临床用血情况向临床用血管理委员会上报,分析问题,提出整改措施。7) 职能部门每月抽查临床用血病历。

**1.2 资料** 计算 2012-2014 年全院输血量及成分输血率、申请单合格率、用血计划符合率、自体输血率,结合本院使用的智方输血管理软件及检验之星软件查询输血实验室检测指标、输血后评价实验室检测指标,统计分析合理用血评价合格率、适应证合格率。

**1.3 血液计量方法** 手工分离血液成分按 200 mL 全血制备为 1 U,血浆 100 mL 为 1 U。

**1.4 数据分析相关指标** 1) 输血量:各种血液成分的用血量及用血总量;2) 成分输血率:成分输血量/用血总量×100%;3) 用血人次:相当于申请用血次数,1 位患者可进行多

次输血,按次进行计算,对每位医生每次用血进行评价;4)输血申请单合格率=申请单合格数/总申请单数×100%,输血申请单考核四项(申请医生是否签名、审核医生是否签名、输血传染性指标是否检查、输血适应症指标是否检查),缺一项为不合格,按科室统计合格率;5)计划符合性符合率=计划符合申请单数/总申请单数×100%,每张输血申请单实际用血量超过申请量 1 倍及以上算不符合,按科室统计符合率;6)输血适应证合格率=输血前适应证合格次数/总用血次数×100%,适应证指标按我院《临床输血适应证》中指征进行内外科输血评判,具体到每位医生每次用血的考核,最后按医生、科室进行统计排名;7)合理用血评价合格率=用血评价合格次数/总用血次数×100%,对适应证实验室指标未查或输血后 HB>100 g/L 者算为评价不合格,具体到每位医生每次用血的考核,最后按医生、科室进行统计排名。8)手术科室自体输血率=手术科室自体血回输总量/(手术科室自体血回输总量+手术科室输注异体红细胞总量)×100%。医院自体输血率=手术科室自体血回输总量/(全院自体血回输总量+全院输注异体红细胞总量)×100%。9)所有数据均采用 office 2007 计算。

2 结果

2.1 用血量及用血趋势分析 由表 1 可见,2013 年和 2014 年比 2012 年的手术台次和出院人次均增加,而单位手术台次红悬用量却由 2012 年的 0.4 U 降至 0.28 U,血浆用量由 2012 年的 0.47 U 降至 0.14 U,单位出院人次红悬用量由 0.14 U 降至 0.11 U,血浆用量由 2012 年的 0.16 U 降至 0.06 U。2014 年相比 2013 年单位手术和单位出院人次红悬的用量持续下降,分别为 0.23 U 和 0.09 U,血浆用量基本持平,分别为 0.15 U 和 0.06 U。

表 1 2012 年到 2014 年全院平均手术台次和平均出院人次用血量

	红悬(U)	血浆(U)	手术台次	单位手 出院 人次	单位出 院 人次	单位手 术台次 红悬用 量(U)	单位出 院 人次 红悬用 量(U)	单位手 术台次 血浆用 量(U)	单位出 院 人次 血浆用 量(U)
2012 年	3 999.5	4 716.5	9 949	29 390	0.40	0.14	0.47	0.16	
2013 年	4 287.0	2 209.0	15 306	39 413	0.28	0.11	0.14	0.06	
2014 年	4 833.5	3 214.0	21 046	52 155	0.23	0.09	0.15	0.06	

2.2 输血适应证及用血评价合格率 2012 年用红悬评价合格率为 71%、红悬适应证合格率为 79%,血浆评价合格率为 49%、血浆适应证合格率为 57%,2013 年用红悬血评价合格率为 83%、红悬适应证合格率为 91%,血浆评价合格率为 62%、血浆适应证合格率为 74%,2014 年用红悬血评价合格率为 92%、红悬适应证合格率为 96%,血浆评价合格率为 78%、血浆适应证合格率为 96%,2013 年、2014 年较 2012 年以上各指标都在逐渐提高,特别是血浆,如表 2 所示。

表 2 2012 年至 2014 年红悬血浆合理用血数据

	红悬应用 评价合格率	红悬适应 证合格率	血浆应用 评价合格率	血浆适应 证合格率
2012 年	71%	79%	49%	57%
2013 年	83%	91%	62%	74%
2014 年	92%	96%	78%	96%

2.3 输血申请单合格率 2012 年对 2 518 张输血申请单进

行考核,总合格率为 90%;2013 年对 3437 张输血申请单进行考核,总合格率为 93%;2014 年对 4 405 张输血申请单进行考核,总合格率为 97%,如表 3 所示。

表 3 2012-2014 年输血申请单合格率 (%)

	1 月	2 月	3 月	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
2012 年	80	85	88	86	89	91	93	94	95	92	91	90
2013 年	82	90	93	89	90	92	96	99	97	95	97	95
2014 年	97	92	96	96	96	98	96	99	96	98	95	97

2.4 计划符合性 2012 年对 1 832 次输血申请进行了计划符合性统计,符合次数为 1 777,合格率为 97%;2013 年对 2 781 次输血申请进行了计划符合性统计,符合次数为 2 737,合格率为 98%;2014 年对 3 784 次输血申请进行了计划符合性统计,符合次数为 3 780 张,合格率为 99.9%。

2.5 成分输血率 2012-2014 年全院无全血输注情况,成分输血率为 100%。

2.6 自体输血 2013-2014 年全院术中自体输血率如表 4 所示,经我院临床输血评价系统建立后,逐渐重视临床输血新技术的开展,我院术中红细胞自体输血情况在 2013 年和 2014 年均较大的发展。

表 4 术中红细胞自体输血

	术中自体 输血量(U)	术中异体 输血量(U)	术中自体 输血率(%)	全年自体 输血率(%)
2013 年	346	174	66.5	7.5
2014 年	212	222	48.8	4.2

3 讨论

随着 2012 年 8 月 1 号新的《医疗机构临床输血管理办法》的颁布,我院临床输血管理委员会根据要求建立了《本院临床输血管理办法实施细则》,建立和完善了合理用血管理考核及公示制度,加强了合理用血的培训,建立起了临床科室用血管理小组-输血科-职能部门三层的输血评价管理结构,于 2013 年开始进行临床用血评价,输血科按月、按季度对临床用血相关数据进行收集、整理、统计、分析,将统计分析结果反馈到临床、上报到职能部门,职能部门根据输血科每月、每季度反馈情况及病历抽查情况分析总结、评价考核。

以上考核评价数据显示从 2013 年本院执行临床用血评价考核公示制度开始,各项指标都有不同程度的改善。从 2012-2014 年的全院的用血量趋势分析,2013 年和 2014 年平均手术台次和平均出院人次用红悬和血浆量较 2012 年明显降低,且红悬用量在 2014 年还有下降趋势,血浆用量基本保持平衡,这样就大大节约了临床用血。我院 2012-2014 年全院成分输血率均为 100%,较为严格的执行了成分输血的管理要求,达到先进水平。2014、2013 年较 2012 年红悬、血浆的用血适应证合格率、合理用血评价合格率均有较大幅度提高,尤其血浆提升明显。申请单合格率和临床用血计划符合性合格率于 2014 年和 2013 年较 2012 年也逐年提高。各种数据显示在执行临床用血评价考核后,合理用血意识逐渐增强,血液滥用、乱用现象减少,这些措施大大节约了临床用血,提高了合理用血水平。也说明了本院制定的临床用血评价体系及各种考核指标是有效的。

从 2013 年本院自身输血的开展后也大大节约了手术中的用血量,由表 4 看出 2014 年较 2013 年自体输血率有所下降,这是由于本院自体输血主要是骨科在开展,2014 年骨科疑难手术减少,所以导致了自体输血率有所降低。这同时也说明推进血液保护及输血新技术的开展能切实减少患者输血的需求。

输血科将用血评价中出现的问题在用血委员会会议中进行总结分析,并提出讨论。1) 2013 年的考核发现输血后 Hb>100g/L 或输血前后未进行输血实验室指标检测的情况较多,于是会议讨论决定从 2014 年开始,将不合理用血情况由医务科向临床发出整改通知要求整改,并将合理用血评价纳入绩效考核。2) 目前我院只有一台自体回输仪器,所以在 2015 年临床用血委员会讨论通过增加自体回输仪器采购、加强骨科自体回输经验交流,加强胸心外科等多科室血液保护的培训,提高自体输血率,建立血液保护技术开展激励机制。3) 输血科把用血比重大的科室及不合理用血情况严重的科室作为下一次培训的重点对象,加强管理考核。所以在临床用血评价过程中,要取得较大的进步,必须充分发挥输血科、职能科室、临床用血委员会的管理职能,建立起严格的考核制度,并持续改进。

然而临床用血评价实践中,常有临床医生对其不合理用血的考核结果提出质疑,认为对其专业不合理。所以我院一直在探索,疾病分轻重、手术分大小,怎样才能进一步达到更加合理的临床用血,制定怎样更为细化的管理体系才能更合理的进行用血管理。而具体的用血考核指标目前国内尚无统一的标准<sup>[5]</sup>,是否应该按照国际疾病分类(ICD-10)和国际手术分类(ICD-9)标准的临床疾病诊断相关分组进行临床用血为基础进行临床用血评价分析更加合理<sup>[5-6]</sup>,各科室是否按照病种进行用血指证的制定然后进行考核<sup>[1,4]</sup>或严格按照临床输血技术规范上内外科用血指证进行考核这是我院输血委员会正在讨论和思考的问题。而住院患者总输血率、各血液成分输注率、住院患者、总手术、大中手术患者人均各血

液成分输注量、输血患者人均各血液成分输注量、各科室、不同病种人均各血液成分输注量等这些考核指标有利于分析不同手术、不同病种的用血情况<sup>[5]</sup>,有利于进行合理用血的持续改进,下一步考核将纳入以上各指标。

输血电子病历管理系统的引进大大提高输血病历的规范化、输血评估的规范化<sup>[1]</sup>。但尚无输血评价软件,许多数据只有靠人工进行分析统计,这样既繁琐又难免影响数据的准确性、及时性<sup>[4]</sup>。所以输血管理评价软件的引入将大大提高合理用血评价水平。

## 参 考 文 献

- [1] 杜肖刚,王丽荣,武洪琳. 临床用血评估体系的建立及评价方法的探讨. 中华医院管理杂志, 2014, 30(1): 43-45.
- [2] 刘志军,谭东云,饶荣. 基层医院血浆不合理输注的原因分析及对策. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1311-1313.
- [3] 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): 1060-1061.
- [4] 何屹,林嘉,饶绍琴,等. 临床合理用血评估与管理系统的数据分析. 中国输血杂志, 2014, (27) 7: 774-778.
- [5] 庄健美,黄俊,谈春荣,等. 临床用血评价考核客观指标的统计标准化及其应用. 中国输血杂志, 2014, (27) 1: 50-52.
- [6] 宫济武,刘燕明,杨培蔚. DRGs 数据在医院临床输血评价中的临床应用分析. 中华医院管理杂志, 2011, 27(11): 866-870.
- [7] 冯书礼,范文安,张雅萍,等. 临床合理用血十分制评价及结果分析. 临床输血与检验, 2015, 17(1): 18-22.
- [8] 张彪,姜晶梅. 我国部分地区用血合理性评价系统综述. 中华医院管理杂志, 2011, 27(8): 622-626.
- [9] 蔡永君,辛永红,谷晶,等. 临床用血管理考核指标的设立及实施效果评价. 中国输血杂志, 2015, 28(2): 153-155.

