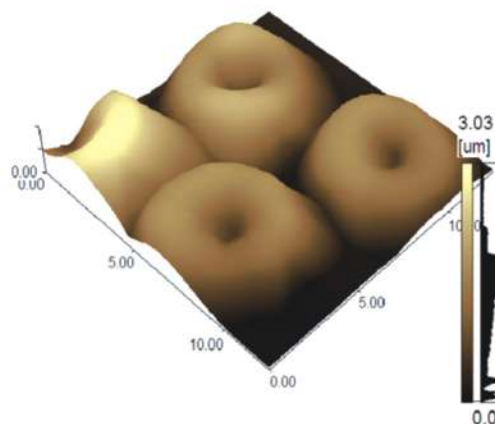
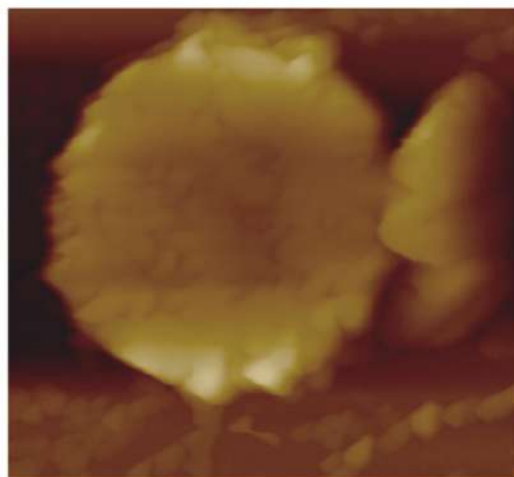




# 中国输血杂志®

ZHONGGUO SHUXUE ZAZHI  
CHINESE JOURNAL OF BLOOD TRANSFUSION

2017年 第30卷 第9期



( See page 988 )

ISSN 1004-549X



中国输血杂志编辑委员会



# 中国输血杂志

ZHONGGUO SHUXUE ZAZHI

月刊 1988年3月创刊 第30卷第9期 2017年9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

### Rh血型系统基础与临床研究专题(上)

- 红细胞 RhD 膜蛋白提取与固相化方法的研究  
..... 章昊 徐华 张印则等(975)
- 建立 D 抗原免疫刺激 T 细胞活化模型的研究  
..... 李桢 徐华 张印则等(978)
- ssDNA 适配体阻断 FcγR 介导巨噬细胞吞噬作用的研究  
..... 李桢 徐华 张印则等(981)
- 用于 RhD 抗原流式细胞检测的固定透化方法评价  
..... 李桢 徐华 张印则等(984)
- 临床输血患者 Rh 血型表型分布及罕见 DCCEE 表型的研究  
..... 许亚莉 吴继博 王军阳等(987)

### 基础医学与实验研究

- ABO 新生儿溶血病放散试验异常结果原因的体外模拟实验探讨  
..... 马春娅 杨璐 汪德清等(992)
- 血液质量控制检测项目试剂盒的选择及室内质量控制方法的建立  
..... 王洪 张玉红 刘玉振(995)
- 在 1 名幼儿及其家系中发现 538C>T 变异新 B 等位基因  
..... 徐秀云 刘昕 周根水等(997)
- 客机运输对不同保存期悬浮红细胞质量影响的研究  
..... 魏少平 李柱 雷慧芬等(1000)
- 无偿献血者 HCV 核心区氨基酸置换情况分析  
..... 林红 邵雷 胡文佳等(1004)
- 六种 HIV 酶免血液筛查试剂的评价 ..... 刘宜仲 陈爱华 彭佛喜等(1007)
- Diego 血型基因分型方法的建立及西安地区多态性分布研究  
..... 左琴琴 王红 徐华等(1010)
- 732 例全自动血型分析仪检测 ABO 血型结果不确定的分析  
..... 张坤莲 黄旭颖 李剑平等(1012)
- PK7300 全自动血型分析系统性能使用前确认  
..... 王霞 潘彤 杨文玲等(1016)

### 临床研究

- 发热伴血小板减少综合征患者血小板输注疗效分析  
..... 陈晶晶 李静 王明民(1019)
- 免疫性血小板输注无效血液病患者血小板抗体特异性检测及分析  
..... 任明 陈国安 沈钢等(1021)
- 血栓弹力图在创伤后大出血患者输血治疗中的作用  
..... 田艳 赖冬 董婉妮等(1024)
- 本院储存式自体输血的临床应用及问题分析  
..... 李小薇 范秀 李翠莹等(1027)

### 调查研究

- HNA-3 在中国 3 个民族中的分布 ..... 欧国进 王珏 刘忠等(1030)

实施核酸检测后重新评估献血者 ALT 的检测  
功效……………王瑞 黄力勤 葛红卫等(1034)

昆明地区体检人群输血传播病毒分子流行病学  
研究……………和芳 马莎 俞娟等(1039)

成都市获国家无偿献血奉献奖献血者流失原因  
分析……………赵玉伟 涂丽梅 傅雪梅 (1042)

青岛地区 2006-2015 年不同年龄段献血者  
血液检测不合格情况分析  
……………赵会霞 韩丽 王倩倩 (1046)

安阳市个体献血者与团体献血者感染及人群  
分布比较……………冯娟 (1049)

医学生无偿献血现状及影响因素调查分析  
……………郑亚楠 龚茜 刘民 (1051)

关于固定献血者比例概念的应用和思考  
……………张燕 常纓 赵凤绵等(1054)

一例类同种抗-D 抗体鉴定及输血效果评估  
……………于建 向东 李志强等(1067)

**输血管理**  
军民融合提高血液保障水平  
……………谭春泽 杨雪 李聚林等(1069)

“互联网+无偿献血”综合管理模式的建立与应用  
……………赵冬梅 朱永宝 李雅静等(1073)

**综述**  
红细胞储存损伤研究进展  
……………王子 查占山 钱宝华 (1076)

**血液质量管理论坛**  
国家卫生行业标准《献血不良反应分类指南》导读  
……………陈辉 徐健 郭永建等(1080)

**经验与方法**

血液成分质量控制关键指标的趋势分析  
……………石洁 贾璐 段志倩等(1057)

血栓弹力图在肺癌患者凝血功能异常中的应用  
……………王书锋 董晓峰 王艳等(1059)

16GB 浅静脉留置针在血细胞分离患者中的应用  
……………刘淑萍 周晔敏 (1061)

病毒灭活新鲜冰冻血浆二次冻融前后凝血因子的  
变化……………宋春明 李晓华 王文经等(1063)

**个案报告**

二例类孟买型血型的血清学鉴定及输血实践  
……………谢进荣 吴维华 金月林等(1065)

**信息窗**  
《紧急抢救输血指南(讨论稿)》研讨会纪要(990)

《临床单病种输血》专著出版(980) 输血医学前沿科技论坛暨《中华输血学》新书发布会议 第一轮通知(989) 《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》出版(1003) 2017 年本刊专题报道(1015) 《中国输血杂志》郑重声明(1033) 《临床输血进展》购书事宜(1038) 严正声明(1045) 中国输血协会新版官网开通(1053) 《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目(1056)

**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)	中国输血杂志简介	(目次)
斯达必集血型仪(澳斯邦生物)	一体化采血系统(达科为医疗)	(对文)
ORTHO 血型检测工作站(奥森多医疗)	血站大容量离心机(赛默飞世尔)	(对文)
采供血设备(威高集团)	采供血设备(上海若骊生物)	(对文)
采供血设备(爱康生物)	采供血设备(上海输血技术)	(对文)
采供血设备(美国血液技术)	采供血设备(美国血液技术)	(封三)
谷丙转氨酶检测系统(艾康生物)	血浆解冻仪(贝索企业)	(封底)
中国科技核心期刊收录证书		

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

**本期责任编辑:** 闻欣 **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 9    Sept 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

- RhD membrane protein extraction and immobilization method**  
..... ZHANG Hao, XU Hua, ZHANG Yinze, et al( 975 )
- Establishment of D-antigen immunostimulating T cell activation model**  
..... LI Zhen, XU Hua, ZHANG Yinze, et al( 978 )
- ssDNA adapter blocking Fc gamma receptor mediated research  
macrophage phagocytosis**  
..... Li Zhen, XU Hua, ZHANG Yinze, et al( 981 )
- Evaluation of RBC fixation and permeabilization methods for RhD  
fluorescence detection** ... LI Zhen, XU Hua, ZHANG Yinze, et al( 984 )
- Study on the Rh blood type distribution and rare DCCEE phenotype of  
clinical blood transfusion patients**  
..... XU Yali, WU Jibo, WANG Junyang, et al( 987 )
- In vitro simulations for abnormal result analysis in elution test**  
..... MA chunya, YANG Lu, WANG Deqing, et al( 992 )
- Whole blood and blood component quality control test kit selection  
and the establishment of laboratory quality control**  
..... WANG Hong, ZHANG Yuhong, LIU Yuzhen( 995 )
- A novel variant B allele with nt538C>T found in an infant and its  
family** ..... XU Xiuyun, LIU Xin, ZHOU Genshui, et al( 997 )
- Effects of air-born transportation on the quality of suspended red blood  
cells with different storage time**  
..... WEI Shaoping, LI Zhu, LEI Huifen, et al( 1000 )
- Patterns of amino acid substitution in hepatitis C virus core region  
among Chinese volunteer blood donors**  
..... LIN Hong, SHAO Lei, HU Wenjia, et al( 1004 )
- Evaluation of six HIV ELISA kits in blood screening**  
..... LIU Yizhong, CHEN Aihua, PEN Foxi, et al( 1007 )
- Establishment of genotyping for Diego blood group and study on Xi'an  
area polymorphism distribution**  
..... ZUO Qinqin, WANG Hong, XU Hua, et al( 1010 )
- Analysis of the doubtful ABO blood grouping from an automated system  
in 732 cases**  
..... ZHANG Kunlian, HUANG Xuying, LI Jianping, et al( 1012 )

- Validation of Beckman PK7300 automatic blood group analysis system** ... *WANG Xia, PAN Tong, YANG Wenling, et al*( 1016)
- Curative effects of platelet transfusion in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome**  
..... *CHEN Jingjing, LI Jing, WANG Mingmin*( 1019)
- Detection and analysis of platelet antibody specificity from immunologic platelet transfusion refractoriness hematopathy patients** ..... *REN Ming, CHEN Guoan, SHEN Gang, et al*( 1021)
- To study the effect of the thrombelastogram to the patients after blood transfusion of traumatic hemorrhage**  
..... *TIAN Yan, LAI Dong, DONG Wannan, et al*( 1024)
- Clinical application and problem analysis of stored autologous transfusion in our hospital**  
..... *LI Xiaowei, FAN Xiu, LI Cuiying, et al*( 1027)
- HNA-3 gene frequencies in three Chinese population** ..... *OU Jinguo, WANG Jue, LIU Zhong, et al*( 1030)
- Reevaluation the effect of ALT on blood safety in nucleic acid era** ..... *WANG Rui, HUANG Liqin, GE Hongwei, et al*( 1034)
- Study on the molecular epidemiology of transfusion transmitted virus in physical examination population**  
..... *HE Fang, MA Sha, YU Juan, et al*( 1039)
- Condition and reason analysis on loss of awarded blood donors in Chengdu** ..... *ZHAO Yuwei, TU Limei, FU Xuemei*( 1042)
- Serological detection of blood from different age groups in blood donors and analysis of unqualified reason in Qingdao from 2006 to 2015** ..... *ZHAO Huixia, HAN Li, WANG Qianqian*( 1046)
- Comparison on the distribution of infection status in individual blood donors and group blood donors in Anyang**  
..... *FENG Juan*( 1049)
- Investigation and analysis of current situation and influencing factors on non-remunerated blood donation in medical students** ..... *ZHENG Yanan, GONG Xi, LIU Min*( 1051)
- Applications and considerations about the proportion concept of fixed blood donors**  
..... *ZHANG Yan, CHANG Ying, ZHAO Fengmian, et al*( 1054)
- Trend analysis of the key indexes for blood component quality control** ..... *SHI Jie, JIA Lu, DUAN Zhiqian, et al*( 1057)
- Study on the application of thromboelastography in assessing coagulation status in patients with carcinoma of the lungs**  
..... *WANG Shufeng, DONG Xiaofeng, WANG Yan, et al*( 1059)
- Application of 16GB venous indwelling needle among patients with blood component apheresis**  
..... *LIU Shuping, ZHOU Yemin*( 1061)
- Research on changes of coagulation factors in fresh frozen plasma before and after secondary freeze-thawing by virus inactivation** ..... *SONG Chunming, LI Xiaohua, WANG Wenjing, et al*( 1063)
- Serological identification and the practice of blood transfusion of para-Bombay blood group**  
..... *XIE Jinrong, WU Weihua, JIN Yuelin, et al*( 1065)
- A case of autoantibody with mimicking anti-D specificity and to evaluate its efficacy of blood transfusion**  
..... *YU Jian, XIANG Dong, LI Zhiqiang, et al*( 1067)
- Military and civilian integration to improve blood security level** ..... *TAN Chunze, YANG Xue, LI Julin, et al*( 1069)
- “Internet+ unpaid blood donation” integrated management platform** ..... *ZHAO Dongmei, ZHU Yongbao, LI Yajing, et al*( 1073)
- Red blood cell storage lesion: a progress review** ..... *WANG Zi, CHA Zhanshan, QIAN Baohua*( 1076)
- Introduction of Guidelines on the Classification of Blood Donation Adversereaction**  
..... *CHEN Hui, XU Jian, GUO Yongjian, et al*( 1080)

# 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 傅涌水 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 FENG 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 官济武 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 Zhiang 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 Chuanxi  
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  
王燕王 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)

## 本期关注

从2008年扩版为月刊伊始,本刊几乎每期都推出一个重点“专题”,接近连续十载不辍,这俨然成为本刊的一个鲜明特征。编者办此栏目的初衷首先是欲同输血业界的学术名宿、科研新锐一道专注输血医学领域的热点、难点和兴奋点,催生和促成输血医学基础理论和临床实践新观念、新思路的落地(中国化),推进和成就凡能为“我”(输血)所用的新技术、新方法的实施(行业水平和资质提升);当然也心存使本刊成为引领输血科研方向与规划输血学术路径的向往(“私念”)。将及10年,林林总总近百个“专题”做下来,是否达到了自我的期许和读者的需求,或唯有待时间秉持公论。但聊以自慰的是在本刊周围已聚拢了一批有想法、想干事、事竟成的输血及其相关专业的专家!

在已经发表的“专题”中,以相同的作者(血站和医院输血科的专业骨干组成的“民间性”的跨区域输血科研合作组织),就同一主旨(以一个血型系统为研究目标)连续数年作同名专题报道,“Rh血型系统基础与临床研究专题”为仅见:五年六期33篇论文(包括在本期与下一期分为“上”“下”两次刊登的13篇),涉及了从RhD血型基础理论到临床实践的一系列研究,内容涵盖了Rh血型系统基因特点和表型之间的关系、实验室检测和相关的临床输血实践、RhD变异体和蛋白质组学以及核酸适配体筛选技术在RhD通用血改造等诸多方面。如此专注与卯劲的态度和作风,除了给本刊带来了RhD研究成果蔚然成观的展示,更反映出该专题作者个人、所属团队、所在机构乃至所在地区血型研究水平及科研素养的攀升;不仅如此,该专题还为读者(包括寻觅“专题”研究的专家)提供了开题思路、专研选径和做事模式——咬住青山不放松,学以致用,用达及学!