(2017-01-01 收稿, 04-02 修回)

本文编辑:李弘武

## 《中国输血杂志》郑重声明

尊敬的各位业界同仁:

因近来时有热心读者作者举报,网上出现假冒《中国输血杂志》的钓鱼网站,钓鱼邮箱(例如: <http://www.zgsxzz.cn/>,以 163.com 为后缀的投稿邮箱等)非法收取高价审稿费、定稿费等卑劣行径,严重损害了本刊在业界的良好声誉。

本刊特此郑重声明:本刊官网: [www.cjbt.cn](http://www.cjbt.cn);本刊唯一投稿平台: [bloo.cbpt.cnki.net](http://bloo.cbpt.cnki.net);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;本刊自 2013 年元月起,已启用采编平台处理日常稿件,不再接受邮箱来稿。

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,发现问题,请及时与本刊编辑部电话联系确认,不要轻信转账付款,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!

特此申明,敬请相互转告!

# 无偿献血宣传招募工作的思考与对策

夏代全 程磊<sup>△</sup>(重庆市血液中心, 重庆 400015)

**关键词:**无偿献血; 招募; 宣传

**中图分类号:**R457.1 R193.3 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2017)8-0963-03

血液作为一种特殊的医疗资源,对抢救患者生命具有重要的不可替代的临床意义。在未来的“人造血”广泛应用于临床之前,通过健康适龄人群献血仍然是获取血液的唯一途径,因此,献血者人群的构成、规模、健康状况以及对献血相关知识的了解是决定血液数量、质量和临床输血安全的重要因素。

众所周知,在 1998 年 10 月 1 日之前,临床用血大多数来自于供血者的有偿供血,部分供血者以获取经济补偿为目的,甚至形成了少数专业“卖血团体”。由于对供血者的管理手段落后,措施不力,他们在不同的采供血机构流动“卖血”,导致部分供血者的采血间隔时间过短,频繁献血,影响了血液的质量。在 20 世纪 90 年代初期,由于生产血液制品所需的原料血浆的非法采集与买卖,导致艾滋病病毒在个别地区小范围的传播,对输血事业逐渐造成冲击,进一步加剧了对采供血事业的负面影响。

《中华人民共和国献血法》的颁布实施,标志着我国有偿献血的结束、无偿献血的真正起步。近年来,我国的无偿献血事业得到了较快的发展,无偿献血占临床用血比例,从 1998 年的 22.0% 上升到 2004 年底的 91.3%,其中自愿无偿献血占采集临床血的比例已从 5.0% 逐年上升到 71.5%,基本实现了由有偿献血向无偿献血的平稳过渡。2014 年我国的血液采集近百分之百的来自自愿无偿献血<sup>[1]</sup>。自愿无偿献血的实施,不但基本保障了临床用血量的需求,也为保障血液安全奠定了基础<sup>[2]</sup>。

## 1 现状

随着临床医疗技术的不断发展和创新,临床输血作为一项特殊的疾病治疗措施,使用愈发普遍,临床医疗活动对血液的需求不断增加。近年来临床治疗用血以年均 10% 以上的速度增长<sup>[3]</sup>,虽然我国的无偿献血者人群规模、结构在逐渐完善并保持了良性的增长,有效保障了临床用血需求的增长。但是,从 2011 年开始,全国采供血机构受“信任危机”影响,致使献血人数大幅下降<sup>[4]</sup>,部分地区献血者人群规模呈现萎缩态势,直接导致血液采集量以高达 5% 的速度下降,部分城市频频出现的“血荒”现象,季节性血液供应尤其紧张,血液供应紧张状况在一些地方依然难以缓解,个别地方呈现

常态化趋势。为什么会出现这种现状呢?

## 2 思考

我们通过随机对市民走访调查,对各种媒体的相关报道,尤其是互联网的有关无偿献血的信息进行分析后,认为主要有以下几方面的原因:1)人们对无偿献血事业不太了解或者是了解甚微,对无偿献血没有热情甚至是不理解。调查表明,70%左右的献血者对献血常识及无偿献血相关法律法规了解甚少<sup>[5]</sup>,许多献血者的献血行为是爱心驱使或者从众心理使然。2)人们认识上的误区,传统观念还根深蒂固的影响着部分人的献血行为,认为献血要“伤元气”,会导致气血虚弱,还有部分人担心献血感染经传播疾病,“献血危害健康”论等甚嚣尘上,对部分人群的献血行为带来负面影响,阻碍着人们的无偿献血<sup>[6]</sup>。3)人们对无偿献血工作产生了一些误会或质疑,“无偿献血有偿用血”的困惑没有纾解<sup>[7]</sup>,这导致很多人不甘心献血,“献血容易用血难”,因为有时候血液库存紧张,导致了献血者或其亲友用血困难,伤害了部分献血者的感情,这在一定程度上不仅影响了献血者的热情,还影响了潜在的无偿献血者的献血行为,也影响到了固定无偿献血者的献血热情。4)人口老龄化趋势,特别是医学新技术的快速发展,一方面人均寿命增长致使人口老龄化,老年人口快速增加,临床输血患者中老年人占有很大比率,用血需求也快速增加,但是适龄无偿献血者相对减少;另一方面,临床用血在快速增长,且在未来的较长时间内,仍然会呈明显上升趋势,来源相对减少,需求不断增加,供需矛盾更加尖锐。5)部分社会单位在组织应急献血工作时不断攀升的福利补贴刺激等问题,严重阻碍着无偿献血的健康发展,导致部分健康适龄人群可能会主动选择等待本单位组织的应急献血。6)采供血机构的服务工作还存在不足,无偿献血者用血手续的繁琐等,导致很多人有献血意愿没献血行动。

上述因素,严重影响了人们的无偿献血意愿和献血行为,采血量逐年下降,而临床用血需求不仅没有减少,反而快速增加,“血荒”发生就成为必然。

## 3 对策

如何化解“血荒”困难?如何推动我国无偿献血事业健康发展?我们认为,只有扎扎实实抓好面向社会的无偿献血宣传教育,让全社会对无偿献血事业有一个全面的、正确的认识,形成一种真正的人人都自愿无偿献血的社会氛围,才

能化解无偿献血与临床用血需求的矛盾,才能确保临床输血安全。

**3.1 加强无偿献血科普知识宣传** 无偿献血的宣传教育,经过多年的探索和近年来的快速发展,已经有了很多行之有效的的方式方法,积累了较多的经验,这对采供血工作起到了十分重要的促进作用,对我国的无偿献血事业的发展做出了积极贡献。但是,我们应当看到,无偿献血工作仍然面临许多困难,宣传教育还需要加强,尤其是在青少年宣传教育方面,还几乎是一片空白。“普及献血的科学知识”也是《献血法》对我们提出的要求。因此,必须加强无偿献血相关知识的宣传教育,引导人们正确认识无偿献血工作。有调查显示,81.8%的未献血者认为献血可导致乙型肝炎的传播,其中 83.7%的人员仅在家属、朋友需要时才会献血<sup>[8]</sup>。而长期献血者调查结果显示,530 名长期献血者中,只有 79.4%知道献血者年龄限制,51.2%知道间隔时间的要求<sup>[9]</sup>。这些事实告诉我们,必须及时加强无偿献血相关知识的宣传教育。通过各种方式对社会的热点问题及时回应,把采供血的全过程告诉大家,让社会知晓采供血的成本远远高于临床血液价格,每位临床输血的患者都是享受政府财政资金的补贴。在血液供不应求的时候,务必想方设法满足献血者及其亲属的临床用血需求,让献血者享受到优先保障用血的权利。

**3.2 加强对重点人群、尤其是青少年群体的宣传** 《献血法》第七条规定,国家鼓励国家工作人员、现役军人和高等学校在校学生率先献血,为树立社会新风尚作表率。鼓励的主体人群是青年人,与 WHO 的无偿献血者招募策略相符。研究报告指出,18-30 岁年龄段的献血者是无献血者的主要人群<sup>[10-11]</sup>,山东省济南地区<sup>[12]</sup>到达 87.17%,青少年是无献血者人群的生力军,实施青少年献血知识教育可能是维持献血者人群生命力的有效尝试。据青岛日报 2012 年 6 月 29 日报道,青岛市中心血站于暑假期间,在各小学开展“献血教育从青少年抓起”暑假无偿献血知识宣传进校园活动,积极探索无偿献血宣传教育从青少年抓起。

在国外,英国将无偿献血的内容写入了小学教材,小学生们会在老师的带领下,定期参观血站,使他们从小就了解“献血不影响健康”的道理,长大后成为一名自愿献血者,鼓励中学生在自己生日这一天,用“献血”这件有意义的事情进行庆祝,成人去献血都带着自己的孩子,教他们应该怎样做,或者给他们提供一种观念。英国每年的无偿献血总人数中,青少年占有 40% 以上的比例,成为无偿献血的生力军。因此,我们认为,无偿献血宣传教育工作,不仅仅要面向全社会开展,抓紧、抓好、抓实,更应该从青少年抓起,从基础抓起。

无偿献血宣传需要“从娃娃抓起”。无偿献血从青少年抓起,应该从幼儿和少年抓起。幼儿教育是开发孩子潜能、塑造孩子心理、培育健全人格的奠基阶段,良好的学前教育可以造就孩子一生的成长,这是全民素质提高、民族强大的基石。邓小平同志 1977 年在谈到教育问题时指出“教育要从娃娃抓起”,也是人类生活经验的结晶,时至今日,我们重温这句话,用来指导无偿献血宣传教育工作,仍有现实指导意义。让青少年们从小接触无偿献血,对此有一个感性认识,从小感知无偿献血是爱心事业,献血能够解除病人的痛

苦、挽救别人的生命,无偿献血是崇高的行为,为他们在成年后,树立正确的无偿献血观,积极参与并影响身边人加入到自愿无偿献血队伍中,将会具有重大影响。

无偿献血知识教育重点在青少年学生。青少年正处在人生观、世界观的形成时期,璞玉浑金,可塑性极强,在此过程中,把培养青少年学生的无偿献血意识作为教育的核心,突出重点,抓好青少年无偿献血科普知识教育,必定会收到事半功倍的效果。青少年正处在受教育打基础的年龄阶段,思想敏锐,接受能力极强,抓无偿献血意识的形成和献血科普知识的普及,就要抓在人生的起跑线上。抓住青少年“无偿献血”观念的培养,才是抓住了基础中的关键。青少年是我们国家的未来,也是我们无偿献血事业的一支重要的后备力量,尤其是大学生是我国无偿献血的主力军,他们对于无偿献血的知识、态度和行为将直接影响我国无偿献血事业<sup>[13]</sup>。一个青少年影响一个家庭,一个家庭影响一个社区,社区就可以带动整个社会。

无偿献血从青少年抓起,把无偿献血科普知识送进校园也是国家战略。“普及无偿献血科学常识。各级卫生计生行政部门会同红十字会等相关部门指导当地血站、医疗机构做好无偿献血健康教育工作,积极联合有关高校、中小学校、社会团体和民间组织,促进无偿献血知识进教材、进校园、进课堂、进农村、进社区、进军营,普及无偿献血无损健康的科学常识,提高公众参加无偿献血的积极性”<sup>[14]</sup>。因此,我们应该站在战略的高度,与教育部门等紧密协作,尽快编写出简明、通俗易懂的无偿献血科普知识教材,把无偿献血及其意义、血液生理学知识、献血与健康、献血须知、国家目前的无偿献血政策等内容,以教材的形式传授给青少年学生。在高等学校,可以适时组织同学们开展无偿献血知识竞赛或演讲比赛,让高校学子们对无偿献血有更进一步的认识,引导正确理解无偿献血工作中存在的问题,鼓励他们主动参与无偿献血,自觉宣传无偿献血,在他们走上工作岗位后,进一步影响身边的亲朋好友和同事等一大批人,让更多的人了解、支持无偿献血事业,形成一个良好的无偿献血宣传教育链,互相影响,互相传递,在可以预见的将来,在全社会形成无偿献血光荣、我健康我献血的氛围。

**3.3 新媒体是无偿献血相关知识宣传的非常重要途径** 现代社会是高度信息化的社会,各种信息通过互联网迅速传播,有手机或电脑的人,尤其是青少年,几乎没有不使用 QQ 和微信并作为社交平台的,在中青年中还有相当多的微博主或者关注微博的人,据中国互联网协会发布《2015 中国互联网产业综述与 2016 发展趋势报告》,截至 2015 年 11 月,我国手机上网用户数已超过 9.05 亿,月户均移动互联网接入流量突破 366.5 兆。据企鹅智酷的 2016 年微信数据报告<sup>[15]</sup> 微信的月活跃用户超过 6.5 亿,超过九成的用户每天使用微信,超过半数的用户每天使用 1 小时以上,拥有 200 位好友的用户达到 61.4%,而且每天必刷朋友圈。2015 年,50 岁以下使用微信的人达 97.7%,18-35 周岁的年轻人占 86.2%<sup>[16]</sup>。2016 年 16-35 周岁基于手机 QQ 的用户已达 6.42 亿<sup>[17]</sup>。因此,我们要充分利用这些新媒体作为无偿献血宣传的载体,把无偿献血及其意义、血液生理学知识、献血

## 白细胞滤器联合血液回收机用于产科自体血回收的研究进展

余超<sup>1</sup> 顾娟<sup>2</sup> 罗东<sup>3△</sup>

(四川大学华西第二医院 1.麻醉科;

2.出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室;3.发育与妇儿疾病四川省重点实验室,四川 成都 610041)

**摘要:**术中自体血回收(intraoperative cell salvage, IOCS)一直以来由于白细胞污染、羊水栓塞的风险、胎儿红细胞引起的母体同种异体免疫反应等顾虑在产科中的应用受到一定的限制,近年来随着白细胞滤器(leucocyte depletion filters, LDF)的应用,其在产科得到了很好的开展。LDF 为膜状结构,可滤除产科回收血中的杂质及污染物,如:胎儿鳞状上皮细胞、组织因子、甲胎蛋白、板层小体等羊水成分以及白细胞、胎儿红细胞、细菌等。但同时亦存在相关并发症,应防止加压,谨慎使用。临床上应对 LDF 应用于产科的安全性进行深入的研究。

**关键词:**白细胞滤器;血液回收**中图分类号:**R457.1 R713 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)8-0965-04

**Research progress on leucocyte depletion filters and combined cell preservation used in obstetric cell salvage** YU Chao<sup>1</sup>, GU Juan<sup>2</sup>, LUO Dong<sup>3</sup>. 1. Department of Anesthesiology, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education; 3. Key Laboratory of Growth and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Sichuan Province. Corresponding author: LUO Dong

**Abstract:** The usage of intraoperative cell salvage in obstetric has been limited for the consideration of pollution of white cell, amniotic fluid embolism, allograft immune response of mother by fetal red cell, while it gets promotion because of its application as leucocyte depletion filters. Leucocyte depletion filter is a membrane structure. It can filtrate the impurities and pollutants of recycling blood in obstetric surgery, such as amniotic fluid composition which contains fetal squamous epithelial cells, tissue factor, alpha fetoprotein, lamellar corpuscle, white cell, fetal red cell, bacteria, ... etc. This technique needs to be meticulous and cannot be pressured. Further clinical study is necessary to verify the security of leucocyte depletion filters in

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.08.035

△通信作者:罗东(1969.11-),教授,主要从事重症产科、麻醉领域研究,电话:028-85503753,13880039933@163.com

与健康、献血须知、无偿献血政策等内容,让大家能够方便、快速地去关注、了解,尤其是让青年人更加容易便捷地获取相关的无偿献血信息,引导他们关注无偿献血事业,鼓励他们积极参与无偿献血。

## 参 考 文 献

- [1] 沈行峰,谢东甫,孟妍等.落实自愿无偿献血长效机制需要辨理识路.中国输血杂志,2014,27(6):679-680.
- [2] 孟妍,朱永明.自愿无偿献血是血液安全的基础.中国输血杂志,2014,27(5):566-568.
- [3] 周建秋.血荒产生的原因初探及对策.中国实用医药,2012,7(3):264-265.
- [4] 王欢欢,王国艳,胡涛.浅谈应对血荒问题的策略和措施.临床血液学杂志,2015,28(4):349-350.
- [5] 李雅杰,安万新,梁晓华,等.全国各地血液供应紧张原因分析及对策.中国输血杂志,2012,25(12):1236-1238.
- [6] 朱永明.理可以越辩越明.中国输血杂志,2014,27(5):566.
- [7] 崔芳芳,李碧程,孙强,等.武汉市无偿献血者知识、态度和行为的调查分析.中国输血杂志,2014,27(5):527-528.
- [8] Bilal M, Haseeb A, Zahid I, et al. Knowledge, attitudes and perceptions among non blood donor female health care professionals. Glob J Health Sci, 2015, 8(4):50235-50237.

- [9] Uma S, Arun R, Arumugam P. The knowledge, attitude and practice towards blood donation among voluntary blood donors in Chennai, India. J Clin Diagn Res, 2013, 7(6):1043-1046.
- [10] 麻冬花,朱旭云.贵州省铜仁市 2009-2011 年无偿献血人群分布调查情况分析.贵州医药,2012,36(7):658-659.
- [11] 邓莉,田耘博.某市 2011~2013 年无偿献血人员构成分析.临床输血与检验,2014,16(3):237-239.
- [12] 毛慧.28377 名无偿献血者血型与年龄分布调查.齐鲁医学检验,2004,15(1):42-43.
- [13] 李燕琴,白斌,田晶.西安市大学生无偿献血知识、态度和行为调查.现代预防医学,2013,40(2):303-305.
- [14] 中华人民共和国卫生部.关于进一步加强血液管理工作的意见.2015-06-09.
- [15] 企鹅智酷.2016 年微信数据报告.[2017-03-17][2017-04-18].<http://toutiao.com/a6264270972040986882/>
- [16] 陆涛宏,孟妍,张晰.微信公众平台在无偿献血宣传招募中的应用.中国输血杂志,2015,28(8):902-904.
- [17] QQ 大数据.2016 全国城市年轻指数报告.[2016-05-04][2017-04-18].<http://www.yixieshi.com/30196.html>

(2017-06-15 收稿,07-11 修回)

本文编辑:闻欣

obstetric cell salvage.

**Key words:** leucocyte depletion filters; cell salvage; progress

术中自体血回收 (intraoperative cell salvage, IOCS) 是指利用血液回收机 (cell saver) 将手术创面失血经肝素抗凝后吸引至贮血罐, 然后离心分离, 再经生理盐水洗涤, 最后生成浓缩红细胞回输给患者的过程。一直以来 IOCS 在产科中的应用受到一定的限制, 主要由于: 1) 白细胞污染; 2) 羊水栓塞的风险; 3) 胎儿红细胞引起的母体同种异体免疫反应。但是随着白细胞滤器 (leucocyte depletion filters, LDF) 的应用, 近年来 IOCS 在产科得到了很好的开展。LDF 可滤除白细胞及类似于白细胞大小的成分以及某些难以清除的羊水内有形物质, 其操作简便、无毒副作用, 可以减少许多输血并发症。我们将对近年来 LDF 用于产科 IOCS 的研究进展作一综述。

## 1 LDF 在产科 IOCS 中的应用历史

近年来, LDF 在外科领域中得到了广泛的应用, 在心脏外科、移植外科、泌尿外科、血管外科、骨科、妇科等手术中的使用日趋成熟, 如泌尿外科手术中自体血回输联合 LDF 可使回输红细胞中尿酸、血尿素氮、肌苷等成分显著低于尿液中的含量<sup>[1]</sup>。在行择期肺癌手术的患者中, LDF 可过滤回收血液中的癌细胞, 减少术中异体血的输注<sup>[2]</sup>。体外循环 (cardiopulmonary bypass, CPB) 中使用 LDF 可通过滤除血液中的白细胞 (尤其中性粒细胞) 而减轻 CPB 后全身炎症反应, 保护肺、心、脑等重要器官<sup>[3]</sup>。