专题为专家所作,专家为专题造就,而一干输血专家普遍重视和共同关怀的议题,势必更易成为输血医学工作者“专题研究”的指引。本月初在长沙召开的《紧急抢救输血指南(讨论稿)》研讨会,整50名来自全国各地的输血专家,针对2014年公布的《特殊情况紧急抢救输血推荐方

案》[中国医师协会输血科医师分会/中华医学会临床输血学分会制定、本刊首发(2014,27(1):1-3)]中尚存的悬而未决的“输血技术问题”——紧急抢救输血启动指征、ABO血型鉴定困难患者紧急抢救输血、ABO同型血液储备无法满足需求时紧急抢救输血、RhD阴性患者无同型血时紧急抢救输血、交叉配血试验不合或/和抗体筛查阳性患者紧急抢救输血及特殊情况紧急抢救血小板输注等——展开了热烈的讨论和激扬的观点(意见)碰撞,最终达成了基本共识:常规输血首选同型血,特殊情况紧急抢救时生命至上,即便相容性输血有不良反应,也要遵循两害相权取其轻的原则。与会专家中有人进而提议将该讨论方案纳入为《临床输血技术规范》的附件,使其具备“法律法规”的效力(详见本期“信息窗”《〈紧急抢救输血(讨论稿)〉研讨会纪要》)。上述“共识”及其各项具体议题,体现了越来越多的输血学人严谨但实事求是的科学态度,有作为并敢争位的风发意气,关切生命又不负使命的宽广情愫。有识之士(读者)藉此实时投入相关类似的“专题研究”,取得“石破”之效是可以期待的。

说到学以致用,无论释义为“为了应用而学习”,还是诠释做“学问要有经世之用”,均说明人们求学识、累学养的目的和对学问、学术的应有之待。本刊“血液质量管理论坛”专栏(同样从2008年创办至今)的主事者(专栏主编和作者)始终都在孜孜追求学以致用。本期该专栏中的文章《国家卫生行业标准〈献血不良反应分类指南〉导读》,从国内外献血者献血不良反应的科学管理、伦理学依据和法规要求这三个维度,分析并说解了最新卫生行业推荐标准《献血不良反应分类指南》的起草原则、过程,以及指南的主要内容和和实施建议。“遵循伦理、接轨国际、结合国情”是该指南的起草原则,而最令编者慰藉与豁然的是,在为该指南起草所做的大量工作中,起草者将国际上最新版的献血者不良反应(国际上谓之“献血并发症”)监测标准翻译整理后经由本专栏刊出,从而为该指南的起草和终得面世奠定了“前期基础”——这同样也是本刊服务于国家政策法规的制定、“学以致用”的又一鲜例!

· 论著 ·

· Rh 血型系统基础与临床研究专题(上) ·

## 红细胞 RhD 膜蛋白提取与固相化方法的研究

章昊<sup>1</sup> 徐华<sup>2\*</sup> 周华友<sup>3\*</sup> 张印则<sup>1\*△</sup>

(1.深圳市血液中心,广东深圳 518035; 2.陕西省血液中心; 3.南方医科大学南方医院)

**摘要:目的** 提取红细胞 RhD 膜蛋白并将其固化至乳胶微球以获得固相化 RhD 蛋白靶分子。**方法** 采集 3 份志愿者全血标本,分别使用 Yared MA 法提取浓缩红细胞、试剂盒法提取浓缩红细胞及血影细胞膜蛋白的方法提取标本红细胞 RhD 膜蛋白,通过蛋白质定量检测及免疫印迹试验评价不同方法的提取效果。将不同方法提取出的 RhD 蛋白固化至乳胶微球,并通过流式细胞仪分析其抗原活性。**结果** RhD 膜蛋白浓度(mg/mL)分别为( $n=3$ ):  $0.24\pm 0.04$ (Yared MA 法提取浓缩红细胞)、 $4.82\pm 0.09$ (试剂盒法提取浓缩红细胞)和  $4.31\pm 0.39$ (试剂盒法提取血影细胞)与浓缩红细胞上的 RhD 膜蛋白浓度(mg/mL)。免疫印迹试验:Yared MA 法从浓缩红细胞提取的 RhD 蛋白仅有 1 条 RhD 特异性条带;试剂盒法从浓缩红细胞提取的 RhD 蛋白无特异性条带,从血影细胞提取的 RhD 蛋白有 2 条 RhD 特异性条带。流式分析( $n=3$ ):Yared MA 法提取的浓缩红细胞样品与试剂盒法提取的血影细胞样品、浓缩红细胞样品的荧光强度分别为: $98.00\pm 12.53$ 、 $92.67\pm 10.69$ 、 $50.00\pm 13.89$ 。**结论** Yared MA 法提取出的 RhD 膜蛋白固化于乳胶微球可获得 RhD 蛋白纯度及抗原性较佳的固相靶分子。

**关键词:** RhD 膜蛋白;固相化;RhD 蛋白靶分子;Yared MA 法**中图分类号:** R446.62 R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-0975-03

**RhD membrane protein extraction and immobilization method** ZHANG Hao<sup>1</sup>, XU Hua<sup>2</sup>, ZHOU Huayou<sup>3</sup>, ZHANG Yinze<sup>1</sup>. 1. Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518035, China; 2. Shanxi Blood Center; 3. Nanfang Hospital, Southern Medical University. Corresponding author: ZHANG Yinze

**Abstract: Objective** To extract RhD membrane protein from red blood cells and solidify them on latex beads to obtain the solid-phase target RhD antigen. **Methods** To extract red blood cells RhD membrane protein of 3 blood donor samples by Yared MA method for extraction of concentrated red blood cells, kit method for extraction of concentrated red blood cells and ghost cells respectively, and to evaluate extractive effect by protein quantitative analysis and western blot. To analyze the activity of RhD antigen solidified on latex beads by flow cytometer. **Results** The concentration of membrane protein extracted by Yared MA method, ghost cells and packed red cells membrane protein extract by reagent kit was  $0.24\pm 0.04$ ,  $4.31\pm 0.39$  and  $4.82\pm 0.09$  mg/mL ( $n=3$ ) respectively. Western blot result showed membrane protein get by Yared MA method had one RhD specific band, and ghost cells membrane protein get by reagent kit had two bands, but packed red cells membrane protein had none band. Flow analysis results showed that the fluorescence intensity of samples RhD specificity get by Yared MA method, ghost cells and packed red cells membrane protein extract by reagent kit was  $98.00\pm 12.53$ ,  $92.67\pm 10.69$  and  $50.00\pm 13.89$  ( $n=3$ ) respectively. **Conclusion** To solidify RhD membrane protein get by Yared MA method could obtain high purity immobilization RhD antigen target.

**Key words:** RhD membrane protein, immobilization, RhD protein target molecule, Yared MA method.

以完整红细胞作为靶细胞应用指数富集的配基系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选 RhD 抗原的核酸适配体是 1 项极具挑战性的工作。红细胞表面表达大量的糖类抗原及蛋白质类抗原,仅单糖抗原及糖蛋白 A 在每个红细胞表面就有  $(0.5-1)\times 10^6$  个<sup>[1]</sup>。虽然核酸适配体具有从复杂的靶分子中识别抗原单一表位的能力<sup>[2]</sup>,但优势抗原(如糖类抗原、糖蛋白 A 等)会遮挡在红细胞表面表达较少的抗原而导致 SELEX 筛选失败<sup>[3]</sup>。研究显示每个红细胞表面约有  $(1-2)\times 10^5$  个 Rh

抗原复合体<sup>[4]</sup>,以红细胞为靶细胞筛选 RhD 抗原的核酸适配体可能难以使核酸适配体富集。我们设想提取红细胞 RhD 膜蛋白并将之固定于固相载体或许能解决这一问题,为此我们比较了常用 RhD 膜蛋白提取方法的提取效果,并将它们提取出的 RhD 蛋白固定于与红细胞大小相似的乳胶微球上,获得了固相化 RhD 蛋白靶分子,现报道如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 标本来源** O 型 RhD 阳性新鲜全血 3(人)份(5 mL/份,EDTA-K<sub>2</sub>抗凝),2016 年 12 月 28 日采自本中心 3 名固定志愿献血者,均为男性、年龄 26-32( $28\pm 3.46$ )岁。血液采集与后续实验经深圳市血液学医学伦理学委员会批准。