产科 IOCS 最早可追溯到 200 年前英国 James Blundell<sup>[4]</sup> 收集产后出血患者的带血纱布, 经生理盐水洗涤后回输给患者, 之后很多年因考虑到回收血液受到羊水成分污染的可能性其临床使用受到限制, 近年来随着血液回收技术的提高和产科血液保护相关理念的改变, IOCS 已在产科逐渐推广应用, LDF 的加入进一步提高了其安全性。LDF 不仅可去除回输血中的白细胞, 还可有效滤除胎儿鳞状上皮细胞、板层小体 (由卵磷脂和鞘磷脂构成, 来自于胎肺 II 型上皮细胞)、脂肪微粒和微聚体等, 还可进一步减少细菌、磷脂酰甘油等的浓度<sup>[5]</sup>。严海雅等<sup>[6]</sup> 回顾分析了宁波市妇女儿童医院 1 085 例产科自体血回收使用 LDF 进行回输, 期间无不良反应发生。因此, 欧美国家众多专家和产科麻醉学会, the American Association of Blood Banks 都推荐产科 IOCS 应联合使用 LDF, 他们几乎一致认为在产科严重出血的手术中联合使用 LDF 的 IOCS 技术可显著减少回收血中的羊水成分, 从而减少羊水栓塞的风险<sup>[7-9]</sup>。英国国家卫生与临床优化研究所 (National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE) 认为必要时可在剖宫产、前置胎盘或胎盘植入患者中使用 IOCS, 建议联合使用 LDF<sup>[10]</sup>。我国北京协和医院用血指南 (2010 年) 亦指出: “血液中含有羊水并不是 IOCS 的绝对禁忌, 但需用 LDF 进行过滤”。

## 2 LDF 的结构和原理

LDF 的类型从最初的多孔型滤器、聚酯滤器、聚氨基甲酸酯滤器发展到现在的 CL-S 滤器、新型维生素 E 修饰的

多层膜 (CL-E) 滤器、玻璃纤维膜型滤器等<sup>[11-13]</sup>。其过滤机制主要为机械拦截过滤和电荷吸附作用<sup>[14]</sup>。早期的 LDF 为单盘技术, 自 2008 年开始双吸盘技术得到应用。以 LDF PALL Lipi Guard SBI 为例, 其包含 a、b 滤膜: a 膜为筛过滤膜, 由聚酯材料纵横交错编织而成, 原理是机械拦截过滤, 主要用于拦截过滤微聚体等, 但不能滤除白细胞; b 膜为滤白细胞膜, 膜的表面经过特殊处理可以通过机械拦截和电荷吸附的作用滤除白细胞。b 膜非常致密, 会导致自体血滤过流速降低, 同时也会降低过滤的容量。自体血通过 LDF 的速率与自体血 Hct、微凝块、微聚体、空气进入滤盘和 LDF 型号等因素有关。

## 3 LDF 用于产科 IOCS 的安全性

产科 IOCS 使用 LDF 时, 既要考虑输血速度、过滤容量又要考虑过滤质量, 所以过滤白细胞的性能可能会有部分损失。经过 LDF 的过滤, 可以在一定程度上去除自体血液中的杂质及污染物, 并能够降低活化白细胞的数量。目前各家使用的 LDF 型号都不同, 滤过效果也不一致, 但都能有效过滤胎儿鳞状上皮细胞、组织因子、板层小体、毛发, 亦有助于去除血液中的细菌<sup>[15]</sup>。

**3.1 LDF 对羊水成分的过滤** 产科回收血液中的杂质及污染物主要来自羊水成分, 而实验室判断回收血被羊水污染的程度中: 胎儿鳞状上皮细胞代表微粒状物质, 板层小体和磷脂酰甘油代表脂类物质, 甲胎蛋白 (AFP)、组织因子 (TF) 代表溶解性物质, 尽管它们的敏感性并不是 100%<sup>[16]</sup>。有研究认为现代智能血液回收机 (cell saver 5) 通过联合应用双管吸引系统及 LDF, 可最大限度地降低或清除回收血液中的羊水成分, 并达到较高的安全水平。即使实施单管吸引 (羊水和术野血一起回收), 回收血经离心、洗涤、浓缩和 LDF 过滤后, 血浆肝素、甲胎蛋白、游离血红蛋白<sup>[17]</sup> 等亦可被完全清除, 板层小体和胎儿鳞状上皮细胞<sup>[18-19]</sup> 亦与母体静脉血无差异。Waters 等<sup>[19]</sup> 采用了新一代的白细胞滤器 Pall Leuko Guard RS 与 cell savers (双吸引器系统) 合用, 用清洗前、清洗后和过滤后的回收血与胎盘分离后抽取的母体下腔静脉血相比, 胎儿鳞状上皮细胞数量由清洗前的 (8.1 ± 3.5) 个/高倍镜视野下降至 (0.0 ± 0.1) 个/高倍镜视野, 钾离子、板层小体含量更低或无差异。Elagamy 等<sup>[20]</sup> 使用型号为 RC400 的 LDF 过滤术中回收的自体血后, 检测钾离子浓度和胎儿鳞状上皮细胞的含量都明显降低, 母体血常规和凝血功能无变化, 所有病例都未见羊水栓塞、低血压、感染、凝血障碍等并发症发生。但 Catling 等<sup>[21]</sup> 进行了 LDF Pall RC 100+Haemonetics cell saver 5 应用于剖宫产术的研究, 发现 37% 的病例自体血在用 LDF 滤过后仍可检测到胎儿鳞状上皮细胞及胎儿毳毛。羊水成分中的活性组织因子是启动羊水栓塞病理过程的重要因子, 其可被 Haemonetics B 4 Cell Saver+LDF 完全清除<sup>[22]</sup>; 桑本玲等<sup>[23]</sup> 亦发现回收血液使用 LDF 过滤后组织因子没有明显高于母体血水平; 2000 年, Oei 等的 letter 报

道了 1 例 IOCS 后发生羊水栓塞的病例,产妇在孕 30 周时出现胎儿宫内生长受限、子痫、HELLP 综合征(溶血、肝酶升高、血小板减少),并发严重贫血,而术中 IOCS 时没有使用 LDF<sup>[24]</sup>,进一步证实 LDF 在产科自体血回输中的重要性。

**3.2 LDF 对白细胞的过滤** 产科剖宫产术中 IOCS 在回收过程中会对血液中的细胞成分造成破坏,从而激活白细胞、血小板和补体级联反应等,促进炎症因子的释放,引起或加重全身炎症反应,可于回输前通过 LDF 过滤清除。LDF 对白细胞的滤过高达 99%。周春波等<sup>[25]</sup>在探讨 Rh D 阴性血型剖宫产术产妇输血方案中,对 2 例急诊剖宫产存在大出血风险的产妇进行了自体血回收,并用 LDF 回输后,检测白细胞和凝血功能都在正常范围内。朱彩霞等<sup>[26]</sup>使用 LDF 对 7 例中央型前置胎盘先兆子宫破裂患者术中所回收的自体血液进行了回输,7 例患者术后 3 d 的 WBC、Het、Hb、Plt、K<sup>+</sup> 等血常规及血液生化指标与术前相比差异无统计学意义。

**3.3 LDF 对胎儿红细胞的过滤** 回收血液中含有胎儿红细胞<sup>[27]</sup>。Catling 等<sup>[21]</sup>证实 LDF 不能过滤胎儿红细胞,胎儿红细胞占回收血液的 19%。Waters 等<sup>[19]</sup>将清洗前、清洗后和过滤后的回收血与胎盘分离后抽取的母体下腔静脉血相比,胎儿血红蛋白含量仍较高。血液回收机不能分辨胎儿和母体红细胞,因此回输给妊娠妇女的血液中或多或少混有胎儿红细胞,加用 LDF 亦不能去除。但目前的观点认为自体血中含有的胎儿红细胞对母体的影响不具有临床意义,发生同种异体免疫反应的风险估算与正常阴道分娩相似,且抗-D 免疫球蛋白对胎儿红细胞对母体的同种异体免疫反应有一定的防治作用<sup>[5]</sup>。

**3.4 LDF 对细菌的过滤** 单纯血液回收机仅能清除部分细菌,有研究者将库血分别与 4 种细菌(大肠杆菌、绿脓假单胞菌、金黄色葡萄球菌、脆弱拟杆菌)混合,经血液回收机联合 LDF 处理后,以上 4 种细菌的清除率分别 99.0%, 99.9%, 100%, 97.6%, 并发现清洗和过滤可去除细菌的最高浓度为 10<sup>3</sup> CFU/mL<sup>[28]</sup>。将滤过后的回收血进行定量培养发现平均细菌含量为 0.1 CFU/mL,其中 93% 为葡萄球菌,由于大多数产科手术并非完全无菌,该研究认为经过滤后回输血中的极少数细菌无明显的致病作用。Waters 等<sup>[19]</sup>将过滤后的回收血与胎盘分离后抽取的母体下腔静脉血相比,细菌培养计数更低或无差异。其实很早的研究已经发现 LDF 可以过滤同种异体血液中的细菌<sup>[29]</sup>。细菌滤除的可能机制包括:细菌在滤过前被白细胞吞噬;滤器增强补体介导的杀菌反应;细菌粘附在被滤器截留的白细胞层表面;细菌被过滤介质直接去除。

然而,LDF 用于产科 IOCS 也存在相关并发症,有几例个案报道发现与 LDF 使用相关的严重低血压<sup>[30-32]</sup>,且特别容易发生在输注浓缩血小板时<sup>[33]</sup>,撤掉 LDF 后血压恢复正常,究其原因可能是 FXII 或血小板在经过滤器表面时释放缓激肽等扩血管物质。但 Choi 等<sup>[34]</sup>在使用 LDF 后检测回输血中各细胞因子浓度,发现除 IL-6 上升外,其他 IL-1 beta、TNF- $\alpha$ 、缓激肽并未见上升,具体的原因和机制有待进一步的对照研究加以证实。实验中的 LDF 使用了负压加压/不加压两种形式,经过负压加压的 LDF 可能引起 IL-6、TNF- $\alpha$ 、缓激肽浓

度上升,所以建议 LDF 使用时不用负压加压。

#### 4 LDF 用于产科 IOCS 的展望

产科术中 IOCS 所得洗涤红细胞回输给产妇时推荐强制性使用 LDF 以提高安全性,且血液回收须在胎盘娩出后进行<sup>[11]</sup>。自体血回输过程中应谨慎使用 LDF,且在过程中禁止加压能进一步提高回输的安全性<sup>[35]</sup>。但是临床上仍需要大样本的随机对照研究进行更深层次的对比研究,为临床上 LDF 用于产科 IOCS 的安全性提供更有力的证据。

#### 参考文献

- [1] Park KI, Kojima O, Tomoyoshi T. Assessment of the availability of intraoperative autotransfusion in urological operations. *J Urol*, 1997, 157(5): 1777.
- [2] Perseghin P, Vigano M, Rocco G, et al. Effectiveness of leukocyte filters in reducing tumor cell contamination after intraoperative blood salvage in lung cancer patients. *Vox Sang*, 1997, 72(4): 221-224.
- [3] 杜磊,周棱,李崎,等.白细胞滤器在体外循环中的应用进展. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2005, 12(4): 279-282.
- [4] Goucher H, Wong CA, Patel SK, et al. Cell salvage in obstetrics. *Anesth Analg*, 2015, 121(2): 465-468.
- [5] Campbell JP, Mackenzie MJ, Yentis SM, et al. An evaluation of the ability of leucocyte depletion filters to remove components of amniotic fluid. *Anaesthesia*, 2012, 67(10): 1152 - 1157.
- [6] 严海雅,吴云,叶松,等.剖宫产术中回收式自体输血的回顾性分析. *中华麻醉学杂志*, 2016, 36(11): 1297-1301.
- [7] The Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland. *Obstetric Anaesthetists' Association OAA /AAGBI guidelines for obstetric anaesthetic services revised edition 2005*. [2005, 2015-10-21] <http://www.aagbi.org/sites/default/files/obstetric05.pdf>.
- [8] American College of Obstetricians and Gynecologists. *ACOG Practice Bulletin: Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists Number 76, October 2006: postpartum hemorrhage*. *Obstet Gynecol*, 2006, 108(4): 1039-1047.
- [9] Walters JSA. Intraoperative blood recovery. In: Waters J, Shander A, Gottschall JL, eds. *Perioperative Blood Management: A Physicians Handbook*, 2nd edn. Bethesda: American Association of Blood Banks and The Society for the Advancement of Blood Management, 2009: 67 - 83.
- [10] National Institute for Health and Clinical Excellence. *Guidance for the provision of intraoperative cell salvage [OL]*. [2013, 2015-07-07]. <https://www.nice.org.uk/guidance/ipg144>.
- [11] Kajiyama S, Nakao M, Kawaguchi R, et al. The efficiency of a newporous type leukocyte removal filter for red cell blood components, Terumo Imuguard III-RC, in the rapid transfusion conditions. *Masui*, 1997, 46(6): 855.
- [12] Galli F, Rovidati S, Chiarantini L, et al. Bioreactivity and biocompatibility of a vitamin E -modified multi-layer hemodialysis filter. *Kidney Int*, 1998, 54(2): 580.
- [13] Zou Y, Sun Q, Li A, et al. Efficiency of leukocyte removal by filters made of superfine glass fiber membranes. *Vox Sang*, 1999, 76(1): 22.

[14] Catling SJ, Thornton CA, Russell IT. Bradykinin and cysteinyl leukotriene concentrations in cell-salvaged blood before and after passage through negatively charged filters during clinical use in cancer patients: a pilot study. *Anaesthesia*, 2015, 70(9):1066-1072.

[15] Allam J, Cox M, Yentis SM. Cell salvage in obstetrics. *International Journal of Obstetric Anesthesia*, 2008, 17(1):37-45.

[16] 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.

[17] Waters JH, Bicotti C, Potter PS, et al. Amniotic fluid removal during cell salvage in the cesarean section patient. *Anesthesiology*, 2000, 92(6):1531-1536.

[18] Catling S, Joels L. Cell salvage in obstetrics: the time has come. *Br J Obstet Gynaecol*, 2005, 112(02):131-132.

[19] Thomas D, Clark V. Facilities for blood salvage( cell saver technique) must be available in every obstetric theatre. *Int J Obstet Anesth*, 2005, 14(1):48-52.

[20] Elagamy A, Abdelaziz A, Ellaithy M. The use of cell salvage in women undergoing cesarean hysterectomy for abnormal placentation. *Int J Obstet Anesth*, 2013, 22(4):289-293.

[21] Catling SJ, 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.

[22] 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.

[23] 桑本玲, 季伟刚, 杨悦, 等. 术中自体血回收用于产科手术的可行性研究. *中国输血杂志*, 2016, 29(7):719-721.

[24] Oei S, Wingen G, Chantal BM, et al. Cell salvage: how safe in obstetrics? *Int J Obstet Anesth*, 2000, 9(2):143.

[25] 周春波 严海雅 余萍. RhD 阴性血型剖宫产术产妇输血方案探讨. *中国输血杂志*, 2012, 25(3):248-251.

[26] 朱彩霞 李卫芳. 术中血液回收在中央型前置胎盘先兆子宫破裂患者中应用. *齐齐哈尔医学院学报*, 2015, 36(10):1523-1525.

[27] 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.

[28] Waters JH, Tuohy MJ, Hobson DF, et al. Bacterial reduction by cell salvage washing and leukocyte depletion filtration. *Anesthesiology*, 2003, 99(3):652-655.

[29] Dzik W. Use of leukodepletion filters for the removal of bacteria. *Immunol Invest*, 1995, 24:95 - 115.

[30] Waldron S. Hypotension associated with leucocyte depletion filters following cell salvage in obstetrics. *Anaesthesia*, 2011, 66(2):133-134.

[31] Kessack LK, Hawkins N. Severe hypotension related to cell salvaged blood transfusion in obstetrics. *Anaesthesia*, 2010, 65(7):745-748.

[32] Rogers WK, Wernimont SA, Kumar GC, et al. Acute hypotension associated with intraoperative cell salvage using a leukocyte depletion filter during management of obstetric hemorrhage due to amniotic fluid embolism. *Anesth Analg*, 2013, 117(2):449-452.

[33] US Food and Drug Administration. Hypotension and bedside leukocyte reduction filters. [OL] [2013, 2015-08-09] <http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/PublicHealthNotifications/ucm062284.htm> (accessed 09/07/2013).

[34] Choi ES, Ahn WS, Lee JM, et al. A laboratory study of the effects of processing blood through a cell salvage device and leukocyte depletion filter on levels of pro-inflammatory cytokines and bradykinin. *Anaesthesia*, 2013, 65(4):1259-1265.

[35] Mizuno J. Use of microaggregate blood filters instead of leukocyte reduction filters to purify salvaged, autologous blood for re-transfusion during obstetric surgery. *Journal of Anesthesia*, 2013, 27(4):645-646.

(2016-12-26 收稿, 2017-06-01 修回)

本文编辑: 闻欣

## 严 正 声 明

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

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

特此声明, 谢谢大家!

# 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(八)

## ——《急诊和择期介入放射学在产后出血救治中的作用》和孕产妇死亡保密调查计划

郭永建 马春会(佛山市中心血站,广东 佛山 528000)

**关键词:**介入放射学;产后出血;孕产妇;死亡;保密;调查

**中图分类号:**R714.4 R457.1 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2017)8-0969-06

产科出血的救治需要多学科密切合作。介入放射学止血技术是产后出血救治不可替代的有效治疗方法之一。英国皇家妇产科学会(Royal College of Obstetricians and Gynaecologists)、皇家放射学会(Royal College of Radiologists)、英国介入放射学会(British Society of Interventional Radiology)在2007年发布了《急诊和择期介入放射学在产后出血救治中的作用》(良好实践第6号),强调产后出血救治方案应当包括介入放射学止血技术的应用<sup>[1]</sup>。英国是世界上孕产妇死亡率最低的国家之一,这一成就的取得与英国孕产妇死亡保密调查计划(Confidential Enquiry into Maternal Deaths, CEMD)的长期有效实施密切相关,作为全球运行时间最长的孕产妇死亡评估体系,该项计划是所采用的方法学是全球公认的标准方法并为世界卫生组织所采用。现将这2个方面的内容一并介绍如下。

### 1 急诊和择期介入放射学技术在产后出血救治中的作用

**1.1 目的** 本指引旨在强力推荐所有产科机构将早期或者预防性介入放射学技术作为产后出血预防和管理的措施。动脉球囊阻塞或栓塞技术能够预防大量失血,减少输血和子宫切除,还可减少对重症治疗的需要和降低孕产妇患病率和死亡率。

**1.2 产后出血的病因学** 产后出血依然是孕产妇患病和死亡的主要原因。保密性调查和险兆事件(near misses)报告显示,仍有为数众多的孕产妇因为失血过多导致严重疾病,需要输血、切除子宫和重症治疗。虽然已明确前置胎盘和植入性胎盘是产后出血的预示因素,然而大多数产后出血是无法预测的。产后出血通常继发于以下病情:1)宫缩无力,产程正常或延长、正常分娩或者剖宫产分娩的产妇均可出现宫缩无力;2)子宫或者子宫颈损伤,最常见于使用器械助产或者出现手术并发症后行剖宫产术,前置胎盘和植入性胎盘也是较常见的原因;3)正常分娩或者剖宫产分娩产后恢复期迟发性出血,偶见在产后24h后发生继发性出血;4)在产后出血行紧急子宫切除术后由于出现凝血病或者手术并发症致无法控制的出血。

**1.3 产后出血使用介入放射学技术的适应证**

**1.3.1 急诊介入止血** 1)在以下病情出现产后出血时,宜

考虑采用介入放射学止血技术:(1)产程正常或延长的正常分娩或者剖宫产分娩后出现宫缩无力;(2)剖宫产时出现手术并发症或者子宫撕裂;(3)正常分娩或者剖宫产分娩产后恢复期出现迟发性出血;(4)子宫切除术后出血。2)为了能够在紧急情况下采用介入放射学止血技术,理想的是在产科或者邻近的放射科特殊治疗室备有影像设备可供使用。3)上述所有病情的放射介入路径,宜考虑经股动脉到髂内动脉前分支,采用适宜的栓塞物(如可吸收明胶制剂)在影像的指引下实施栓塞。

**1.3.2 择期和预防性介入** 对于确诊或疑似先前剖宫产切口瘢痕合并植入性胎盘,或者经过超声或核磁共振诊断为植入性胎盘的产妇,宜采用介入放射学止血方法作为产后出血的预防措施,在分娩前将球囊放置在髂内动脉或者子宫动脉,当出现产后出血时扩张球囊,阻塞血管,如果在扩张球囊后仍继续出血,可通过球囊导管实施栓塞。即使采用介入放射学止血技术之后仍需要切除子宫,该止血技术的预先应用能够减少失血量和输血需求,缩短住ICU时间。如果本机构尚未应用介入放射技术,宜安排产妇转诊到能够做择期介入止血的医院。