**1.2 试剂与仪器** 不含 EDTA 的蛋白酶抑制剂(批号



D00151091,德国 Calbiochem 公司);膜蛋白提取试剂盒(批号 OF184634A,美国 Thermo Scientific 公司);人源 RhD IgG 单克隆抗体(批号 20160725,上海血液生物有限责任公司);兔抗人 RhD 抗体(批号 GR110104-2,英国 Abcam 公司);羊抗兔 800CW 荧光抗体(批号 C50331-01,美国 LI-Cor 公司);Qubit 蛋白定量试剂盒(批号 1465017),聚丙烯酰胺凝胶(批号 16071590),iBlot 2 PVDF 蛋白转印试剂盒(批号 2PM3006501),iBind Cards(批号 Bi05076)、乙醛/硫酸盐乳胶微球(批号 1643307,直径 9 μm),羊抗人 IgG Alexa Fluor 488 荧光抗体(批号 1495793)(美国 Life technologies 公司);蛋白 Marker(批号 R10021505,购于南京金斯瑞生物科技有限公司)。荧光定量分析仪(Qubit 2.0),干式转印仪(iBlot 2),蛋白印迹处理仪(iBind)。声波聚焦流式细胞仪(Attune Nxt)(美国 Life technologies 公司);血清学离心机(KA-2200,日本 Kubota 公司);超速离心机(Optima Mac-XP,美国 Beckman 公司);荧光成像分析仪(FluorChem R,美国 ProteinSimple 公司)。

**1.3 红细胞 RhD 膜蛋白提取** 对 3 份血液标本的处理:

**1.3.1 Yared MA 法** 用预冷的 0.9%生理盐水 4 mL 洗涤 1 mL 红细胞(1 000 g 离心 1 min)4 次制备成浓缩红细胞 1 mL;取 420 μL 浓缩红细胞加入到 1 支盛有 8.5 mL 的 0.01 mol/L Tris-HCl(含 1%蛋白酶抑制剂,pH7.4)的玻璃试管中,冰浴 20 min,4℃、48 000 g 离心 15 min;弃上清,沉淀物用 Tris-HCl 洗涤 2 次,溶重悬于 420 μL Tris-HCl 中并加入 21 μL 10%Triton X-100(终浓度为 0.5%);冰浴 15 min,不时混匀,4℃、48 000 g 离心 10 min;弃去上清液,沉淀物用 Tris-HCl 洗涤 2 次后,在沉淀物中加入 250 μL 37℃预温的 0.1 mmol/L EDTA(pH8.0);37℃孵育 30 min,不时混匀,4℃ 48 000 g 离心 15 min,上清液即为 RhD 蛋白液<sup>[5]</sup>。

**1.3.2 试剂盒法** 1)血影细胞 RhD 膜蛋白的提取:按文献[6]中方法制备血影细胞,使用膜蛋白提取试剂盒提取血影细胞 RhD 膜蛋白,操作严格按试剂盒说明书。2)浓缩红细胞 RhD 膜蛋白的提取:使用膜蛋白提取试剂盒提取浓缩红细胞 RhD 膜蛋白,操作严格按试剂盒说明书。

**1.4 蛋白浓度检测** 使用 Qubit 蛋白检测试剂盒对 1.2 中所提取的蛋白提取液做定量检测,操作严格按试剂盒说明书。

**1.5 Western blot (WB) 检测** 使用聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白样品,上样量均为 20 μL,蛋白 Marker 上样量为 10 μL;200 V 电泳 50 min 后,使用干式转印仪及蛋白转印试剂盒转膜,使用蛋白印迹处理仪及 iBind Cards 做抗体孵育,兔抗人 RhD 抗体稀释度为 1:1 000,羊抗兔 800 CW 荧光抗体稀释度为 1:2 000;抗体孵育完成后,使用荧光成像仪的近红外(激发光波长 747 nm,发射光波长 835 nm)检测。所有操作均严格按照仪器使用说明及相应试剂盒说明书进行。

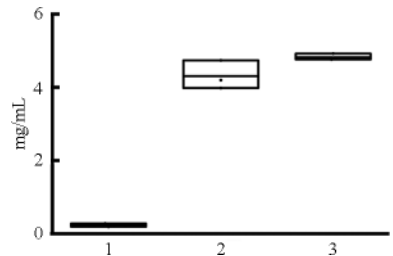
**1.6 RhD 蛋白的固化与流式检测** 将 1.2 中所提取的 RhD 蛋白液各 0.1 mL 分别包被于直径为 9 μm 的乙醛/硫酸盐乳胶微球上,操作严格按照试剂盒说明书;同时设置空白对照组(用生理盐水代替 RhD 蛋白液)。包被完成后,用 0.9%生理盐水洗涤 3 次后,加入效价为 128 的人源 RhD IgG 单克隆

抗体,37℃孵育 30 min;用 0.9%生理盐水洗涤 3 次,加入 1:500 稀释的羊抗人 IgG Alexa Fluor 488 抗体,37℃孵育 30 min;最后用 0.9%生理盐水洗涤 3 次,加入 300 μL 0.9%生理盐水混匀,在声波聚焦流式细胞仪上分析各样品的荧光强度。

**1.7 统计学分析** 使用 IBM SPSS Statistics 22 软件,计量数据以“均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )”表示,组间比较采用 *F* 检验,*P*< 0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

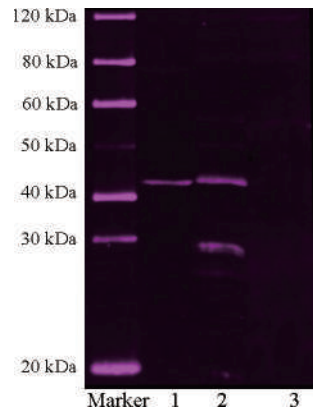
**2.1 红细胞 RhD 膜蛋白浓度检测** 蛋白定量检测 3 次, Yared MA 法提取浓缩红细胞和试剂盒法提取血影细胞及浓缩红细胞 RhD 膜蛋白的浓度(mg/mL)分别为:0.24±0.04 与 4.31±0.39、4.82±0.09 (*F* = 348.151, *P* < 0.01) (图 1)。



1 Yared MA 法提取浓缩红细胞;2 试剂盒法提取血影细胞;3 试剂盒法提取浓缩红细胞

**图 1** 不同方法提取(及同一方法提取不同红细胞)的 RhD 膜蛋白浓度 (n=3)

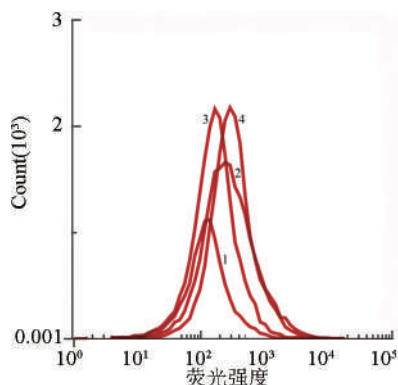
**2.2 红细胞 RhD 膜蛋白的免疫印迹检测** 见图 2。



1 Yared MA 法提取浓缩红细胞的 RhD 膜蛋白:在约 45 kDa 的位置出现 1 条 RhD 特异性条带;2 试剂盒法提取血影细胞的 RhD 膜蛋白:分别在约 30 及 45 kDa 的位置各出现 1 条 RhD 特异性条带;3 试剂盒法提取浓缩红细胞的 RhD 膜蛋白:未见 RhD 特异性条带

**图 2** 不同方法提取(及同一方法提取不同红细胞) RhD 膜蛋白的免疫印迹检测

**2.3 红细胞 RhD 膜蛋白的流式检测** 共检测 3 次,空白对照组荧光强度为 185.67±9.50;Yared MA 法提取浓缩红细胞组与试剂盒法提取血影细胞组及浓缩红细胞组的荧光强度测量值减去空白对照后的荧光强度值分别为:98.00±12.53 与 92.67 ± 10.69、50.00 ± 13.89 (*F* = 13.416, *P* < 0.01) (图 3)。



1 空白对照组;2 Yared MA 法提取浓缩红细胞 RhD 膜蛋白;3 试剂盒法提取血影细胞 RhD 膜蛋白;4 试剂盒法提取浓缩红细胞 RhD 膜蛋白

图 3 不同方法(及同一方法提取不同红细胞)提取的 RhD 膜蛋白荧光强度强度比较 ( $n=3$ )

### 3 讨论

目前普遍认为 RhD 抗原是由多种红细胞膜成分,如 Rh 相关糖蛋白,共同组成的 1 种复合抗原<sup>[7]</sup>,但红细胞膜骨架成分却并不是影响 Rh 抗原活性的绝对因素,在无细胞膜骨架成分的标本中同样可检出 Rh 抗原活性<sup>[8]</sup>。在本实验中我们通过比较文献[5]建立的 RhD 膜蛋白提取方法与试剂盒提取膜蛋白的方法发现,Yared MA 法蛋白提取浓度较低,仅为试剂盒法提取膜蛋白浓度的 1/20(图 1);但免疫印迹检测结果显示试剂盒提取血影细胞的 RhD 蛋白纯度却不及 Yared MA 法提取浓缩红细胞;试剂盒法提取的血影细胞有 2 条明显的条带,虽然 1 条与 Yared MA 法相同位于约 45 kD 的位置,然而另 1 条却位于约 30 kD 处,可能是蛋白降解导致的结果(图 2)。

红细胞蛋白组成以血红蛋白为主(约占红细胞湿重的 97%)<sup>[9]</sup>。试剂盒法提取浓缩红细胞膜 RhD 蛋白的过程与 Yared MA 法、试剂盒法提取血影细胞膜 RhD 蛋白不同,它没有去除血红蛋白的过程,血红蛋白完全保留在了提取液中。Yared MA 法提取浓缩红细胞膜 RhD 蛋白可完全去除血红蛋白的干扰,而试剂盒法提取血影细胞膜 RhD 蛋白则最多可去除 86.33%的血红蛋白<sup>[6]</sup>。虽然试剂盒法提取血影细胞与浓缩红细胞膜蛋白浓度相近,但免疫印迹检测结果差别明显——在血红蛋白的干扰下浓缩红细胞膜蛋白提取液中无 RhD 特异性条带(图 2)。由此可见提取红细胞膜蛋白去除

血红蛋白的干扰是十分必要的。

RhD 膜蛋白固化至乳胶微球的流式检测显示:Yared MA 法提取浓缩红细胞膜 RhD 蛋白与试剂盒法提取血影细胞 RhD 膜蛋白的荧光强度相似( $P>0.05$ ),提示 2 法所提取的 RhD 蛋白均固定于微球上(图 3)。但免疫印迹结果提示试剂盒法反映提取血影细胞 RhD 膜蛋白纯度不及 Yared MA 法;虽然试剂盒法提取血影细胞膜蛋白操作非常简单,但存在杂带(图 2)。

综上所述,为保证靶分子的纯度,较理想的方法是使用 Yared MA 法提取红细胞膜蛋白,并将之固化至乳胶微球上。但通过该法能否筛选出高亲和力、高特异性的 ssDNA,尚需在实际筛选工作中进一步验证。

### 参考文献

- [1] Chasis JA, Mohandas N. Red blood cell glycoproteins. *Blood*, 1992, 80(8):1869-1879.
- [2] Morris KN, Jensen KB, Julin CM, et al. High affinity ligands from in vitro selection: complex targets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(6):2902-2907.
- [3] Birch CM, Hou HW, Han J, et al. Identification of malaria parasite-infected red blood cell surface aptamers by inertial microfluidic SELEX (I-SELEX). *Sci Rep*, 2015, 5:11347. doi: 10.1038/srep11347.
- [4] 徐华. Rh 血型系统//张印则,徐华,周华友. 红细胞血型原理与检测策略. 北京:人民卫生出版社,2014;55.
- [5] Yared MA, Moise KJ, Rodkey LS. Stable solid-phase Rh antigen. *Transfus Med*, 1997, 7(4):311-317.
- [6] 吴凡,梁延连,张印则,等. 不同血影细胞制备方法质量评价体系的建立. *中国输血杂志*, 2014, 27(5):508-510.
- [7] Bruckheimer EM, Gillum KD, Schroit AJ. Colocalization of Rh polypeptides and the aminophospholipid transporter in diluorophosphatidylcholine-induced erythrocyte vesicles. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1235(1):147-154.
- [8] Agre P, Cartron JP. Molecular biology of the Rh antigens. *Blood*, 1991, 78(3):551-563.
- [9] Weed RI, Reed CF, Berg G. Is hemoglobin an essential structural component of human erythrocyte membranes? *J Clin Invest*, 1963, 42(4):581-588.

(2017-05-21 收稿,09-01 修回)

本文编辑:蔡辉

欢迎赐稿

欢迎订阅

· 论著 ·

# 建立 D 抗原免疫刺激 T 细胞活化模型的研究\*

李桢<sup>1</sup> 徐华<sup>2◆</sup> 周华友<sup>3◆</sup> 张印则<sup>1◆△</sup>

(1.深圳市血液中心,广东 深圳 518035; 2.陕西省血液中心; 3.南方医科大学 南方医院)

**摘要:目的** 了解 RhD 抗原免疫刺激途径,建立 D 抗原免疫刺激活化的模型。**方法** 选取 RhD 血型不同的供者,采用红细胞与单个核细胞直接混合培养,以及 DC 细胞负载 RhD 抗原后与单个核细胞混合培养 2 种实验方案,流式细胞仪检测 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞的活化量。**结果** RhD(-)个体的 DC 细胞负载 D 抗原后,可以有效活化 RhD-个体的 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞,而直接混合培养方式则不能。**结论** 本研究采用 DC 细胞负载 RhD 抗原的方法,成功诱导了 RhD(-)个体的 T 细胞活化和增殖,验证了 RhD 抗原的胸腺依赖性抗原特性,建立了 D 抗原免疫刺激 T 细胞活化的模型,可以用于输血免疫的研究。

**关键词:** RhD 抗原;混合培养;树突状细胞;抗原负载

**中图分类号:** R457.1 R446.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-0978-03

**Establishment of D-antigen immunostimulating T cell activation model** Li Zhen<sup>1</sup>, XU Hua<sup>2</sup>, ZHOU Huayou<sup>3</sup>, ZHANG Yinze<sup>1</sup>. 1. Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518035, China; 2. Shanxi Blood Center; 3. Nanfang Hospital, Southern Medical University, Corresponding author: ZHANG Yinze

**Abstract: Objective** To understand the pathway of RhD antigen immunoreactive, and establish D antigen immunostimulatory activation model. **Methods** Different donors of RhD blood group were selected, and direct mixed culture with mononuclear cells. Another protocol was mixed with mononuclear cells cultured after using dendritic cells loaded D antigen. Flow cytometry was used to detect the activation of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells. **Results** Using DC cells from RhD-individuals to load D antigen could effectively activate the RhD-individual CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells, and direct mixing culture was invalid. **Conclusion** In this study, DC cells loaded with RhD antigen were successfully to induce the activation and proliferation of T cells from RhD-individuals. RhD antigens were confirmed to be thymus-dependent antigens, and the model of D antigen activation T cells was established which could be used in the study on transfusion immunity.