**1.4 结论** 医疗机构宜建立包括应用介入止血技术在内的产后出血救治方案,必须具有突发性产后出血的明晰管理策略。在已经开展介入止血技术的医院,必须制定明晰的治疗方案,明确在产后出血管理中应用介入止血技术的时机和地点。本机构未应用介入放射技术,或者不具备在需要时可随时做介入止血的,宜与其他医疗机构签订正式协议,保证能够由邻近的医疗中心或者周边的医疗机构联合体提供该项服务。(注:本指引宜与RCOG前置胎盘和植入性胎盘管理指南一起使用。)

### 2 CEMD

**2.1 发展历程** 为了全面了解和应对当时孕产妇死亡率很高的问题,1949年召开的英国妇产科大会经过讨论后,由大会主席向英国卫生部提出了建立孕产妇死因保密调查计划的建议,后者采纳了这一建议<sup>[2]</sup>。1957年英国卫生部发布第1份CEMD报告,报告涵盖1952-1954年英格兰和威尔士孕产妇死亡病例<sup>[3]</sup>;至1985-1987年的报告已覆盖了英国全部4个地区。2003年成立的孕产妇和儿童健康保密调查中心(Confidential Enquiries into Maternal and Child Health,

CEMACH) 是 1 个主要由国家临床优化研究所 (National Institute of Clinical Excellence, NICE) 资助的独立组织, 其负责此项工作直至 2012 年<sup>[4]</sup>。2012 年对监测和保密性调查过程再次优化, 与婴儿死亡率保密调查归并, 更名为孕产妇、新生儿和婴儿临床结局评估计划 (Maternal Newborn and Infant Clinical Outcome Review Programme, MNI-CORP)<sup>[5]</sup>。2014 年以前的保密性调查报告以 3 年的监测数据为基础, 2014 年以后的年度报告均为上一年度的监测数据, 并轮流安排每 3 年做汇总分析并提出改进推荐或建议的专题 (表 1)<sup>[5-7]</sup>, 产科出血专题已安排在 2014 年度报告中, 按照既定安排顺序, 2017 年度报告 (预计在 12 月发布) 将对其再次汇总分析。

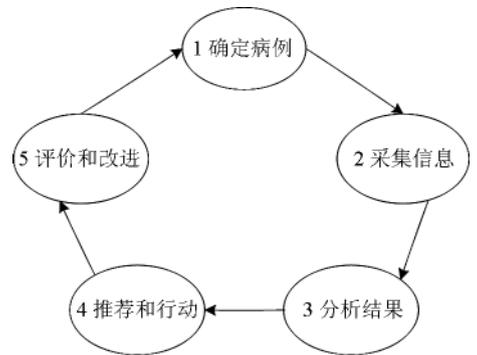
**表 1** 英国孕产妇死亡保密性调查年度报告中选择汇总分析专题

专题分析
2014 年 败血症、出血、羊水栓塞、麻醉、合并神经性疾病、合并其他疾病
2015 年 合并精神疾病、合并血栓和栓塞、合并癌症妇女妊娠和产后照护、被杀和遭遇家暴、妊娠结束后 6 周-1 年妇女的照护
2016 年 心脏疾病、妊娠高血压、早孕、急诊

**2.2 宗旨和目的** 1) 其宗旨是: (1) 挽救孕产妇和新生儿生命, 减少并发症, 改进孕产妇服务质量, 使所有孕妇及其婴儿和家庭受益; (2) 通过提供推荐和指南的方式, 帮助医疗机构在充分考虑并符合孕产妇个性需求的情况下, 保证为所有孕妇和新近分娩的妇女提供最好的可能照护, 在合适的地点分娩。2) 其主要目的是: (1) 改进对孕妇和新近分娩的妇女的照护, 更进一步降低孕产妇死亡率和发病率, 降低因不规范照护引发孕产妇死亡的比例; (2) 评估孕产妇死亡 (如有可能, 包括严重疾病) 的主要原因和趋势, 确定通过努力能够改变并实现照护改进的可避免、可医治和诊疗不规范的因素, 将这些发现和相应推荐意见传达给所有相关的医疗保健专业人员, 确保这些教训的吸取受到审核和监控; (3) 做出有关临床照护和服务提供改进 (包括本地审核) 的推荐, 将其提供给孕产妇服务的行政管理者、提供者和专业人员; (4) 提出将来在地区或者全国范围开展进一步研究和审核的建议<sup>[8]</sup>。

**2.3 持续改进循环** 1) 从教训中学习, 为的是持续改进。孕产妇死亡和疾病监测是 1 个持续改进的循环过程: 确定需要评估的死亡病例, 采集和评估信息, 采用获得的信息给予

推荐, 评估推荐实施的影响, 然后在下一个循环中进一步改进和改善 (图 1)。监测过程的最终目的是采取行动, 而不是单纯统计病例和计算各种率。过程的所有步骤 (确定病例、采集数据做分析、行动和评价) 需要持续开展, 才能证明所作的努力是否取得成效。2) 纳入孕产妇严重疾病——险兆事件的调查。对几近死亡疾病的研究是对孕产妇死亡调查的重要补充, 这类研究可为潜在危及生命的病情预防和治疗提供非常宝贵的指导信息。孕产妇死亡人数仅代表冰山之一角, 更大量的孕产妇经受了儿近死亡的疾病, 将其包括在内, 使相关疾病的发生、恶化致死或导致其他严重并发症的调查研究检验效能大为提高。3) 英国有 2 个产科严重疾病监测系统: (1) 英国产科监测系统 (The UK Obstetric Surveillance System, UKOSS), 2005 年开始运行; (2) 苏格兰严重孕产妇疾病保密审核系统 (Scottish Confidential Audit of Severe Maternal Morbidity), 2003 年开始运行<sup>[8]</sup>。



**图 1** 孕产妇死亡和疾病监测循环 (注: 引自文献 8, 图 1)

**2.4 英国历年孕产妇死亡的趋势**

**2.4.1 直接死亡率逐年下降而间接死亡率逐年上升** 2016 年发布的报告指出, 英国每 2 d 有 1 名孕妇或者最近 1 年内曾怀孕的妇女死亡, 但其 2/3 的死因不是妊娠, 而是身心疾病, 其中心血管和肺部疾病占 48% (心脏疾病 23%, 肺部疾病和流感 14%, 静脉血栓栓塞 11%), 神经精神疾病占 20% (神经系统疾病 11%、精神疾病 9%), 因此强调“怀孕要想到胸部, 产后要想到脑部” (表 2-3)<sup>[7]</sup>。

**表 2** 英国 1985-2014 年 (每 3 年) 孕产妇死亡数和死亡率

	直接死亡		间接死亡		合计	
	n (%)	95% CI	n (%)	95% CI	n (%)	95% CI
1985-1987 年	139 (6.13)	5.19-7.23	84 (3.70)	2.99-4.58	223 (9.83)	8.62-11.21
1988-1990 年	145 (6.14)	5.22-7.23	93 (3.94)	3.22-4.83	238 (10.08)	8.88-11.45
1991-1993 年	128 (5.53)	4.65-6.57	100 (4.32)	3.55-5.25	228 (9.85)	8.65-11.21
1994-1996 年	134 (6.10)	5.15-7.22	134 (6.10)	5.15-7.22	268 (12.19)	10.82-13.74
1997-1999 年	106 (4.99)	4.13-6.04	136 (6.40)	5.41-7.57	242 (11.40)	10.05-12.92
2000-2002 年	106 (5.31)	4.39-6.42	155 (7.76)	6.63-9.08	261 (13.07)	11.57-14.75
2003-2005 年	132 (6.24)	5.27-7.40	163 (7.71)	6.61-8.99	295 (13.95)	12.45-15.64
2006-2008 年	107 (4.67)	3.86-5.64	154 (6.72)	5.74-7.87	261 (11.39)	10.09-12.86
2009-2011 年	83 (3.49)	2.78-4.32	170 (7.15)	6.11-8.30	253 (10.63)	9.36-12.03
2012-2014 年	67 (2.86)	2.22-3.63	133 (5.68)	4.76-6.73	200 (8.54)	7.40-9.81

注: 引自文献 7, 表 2-5

表 3 英国 2009-2014 年(每 3 年)孕产妇死亡数和死亡率(按死因分类)

	2009-2011 年		2010-2012 年		2011-2013 年		2012-2014 年	
	n(%)	95%CI	n(%)	95%CI	n(%)	95%CI	n(%)	95%CI
直接死亡								
妊娠流产	4(0.17)	0.05-0.43	8(0.33)	0.14-0.66	6(0.25)	0.09-0.55	7(0.29)	0.12-0.62
高血压	10(0.42)	0.20-0.77	9(0.38)	0.18-0.71	6(0.25)	0.09-0.55	2(0.08)	0.01-0.31
产科出血	14(0.59)	0.32-0.99	11(0.46)	0.23-0.82	13(0.55)	0.29-0.94	13(0.56)	0.29-0.95
妊娠相关感染	16(0.67)	0.38-1.09	13(0.54)	0.29-0.93	8(0.34)	0.15-0.66	7(0.29)	0.12-0.61
其他产科并发症	43(1.81)	1.31-2.43	44(1.83)	1.33-2.46	47(1.98)	1.46-2.63	50(2.14)	1.58-2.81
管理意外并发症	3(0.12)	0.03-0.37	4(0.17)	0.05-0.43	3(0.13)	0.03-0.37	2(0.09)	0.01-0.31
间接死亡								
非产科并发症	163(6.85)	5.84-7.99	154(6.41)	5.44-7.51	131(5.52)	4.62-6.55	119(5.08)	4.21-6.08
未知/未确定	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-
偶合原因								
偶合原因	23(0.98)	0.61-1.45	26(1.08)	0.71-1.59	26(1.10)	0.72-1.61	41(1.75)	1.26-2.38

注:引自文献 7,表 2-8

2.4.2 产科出血发病率上升而产科出血死亡率下降 英格兰产后出血(失血量≥500 mL)登记发生率,2004-2005 年为 6.7%<sup>[9]</sup>,2014-2015 年为 14.5%<sup>[10]</sup>,增加>1 倍,而产科出血