**Key words:** RhD antigen; mixed culture; dendritic cell (DC); load antigen

RhD 抗原是由多个亚单位组成的复合体,复合体核心由 2 个 RhD 蛋白和 2 个 Rh 相关糖蛋白(Rh-associated glycoprotein, RhAG)亚单位形成的四聚体组成。表达于红细胞的 RhD 蛋白是 IV 型跨膜蛋白,贯穿红细胞膜 12 次,形成 12 个跨膜区,经过 12 次跨膜 RhD 蛋白可在红细胞膜外形成 6 个短环状结构的胞外区,环状结构的长度差异较大,分别由 3-41 个氨基酸组成, RhD 抗原决定簇就位于这 6 个环状结构上<sup>[1,2]</sup>。RhD 抗原刺激 Rh 阴性个体产生抗体的机制十分复杂,为了了解 D 抗原免疫刺激途径,建立 D 抗原免疫刺激 T 细胞活化模型,我们开展了相关研究,现报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 于 2014 至 2016 年间,通过深圳市的稀有血型库选择 ABO、Rhccee、lewis (Le<sup>a-b+</sup>)、Duffy (Fy<sup>a+b-</sup>)、MNSs (M+N+, S-s+)、Kidd (Jk<sup>a+b+</sup>) 及 Diego (Di<sup>a-b+</sup>) 血型抗原均一致的 Rh 阳性和 Rh 阴性献血者,预约后采集血液。

**1.2 试剂** 人外周血淋巴细胞分离液(加拿大 Cedarlane, CL5020); RPMI 1640 培养基(Hyclone, SH30809.01B); CFSE (Thermo Fisher Scientific 公司, C34554); APC anti-human CD4 (Biolegend 公司, 317408); PE anti-human CD8a (Biolegend 公司, 300908); 单核细胞分选试剂盒(CD14 MicroBeads, 德国 Miltenyi Biotec, 130-050-201); Human GM-CSF (Peprotech 公司, AF-300-03-20); Human IL-4 (Peprotech 公司, AF-200-04-100); PHA (植物血凝素类多克隆刺激剂, Sigma 公司, L8902); LPS (脂多糖, sigma 公司, L4391-1MG)。

**1.3 仪器** Hera cell240 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(德国 Thermo 电力公司); Centrifuge 5810R 型台式离心机(德国 Eppendorf 公司); 磁力分离架(One Lambda, Inc.); 流式细胞仪(BD FACSCalibur, 美国 BD 公司)。

## 1.4 方法

**1.4.1 分离单个核细胞** 取新鲜 ACD 抗凝全血,用生理盐水 1:1 稀释后缓慢加到淋巴细胞分离液面上,800 g 离心 15 min。取白膜层,用 RPMI 1640 培养液洗 2 次,获得单个核细胞,调整细胞浓度为 5×10<sup>6</sup> 个/mL。

**1.4.2 制备红细胞悬液** 取新鲜抗凝全血 0.5 mL 加入试管中,1 000 g 离心 1 min,弃上清。用生理盐水以 1 000 g 离心 1 min,洗涤 5 次,制成浓缩红细胞。取浓缩红细胞加至

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.002  
\* 基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20140403092619633);◆ Rh 血型系统基础与临床研究关键技术攻关合作组;△ 通信作者:张印则(1969.10-),男,医学博士,主任技师,主要从事输血免疫学研究,电话:0755-25601250, Email: zyz200157@sohu.com

RPMI 1640 培养液中,调整细胞浓度为  $1 \times 10^7$  个/mL。

**1.4.3 直接混合培养** 阳性对照为 PHA ( $5 \mu\text{g/mL}$ ) + 单个核细胞 [RhD(-) 供者]; 阴性对照为 RBC [RhD(-) 供者] + 单个核细胞 [RhD(-) 供者]; 试验组为 RBC [RhD(+) 供者] + 单个核细胞 [RhD(-) 供者]。共培养前用 CFSE 染料标记单个核细胞,培养 5 d 后用 APC anti-human CD4 和 PE anti-human CD8a 标记培养后细胞,流式细胞仪检测。

**1.4.4 树突状细胞的诱导及 D 抗原的负载** 参照相关文献<sup>[3-6]</sup>,采用磁珠阳性分选 RhD(-) 供者的单核细胞,留出部分细胞冻存备用。分选出的单核细胞经 GM-CSF ( $50 \text{ ng/mL}$ ) + IL-4 ( $100 \text{ ng/mL}$ ) 刺激培养 6 d,隔天半量换培养液;试验组为把保存的 RhD(+) 红细胞经反复冻融 3 次, 60 Gy 的射线照射 10 min 后加入单核细胞培养液中,24 h 后,更换培养基为 GM-CSF ( $50 \text{ ng/mL}$ ) + IL-4 ( $100 \text{ ng/mL}$ ) + 脂多糖 (LPS,  $1 \mu\text{g/mL}$ ) 刺激培养 24 h,获得负载 RhD 抗原的成熟树突状细胞 (DC);d8 复苏 8 d 前冻存的单个核细胞,并与上述 DC 按 2:1 比例混合培养 5 d。以 RhD(+) 的单核细胞培养获得的 DC 为阳性对照,以 RhD(-) 供者的单核细胞培养获得的 DC 负载自体 RhD-红细胞作为阴性对照。共培养前用 CFSE 染料标记,用 APC 抗人 CD4 和 PE 抗人 CD8a 标记培养后细胞,流式细胞仪检测。

**2 结果**

**2.1 直接混合培养细胞的检测** 流式检测结果如图 1。直接混合培养的试验组 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的 CFSE 荧光强度分别为  $1189.00 \pm 87.40$  及  $1035.33 \pm 74.41$ , 低于阴性对照组 ( $1941.00 \pm 77.08$  vs.  $1437.67 \pm 98.56$ ,  $n=3$ ), 说明 RhD(+) 的 RBC 没有使 ABO 血型相同的 RhD-T 细胞活化增殖,提示活化过程可能需要抗原递呈细胞的参与。

**2.2 树突状细胞的抗原递呈** 流式检测结果如图 2。树突状细胞负载 RhD 抗原后,试验组 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的 CFSE 荧光强度分别增高至  $3162.33 \pm 111.96$  及  $4069.00 \pm 130.37$ , 远高于阴性对照组 ( $1597.00 \pm 90.71$  及  $1995.00 \pm 98.61$ ), 略高于阳性对照 ( $2887.00 \pm 66.46$ , 及  $3137.67 \pm 87.39$ ,  $n=3$ ), 说明 RhD(-) 的树突状细胞负载 D 抗原后可使其自身的 T 细胞活化增殖。

**3 讨论**

胸腺依赖性抗原活化 B 淋巴细胞产生抗体,除需要 B 细胞表面受体 (BCR) 识别抗原获得第一信号外,还需要 T 淋巴细胞 (Th2) 的协助提供共刺激信号 (CD40 配体、IL-4 等)<sup>[6]</sup>。RhD 抗原是典型的胸腺依赖性抗原,在免疫反应中需要 Th 细胞的协助,因此对 RhD 抗原的免疫应答中,T 细胞的活化增殖是必要的条件。CD4<sup>+</sup> T 细胞具有辅助细胞免疫和体液免疫应答的作用,CD8<sup>+</sup> T 细胞则是重要的效应细胞。就此,我们设计了 2 种试验方案。

第 1 种方案采用 RhD 阳性红细胞与来自 Rh 阴性个体的单个核细胞混合培养,结果未见到 T 细胞的活化,提示 D 抗原免疫应答的发生可能还需要抗原递呈细胞的参与。