直接死亡率仍呈下降趋势,但产科出血仍是第 3 位或者第 2 位死因(表 3-4)。

表 4 英国 1994-2012 年(每 3 年)产科出血直接死亡数和死亡率

	胎盘破裂	前置胎盘	产后出血		合计	出血直接死亡率(/10 万名)	
			宫缩无力	产道损伤		率	CI
1994-1906 年	4	3	5	5	17	0.77	0.45-1.24
1997-1999 年	3	3	1	2	9	0.42	0.19-0.80
2000-2002 年	3	4	10	1	18	0.9	0.53-1.42
2003-2005 年	2	3	9	3	17	0.8	0.47-1.29
2006-2008 年	2	2	3+2	(0/2)	9	0.39	0.18-0.75
2009-2012 年 <sup>†</sup>	2	1	7	7	17	0.49	0.29-0.78

注:引自文献 5,表 4.1;† 包括英国和爱尔兰,其他仅为英国数据。

2.5 产科出血预防和治疗存在的主要问题及其推荐要点

2.5.1 产科出血死亡人数和死亡率(表 4)

2.5.2 教训和推荐

2.5.2.1 问题和教训 2009-2012 年英国和爱尔兰有 17 名产妇因出血而死亡,出血原因有胎盘破裂、前置胎盘、宫缩无力和产道损伤(表 4)。对 17 名死亡产妇的病情和救治情况分析发现,所有死亡产妇的临床照护均存在欠缺和需要改进的问题,其中最需要改进的是对出血严重性的临床识别和复苏技术。1)产前检查发现异常未进一步管理:3 名孕妇产前检查发现贫血,但仅 1 名口服铁剂。强调应提高对缺铁危害性的认识,缺铁性贫血不仅降低产妇对急性出血的耐受能力,而且还可能因为缺铁使孕子宫肌肉收缩所必需的子宫肌红蛋白降低,从而导致宫缩无力。又如 1 名孕妇产前检查发现贫血并存在不规则抗体,在发生出血而需要输血时未能及时输血。2)诊疗人员之间的沟通与责任人、领导和团队工作中普遍存在问题:3 名产妇的估计失血量不一致,5 名产妇失血量缺少沟通,2 名产妇病情出现恶化时未向上级医生报告,3 名产妇的死亡与其医疗缺乏领导有关。3)对病情发展预判不敏锐:1 名体型小、贫血的产妇因产程太长而行剖宫产,术中失血 1 000 mL,而术前未备血,3 h 后因宫缩无力阴道出血 2 500 mL;给予液体复苏,共输注晶体液 8 L、胶体液 2 L,患者出现肺水肿,给予气管插管通气,转入 ICU 治疗,1 个月后死于急性呼吸窘迫、败血症和多器官衰竭。其教训是:该产妇存在产后出血的高危因素——产程延长,自身的贫血降低了她对出血的耐受能力,但是无论是在剖宫术前或术中已经出血 1 L 的情况下均未做交叉配血;而产程延长又加大出现宫缩无力的可能性,但却未给予宫缩剂预防性用药,随

后出现宫缩无力导致严重出血,出血量达到了其 50%血容量,产妇机体很快出现失代偿。4)体型小的产妇失血量低估:9 名因出血死亡的产妇体重<60 kg。其教训是:在妊娠期间,孕妇的循环血容量增加到 100 mL/kg,对产妇失血量估计和处置时应考虑到产妇的体型,例如体重 70 kg 的产妇失血 1 500 mL 约占其 20%血容量,但对于体重为 55 kg 的产妇,却几乎占其 30%血容量(表 5),教科书中关于患者失血量占自身 15%、30%、40%血容量时出现症状和体征有助于复苏和治疗的决策。5)未发现产妇出血和病情恶化:产妇病情严重性未被发现 11 名(61%),其中产程观察不当 7 名、观察到异常但没有向上级医生报告 5 名、失血量估计有误 5 名。6)复苏的存在问题:(1)1 名产妇由于严重失血致其外周血管塌陷,开通静脉通路(包括静脉切开)失败。英国在产科急诊培训课程中包括骨髓腔输注技术,强调“宜将产科遇到特别难以开通静脉通路时如何开通静脉通路列入产科大出血救治指引,宜考虑应用骨髓腔输注技术并做好适宜的人员培训”。(2)复苏的目标是维持有效的循环血容量、适宜的组织灌注和氧合,以及最大程度地降低出现凝血病的可能性,直至出血停止。但在所评估的死亡孕产妇中有许多却未能做到这几点。5 名死亡孕产妇存在输血延误,另外 5 名存在复苏不当。大量出血的有效复苏需要快速输注合适比例的血液成分。许多死亡孕产妇存在输血太少、太迟,没有及时适当地输注具有凝血作用的血液成分等问题<sup>[5]</sup>。

2.5.2.2 主要推荐 如上所述,对所有出血死亡的孕产妇做出评估之后均发现存在产科服务不规范的问题。在保密性调查连续报告中多年来一直在重复强调有关政策、程序和指南方面的推荐,要重点关注基本的临床敏锐性和技术的掌

握。1)发现孕妇 Hb 水平低于孕妇正常范围时,宜做进一步检查,如果存在用药指征,宜考虑补充铁剂,以在分娩前优化 Hb 水平。2)在预警系统如改良产科早期预警图(modified early obstetric warning score, MEOWS)中记录的包括呼吸频率在内的生理观察指标宜用于监护所有产前和产后住院产妇,只有针对异常分数快速响应时才能改善产妇结局,单纯记录是起不到作用的。3)如果产妇出现病情恶化,宜上报上级医生或者助产士,由指定的 1 名高年资医师负责进一步照顾。4)液体复苏和输血不宜因为单次 Hb 检测结果“正常”而延误,要全面考虑临床病情。如果观察到生理指标异常,产妇可能已经存在明显出血,但年轻健康的孕妇代偿能力很强。虽然常见心率加快,但也可能出现心率缓慢,而低血压总是到了末期才出现,因此对于持续出血宜立即采取措施。5)对于可能出现凝血病或者已有凝血病迹象的出血产妇,宜在凝血指标恶化、出血加重之前给予血液成分输注。6)如果药物治疗无法控制出血,宜尽早行外科止血术。7)如果简单的内科和外科治疗措施无效,推荐尽早行子宫切除术。8)宜按照现行指南使用刺激或者增强子宫收缩药物,宜特别注意避免子宫过度收缩或者过度刺激<sup>[5]</sup>。

万和 0.7%、日本 6.4/10 万和 2.8%)<sup>[11]</sup>。发达国家孕产妇死亡率明显降低的主要原因是建立与实施了较为完整、多学科协同、持续改进的孕产妇死亡监测与管理体系。

产科出血是孕产妇死亡、患病和长期残疾的主要原因。2014 年世界献血者日活动主题是“安全血液挽救母亲生命”,及时获得安全的血液和血液制品,对所有国家而言都是预防孕产妇死亡的全面措施的必要组成部分。英国是世界上孕产妇安全程度最高的国家之一,这一成就的取得与 CEMD 的长期实施密切相关。该计划长期实施的关键在于:1)形成社会共识和环境,英国孕产妇死亡保密性调查报告(2014 年)开篇就强调:“1 位孕产妇死亡,无论对她所留下的家庭,对于参加救治的医务人员、对于她曾经属于的社会,都是 1 个悲剧,但是,如果没有从死亡的孕产妇中吸取教训,并以此作为改善孕产妇服务的契机,从而防止其他孕产妇的死亡,就是更大的悲剧”。2)建立“不责备(no blame)”文化,调查结果不用于相关医务人员问责,不用于法律诉讼。3)严格保密,调查资料全部经过匿名化处理,既无法追溯到具体孕产妇,也无法追溯到相关医务人员。4)由产科和相关专业〔(如麻醉学、病理学和孕产妇医学(maternal medicine))〕的专家独立评审。5)坚持持续改进循环,调查的目的不是仅仅为了获得数据,关键是从中发现存在问题,给出解决问题的推荐意见,监测落实效果。如果没有这样的环境和结构,存在问题将不会暴露,其根源也就无法发现,其教训吸取也就无从谈起。

孕产妇出血的防治需要临床多机构、多学科的密切合作。英国在孕产妇出血管理方面制定了一系列的多学科临床指南,其主要特点有:1)强化孕产妇出血全过程管理,从妊娠之前的贫血筛查到产后贫血的防治;2)密切分级诊疗与转诊的对接,构建无缝隙衔接制度和措施;3)适时综合应用多种技术,包括药物、输血、自体血液回收、放射介入止血、多种手术方式止血、骨髓腔输注技术等,多个专业学科和机构通力合作;4)加强大出血和病情恶化的预防,如本文前述,将早期或者预防性介入放射学技术作为产后出血预防和管理的措施;5)强调预案制定和演练(表 6)。

表 5 根据体重估算血容量和失血量占比 (mL)

	总血容量*	15%失血量	30%失血量	40%失血量
50 kg	5 000	750	1 500	2 000
55 kg	5 500	825	1 650	2 200
60 kg	6 000	900	1 800	2 400
65 kg	6 500	975	1 950	2 600
70 kg	7 000	1 050	2 100	2 800

\* 根据妊娠期间血容量为 100 mL/kg 估算,但对于肥胖孕妇,血容量可能高估(注:引自文献 5,表 4.2)

3 启示与结语

孕产妇死亡率是国家经济社会发展和人口健康的关键性指标之一。在联合国于 2000 年发起千年行动计划中,针对发展中国家孕产妇死亡率长期居高不下的现状,将孕产妇死亡率列入千年发展目标,各成员国承诺到 2015 年要实现将孕产妇死亡率下降 3/4 的目标。许多发达国家孕产妇死亡率已经<10/10 万(2015 年孕产妇死亡率和 1990-2015 年的年化下降率分别为法国 7.8/10 万和 3.0%、英国 9.2/10

表 6 英国孕产妇出血管理系列指南

专业学会/组织	指南	发布时间	参考文献
英国皇家妇产科学会	产科输血指南	2015	12-13
	产前出血管理指南	2011	14-15
	前置胎盘、前置胎盘合并植入、前置血管的诊断和管理指南	2011	16
	存在红细胞抗体孕妇管理指南	2014	17-18
	产后出血预防和管理指南	2016	19-22
	急诊和择期介入放射学在产后出血救治中的应用指南	2007	1
英国血液学会	孕妇血型 and 红细胞抗体检测指南	2014	23-24
	应用抗-D 免疫球蛋白预防新生儿溶血病指南	2016	25-26
英国国家卫生与服务优化研究院	产科术中血细胞回收指引	2005	27

2015 年 9 月第 79 届联合国大会通过了决议——《变革我们的世界:2030 年可持续发展议程》,其中包括 17 项目标和 169 项具体目标,有关孕产妇死亡率的具体目标是“到 2030 年,全球孕产妇每 10 万例活产的死亡率降至 70 人以下”<sup>[28]</sup>。随后世界各国相继提出了本国的具体指标:英国

政府提出了要将孕产妇死亡率在 2015 年(<9/10 万)的基础上,至 2020 年下降 20%,2030 年下降 50%<sup>[29]</sup>;我国 2016 年发布的《“健康中国 2030”规划纲要》则将降低孕产妇死亡率列为健康中国建设主要指标——将孕产妇死亡率从 2015 年的 20.1/10 万,到 2020 年下降到 18.0/10 万,2030 年下降

到 12.0/10 万<sup>[30]</sup>。最近,国家卫生计生委专门印发了《关于加强母婴安全保障工作的通知》,全面启动母婴安全行动计划,以确保健康中国规划纲要母婴安全目标的实现<sup>[31]</sup>。毋庸讳言,我国总体医疗基础和环境与英国相差甚远,至今尚无产科出血管理的临床指南。希望本系列介绍对于我国产科出血管理指南的制定乃至产科出血防治工作的推动能够有所助益。

### 参 考 文 献

- [1] Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, Royal College of Radiologists, British Society of Interventional Radiology. The role of emergency and elective interventional radiology in postpartum haemorrhage ( Good-Practice No. 6). 2007-06-01 [2017-08-05] <https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/good-practice-6/>
- [2] de Swiet M. Maternal mortality: Confidential Enquiries into Maternal Deaths in the United Kingdom. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(4): 760-766
- [3] Ministry of Health. Report on Confidential Enquiries into Maternal Deaths in England and Wales, 1952-54. Reports on Public Health and Medical Subjects No. 97. London: HMSO, 1957
- [4] The Healthcare Quality Improvement Partnership. CMACE and CEM-ACH reports. 2014-12-19 [2017-08-05] <http://www.hqip.org.uk/national-programmes/a-z-of-clinical-outcome-review-programmes/cmace-reports/>
- [5] Knight M, Kenyon S, Brocklehurst P, et al (Eds.) on behalf of MBRRACE UK. Saving Lives, Improving Mothers' Care-Lessons learned to inform future maternity care from the UK and Ireland Confidential Enquiries into Maternal Deaths and Morbidity 2009-12. Oxford: National Perinatal Epidemiology Unit, University of Oxford 2014
- [6] Knight M, Tuffnell D, Kenyon S, Shakespeare J, Gray R, Kurinczuk JJ (Eds.) on behalf of MBRRACE-UK. Saving Lives, Improving Mothers' Care-Surveillance of maternal deaths in the UK 2011-13 and lessons learned to inform maternity care from the UK and Ireland Confidential Enquiries into Maternal Deaths and Morbidity 2009-13. Oxford: National Perinatal Epidemiology Unit, University of Oxford 2015
- [7] Knight M, Nair M, Tuffnell D, et al (Eds.) on behalf of MBRRACE-UK. Saving Lives, Improving Mothers' Care-Surveillance of maternal deaths in the UK 2012-14 and lessons learned to inform maternity care from the UK and Ireland Confidential Enquiries into Maternal Deaths and Morbidity 2009-14. Oxford: National Perinatal Epidemiology Unit, University of Oxford 2016
- [8] Centre for Maternal and Child Enquiries (CMACE). Saving Mothers' Lives; reviewing maternal deaths to make motherhood safer: 2006-08. The Eighth Report on Confidential Enquiries into Maternal Deaths in the United Kingdom. *BJOG* 2011; 118(Suppl. 1): 1-203
- [9] The Health and Social Care Information Centre. NHS Maternity Statistics-England, 2004-2005 2006-05-26 [2017-08-04] <https://digital.nhs.uk/catalogue/PUB01674>
- [10] The Health and Social Care Information Centre. NHS Maternity Statistics-England, 2013-2014. 2015-01-28 [2017-08-04] <https://digital.nhs.uk/catalogue/PUB16725>
- [11] GBD 2015 Maternal Mortality Collaborators. Global, regional, and national levels of maternal mortality, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 2016, 388(10053): 1775-1812
- [12] Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Blood transfusions in obstetrics ( Green-top Guideline No. 47). 2015-05-29 [2015-12-01] <https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg-47.pdf>
- [13] 郭永建. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(一)——《产科输血指南》. *中国输血杂志*, 2016, (01): 113-121
- [14] Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antepartum haemorrhage ( Green-top Guideline No. 63). 2011-11-30 [2017-06-02] <https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/gtg63/>
- [15] 梁惠兰, 余卓丽, 马春会, 等. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(七)——产前出血管理指南. *中国输血杂志*, 2017, (06): 652-660
- [16] Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Placenta Praevia, Placenta Praevia Accreta and Vasa Praevia: Diagnosis and Management ( Green-top Guideline No. 27) 2011-01-05 [2017-08-05] <https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/gtg27/>
- [17] Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The management of women with red cell Antibodies during pregnancy ( Green-top Guideline No. 65). 2014-05-28 [2015-12-01] [https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/rbc\\_gtg65.pdf](https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/rbc_gtg65.pdf)
- [18] 张爱, 郭永建. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(二)——《存在红细胞抗体孕妇管理指南》. *中国输血杂志*, 2016, (06): 658-666
- [19] Mavrides E, Allard S, Chandrarahan E, et al. on behalf of the Royal College of Physicians. Prevention and management of postpartum haemorrhage. *BJOG* 2016; DOI: .10.1111/1471-0528.14178
- [20] 余卓丽, 梁惠兰, 马春会, 等. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(五)——产后出血预防和管理指南. *中国输血杂志*, 2017, (03): 320-324
- [21] [2] 马春会, 梁惠兰, 余卓丽, 等. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(六)——产后出血预防和管理指南(续). *中国输血杂志*, 2017, (04): 436-442
- [22] British Committee for Standards in Haematology. Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancy. 2016-03-14 [2016-07-12] <http://www.beshguidelines.com>
- [23] 郭永建. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(三)——《孕妇血型 and 红细胞抗体检测指南》. *中国输血杂志*, 2016, (10): 1210-1218
- [24] Qureshi H, Massey E, Kirwan D, et al. BCSH guideline for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Med*, 2014, 24(1): 8-20
- [25] 任少敏, 刘献成, 王同显. 英国预防新生儿溶血病抗-D 免疫球蛋白应用指南解读. *中国输血杂志*, 2014, (06): 673-678
- [26] National Institute for Health and Clinical Care Excellence. Intraoperative blood cell salvage in obstetrics. 2005-11-23 [2015-12-01] <https://www.nice.org.uk/guidance/ipg144>

[27] 郭永建,褚晓凌. 英国孕产妇出血管理系列指南主要推荐及其启示(四)——产科术中血细胞回收指引. 中国输血杂志, 2016, (11):1306-1310

[28] 联合国第七十届会议大会决议. 变革我们的世界:2030 年可持续发展议程. 2015-09-25 [2017-08-05] [http://www.un.org/ga/search/view\\_doc.asp?symbol=A/RES/70/1&referer=http://www.un.org/sustainabledevelopment/development-agenda/&Lang=C](http://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/70/1&referer=http://www.un.org/sustainabledevelopment/development-agenda/&Lang=C)

[29] National Perinatal Epidemiology Unit. New report from MBRRACE-UK now available. 2016-12-07 [2017-08-05] [https://www.npeu.ox.ac.uk/mbrance-uk/news/1250-new-report-from-mbrance-uk-now-a-](https://www.npeu.ox.ac.uk/mbrance-uk/news/1250-new-report-from-mbrance-uk-now-available-2?highlight=YToxOntpOjA7aToyMDMwO30=)

[30] 中共中央、国务院.“健康中国 2030”规划纲要. 2016-10-25 [2017-08-05] [http://news.xinhuanet.com/health/2016-10/25/c\\_1119786029.htm](http://news.xinhuanet.com/health/2016-10/25/c_1119786029.htm)

[31] 国家卫生计生委. 关于加强母婴安全保障工作的通知(国卫妇幼发〔2017〕42 号)。2017-07-21 [2017-08-05] <http://www.nhfp.gov.cn/fys/s3581/201707/8a786fae7e4d480c94fb0e09c89ab5fd.shtml>

(2017-07-12 收稿, 08-21 修回)

本文编辑:蔡辉

## 关于举办中国血液制品行业高峰论坛的通知

为更好地了解国内外监管法规和行业动态,加强行业之间的国际交流,促进血液制品企业和浆站持续稳定健康发展,定于 2017 年 9 月 7 日至 8 日于北京举办中国血液制品行业高峰论坛,现将有关事项通知如下:

**一、组织单位** 此次论坛由中国医药设备工程协会主办,北京嘉华特咨询服务有限公司承办,中国输血协会血液制品专业委员会协办,国际血浆蛋白治疗协会(PPTA; Plasma Protein Therapeutics Association)支持。

**二、论坛内容** 论坛将采取授课和互动相结合的方式,充分满足参会单位了解和学习国内外法规、实践方法等需求。论坛共分为 5 大板块,分别为生产、标准、监管、行业和临床应用板块,包括但不限于以下内容:1. 生产方面。生产板块将讨论下列议题:现代血浆采集;中国浆站面临的问题及建议;质量体系;病原体安全性和疯牛病/变异型 CJD。2. 标准方面。此板块讨论的内容包括:PPTA 志愿标准项目:国际质量血浆项目(IQPP)和卓越、保证和领导力质量标准(QSEAL);目前中国血液制品的生产标准。3. 监管方面。监管板块覆盖:全球监管政策;趋势和新考虑;中国药典 2020 版三部标准修订动态;中国血液制品的监管法规及趋势;中国浆站监管政策;趋势和新考虑。4. 行业概览。行业概览方面包括:全球行业发展历程;全球临床应用;中国血液制品发展现状及前景。5. 临床应用。临床应用板块将讨论如下议题:白蛋白;目前的应用和适应证;原发性免疫不全症;流行病学、诊断和治疗;出血性疾病;全球速览;血液制品临床试验介绍及思考建议。

**三、论坛时间** 2017 年 9 月 7 日 12:00-17:10, 9 月 8 日 8:30-12:00。9 月 7 日 9:00-11:00 报到。

**四、论坛地点** 北京国际饭店主楼二层彩虹厅(地址:北京建国门内大街 9 号)

**五、参加对象** 1. 血液制品公司高级管理人员、生产及质量部门主管;2. 全国单采血浆站站长;3. 中国输血协会会员单位(注:因场地等资源限制,并保证论坛效果,本期论坛总人数控制在 130 人以内)。

中国医药设备工程协会