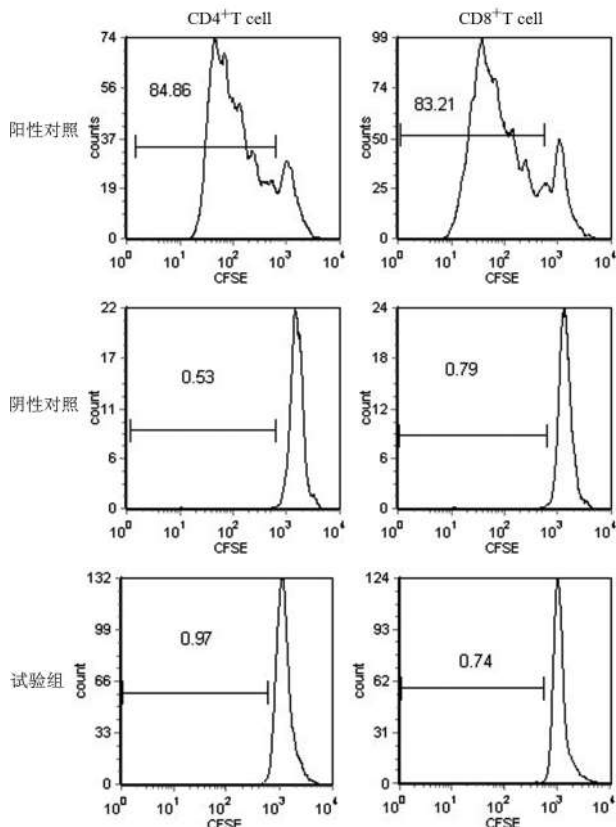


图 1 直接混合培养后 T 细胞活化检测结果

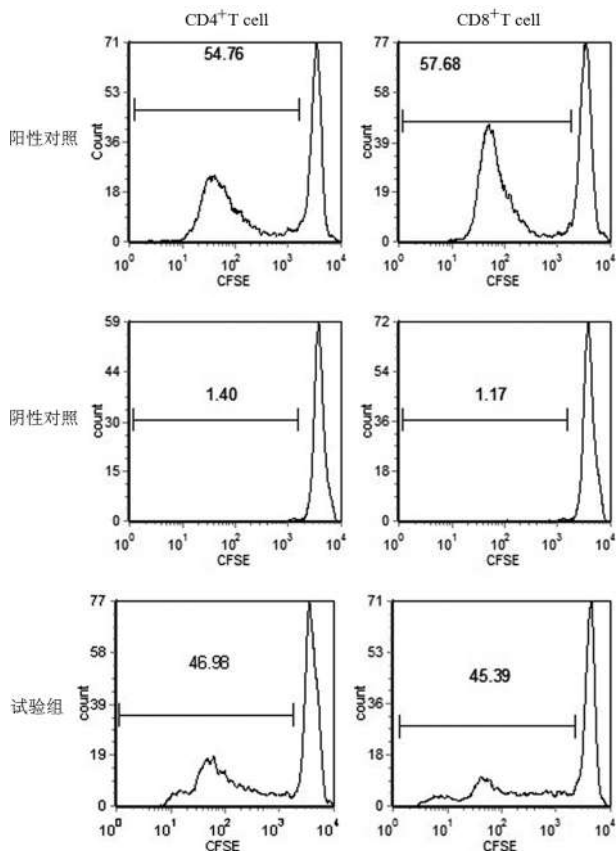


图 2 Rh-供者 DC 细胞负载 D 抗原后与 T 细胞混合培养结果  
树突状细胞 (dendritic cell, DC) 是体内功能最强的抗原提呈细胞,在体外特定的培养条件下,通过负载抗原可以有有效的致敏和活化 DC,促进其分化成熟,增强其免疫提呈功

能, 诱导机体产生特异性免疫应答<sup>[7-10]</sup>。于是在第 2 种试验方案中, 我们添加了 DC 细胞的诱导及负载 RhD 抗原的步骤, 随后与 Rh 阴性个体的单个核细胞混合培养, 检测发现成功诱导了 T 细胞的活化和增殖。

我们建立的 D 抗原免疫刺激 T 细胞活化的模型, 只需要灵活更换供者和受者的 D 抗原类型, 如“弱 D”或“部分 D”的单个核细胞与 RhD(+) 的红细胞, 即可观察到不同 D 抗原类型之间的免疫刺激是否发生。据此可以用于评估 D<sup>el</sup>型受者是否可以接受正常 D 抗原阳性的红细胞, 为是否可以改变 D<sup>el</sup>型受者的输血策略提供试验依据, 这也是我们下一步的研究内容。本模型也提供了 1 条新的途径用于输血免疫的研究和评估, 对于提高输血安全具有实用意义。

### 参 考 文 献

[1] Westhoff CM. The structure and function of the Rh antigen complex. *Semin Hematol*, 2007, 44(1):42-50.

[2] Gruswitz F, Chaudhary S, Ho JD, et al. Function of human Rh based on structure of RhCG at 2.1 Å. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(21):9638-9643.

[3] Avalos AM, Ploegh HL. Early BCR Events and Antigen Capture, Processing, and Loading on MHC Class II on B Cells. *Front Immunol*, 2014, 5:92. doi: 10.3389/fimmu.2014.00092. eCollection 2014.

[4] Chiang CL, Hagemann AR, Leskowitz R, et al. Day-4 myeloid dendritic cells pulsed with whole tumor lysate are highly immunogenic and elicit potent anti-tumor responses. *PloS one*, 2011, (6) 12:e28732.

[5] Cicchelerio L, Denies S, Devriendt B, et al. Can dendritic cells improve whole cancer cell vaccines based on immunogenically killed cancer cells? *Oncoimmunology*, 2015, (4) 12:e1048413.

[6] Vandenberg L, Garg AD, Verschuere T, et al. Irradiation of necrotic cancer cells, employed for pulsing dendritic cells (DCs), potentiates DC vaccine-induced antitumor immunity against high-grade glioma. *Oncoimmunology*, 2016, (5) 2:e1083669.

[7] Shin C, Han JA, Koh H, et al. CD8α(-) dendritic cells induce antigen-specific T follicular helper cells generating efficient humoral immune responses. *Cell Rep*, 2015, 11(12):1929-1940.

[8] O'Neill DW1, Adams S, Bhardwaj N. Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer. *Blood*, 2004, 104(8): 2235-46.

[9] 郭文菁, 杨美香, 祁澜, 等. 树突状细胞抗原负载方法探讨. *临床检验杂志*, 2007, 25(1):26-27.

[10] 徐东平. 树突状细胞的肿瘤抗原负载. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2003, 10(2):149-151.

(2017-05-31 收稿, 09-20 修回)

本文编辑:夏玲

## 《临床单病种输血》专著出版

2016 年 7 月 25 日国家标准化管理委员会批准 GB/T 13745-2009《学科分类与代码》国家标准第 2 号修改单, 自 2016 年 7 月 30 日起实施。GB/T13745-2009《学科分类与代码》国家标准第 2 号修改单: 一、在“320 临床医学”下增设二级学科 32032“输血医学”。二、在 32032“输血医学”下设立三级学科“基础输血学、献血服务学、输血技术学、临床输血学、输血管理学和输血医学其他学科”。中华医学会与中国医师协会输血分会积极响应国家对输血专业的逐步重视, 中华医学会临床输血学分会主任委员、中国医师协会输血科医师分会首任会长刘景汉教授牵头, 组织专家筹措与撰写专著《临床单病种输血》。

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

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

ssDNA 适配体阻断 Fc $\gamma$ R 介导巨噬细胞吞噬作用的研究\*李桢<sup>1</sup> 徐华<sup>2\*</sup> 周华友<sup>3\*</sup> 张印则<sup>1 $\Delta$</sup> 

(1.深圳市血液中心,广东深圳 518035; 2.陕西省血液中心; 3.南方医科大学南方医院)

**摘要:**目的 验证 ssDNA 适配体阻断 RhD 抗原-抗体的结合,进而阻断 Fc $\gamma$ R 介导巨噬细胞吞噬作用的能力。方法 0.2% 红细胞悬液分为三组:实验组(加入经 ssDNA 处理过的 RhD IgG 单克隆抗体)、空白对照(未处理的红细胞悬液)、阳性对照(加入未经 ssDNA 处理的 RhD IgG 单克隆抗体)。37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。洗涤后加入 1:500 的羊抗人 IgG Alexa Fluor 488 荧光抗体,37 $^{\circ}$ C, 30 min。洗涤后流式细胞仪检测。单核细胞单层试验收集 6 人份外周血单核细胞于 37 $^{\circ}$ C 混合培养 1h, 洗去未贴壁细胞。以 2:1 体积加入不含荧光抗体的三组红细胞,培养 1.5 h 后进行瑞氏-姬姆萨染色。镜下观察 500 个单核细胞,计算平均吞噬指数。结果 流式结果显示,阳性对照荧光强度为 3 166.33  $\pm$  172.55, 而实验组荧光强度仅为 307.00  $\pm$  45.18, 与空白对照组(287.33  $\pm$  30.50) 无显著性差异。MMA 实验结果显示,阳性对照组单核细胞平均吞噬指数(7.20  $\pm$  1.48)  $\gg$  Cut-off 值(0.35), 结果为阳性; 试验组的吞噬指数(0.07  $\pm$  0.12) 低于 Cut-off 值, 结果为阴性。结论 ssDNA 与 RhD 抗体结合后可使 RhD 抗体丧失与 RhD 抗原特异性结合的能力,以至于红细胞不会被致敏,为新生儿溶血病的治疗提供了新的思路。

**关键词:**核酸适配体; RhD 抗体; 单核细胞单层试验; 流式细胞术

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-0981-03

**ssDNA adapter blocking Fc gamma receptor mediated research macrophage phagocytosis** Li Zhen<sup>1</sup>, XU Hua<sup>2</sup>, ZHOU Huayou<sup>3</sup>, ZHANG Yinze<sup>1</sup>. 1. Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518035, China; 2. Shanxi Blood Center; 3. Nanfang Hospital, Southern Medical University. Corresponding author: ZHANG Yinze

**Abstract: Objective** To evaluate the ability of the ssDNA aptamer blocks the binding of RhD antigen-antibody, thereby blocking Fc gamma receptor mediated phagocytosis of macrophages. **Methods** 0.2% erythrocyte suspension was divided into three groups: RhD IgG monoclonal antibody treated with ssDNA was added to the test group; the untreated erythrocyte suspension was used as blank control; RhD IgG no treated with ssDNA was added to the positive control. Incubate at 37 $^{\circ}$ C for 30 min. After washing, 1:500 goat anti-human IgG Alexa Fluor 488 fluorescent antibody was added and incubated at 37 $^{\circ}$ C for 30 min, detected by Flow cytometry. In the monocyte monolayer assay, six human peripheral blood mononuclear cells were collected and mixcultured at 37 $^{\circ}$ C for 1h, then washed the non-adherent cells. Three groups of erythrocytes without fluorescent antibody were added at a volume of 2:1, cultured for 1.5 h, followed by Wright-Giemsa staining. Microscopic observation of 500 mononuclear cells, calculate the average phagocytic index. **Results** The flow intensity of the positive control was 3166.33  $\pm$  172.55, while the fluorescence intensity of the test group was only 307.00  $\pm$  45.18, which was not significantly different from that of the blank control group (287.33  $\pm$  30.50). The MMA show that monocyte phagocytic index of the positive control group (7.20  $\pm$  1.48) is far greater than the Cut-off value (0.35), the result is positive; phagocytic index of test group (0.07  $\pm$  0.12) is lower than the Cut-off value, the results were negative. **Conclusion** The combination of ssDNA and RhD antibody can make the RhD antibody lose the ability to bind with RhD antigen, so that RBCs can not be sensitized, which provides a new way for the treatment of HDFN.

**Key words:** ssDNA aptamer; RhD antibody; monocyte monolayer assay; flow cytometry

Rh 血型抗原具有很强的免疫原性,其中 RhD 抗原免疫原性最强<sup>[1]</sup>。约 1% RhD 阴性母亲妊娠 RhD 阳性胎儿时会产生 RhD 抗体,并引起新生儿溶血病(hemolytic disease of the fetus and newborn, HDFN)<sup>[2-3]</sup>。导致 HDFN 发生的原因是 RhD 阳性红细胞被抗-D 致敏后,单核细胞通过 Fc $\gamma$  受体(Fc

gamma receptor, Fc $\gamma$ R) 与抗-D 结晶片段(fragment crystallizable, Fc) 结合并吞噬掉致敏红细胞,导致 HDFN 患者表现出相应的临床症状<sup>[4-5]</sup>。单核细胞单层试验(monocyte monolayer assay, MMA) 可预测新生儿溶血病发生的可能性,并在临床输血中具有指导作用<sup>[6-7]</sup>。我们在前期研究中获得了具有中和抗-D 生物活性的单链核酸适配体(single-stranded DNA aptamer)<sup>[8]</sup>, 本文通过流式细胞术分析抗-D 经 ssDNA 处理后对 RhD 阳性红细胞的致敏情况,同时采用 MMA 来评价单链核酸适配体阻断单核吞噬细胞系统的免疫吞噬作用,探讨单链核酸适配体用于 HDNF 治疗的可能性,现报告

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.003

\* 基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20140403092619633);  $\blacklozenge$  Rh 血型系统基础与临床研究关键技术攻关合作组;  $\Delta$  通信作者:张印则(1969.10-),男,医学博士,主任技师,主要从事输血免疫学研究,电话:0755-25601250, Email: zyz200157@sohu-com

如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 实验材料** 随机选取血清学盐水法室温条件下凝集强度为“4+”的 RhD 阳性无偿献血者 EDTA 抗凝全血(经单位伦理学委员会批准)。

**1.2 ssDNA 适配体与试剂** 根据文献[8]筛选得到的全长为 81nt 的 ssDNA 适配体 1、2,其两侧固定碱基序列均为 21nt,中间可变序列为 39nt。固定序列为:5'-AGAGACGGA CACAGGATGAGC(可变序列)CCTTCCCAAGACAGCATCCA-3', ssDNA 适配体 1、2 的可变序列分别为:5'-GGTG-CAGGGGGGGCGGAGAAGAGGTTGAGGGGAGCGGGT-3', 5'-GGCGCAGGGGGGGCGGAGAAGAGGTTGAGGGGAGCGGGT-3'。核酸适配体由上海生工生物工程股份有限公司合成。羊抗人 IgG Alexa Fluor 488 荧光抗体(批号:1495793)购于美国 Life technologies 公司;RhD IgG 型单克隆抗体(批号:20140306,上海血液生物医药有限责任公司);人全血单个核细胞分离液(批号:20131127,天津市灏洋生物制品科技有限责任公司);RPMI 1640(批号:AAF204169,美国 Corning 公司);瑞氏-姬姆萨染液(批号:415093,珠海贝索生物技术有限公司)。

**1.3 仪器与耗材** 淋巴/单核细胞分离管(批号:E14123E6,德国 Greiner 公司);腔室玻片(批号:H2861545343,美国 Thermo Fischer Scientific 公司);显微镜(型号:Olympus BX-43,日本奥林巴斯公司);声波聚焦流式细胞仪(型号:Attune NxT auto sampler,美国 life technologies 公司);自动细胞计数仪(型号:TC20 Automated Cell Counter,新加坡 BIO-RAD 公司);CO<sub>2</sub> 培养箱(Hera cell240,德国 Thermo 电子公司);台式离心机(型号:Centrifuge 5810R,德国 Eppendorf 公司);血清学离心机(型号:KA-2200,日本 Kubota 公司),空气浴摇床(型号:SI50,英国 BIBBY 公司)。

### 1.4 方 法

**1.4.1 红细胞悬液的制备** 新鲜 EDTA 抗凝全血,1 000 g 离心 1 min。弃上清,用生理盐水以 1 000 g 离心 1 min 洗涤 5 次,制成压积红细胞。取压积红细胞 2 μL 加至 1 mL 生理盐水中,即为 0.2%红细胞悬液。

**1.4.2 流式细胞术检测** ssDNA 适配体阻断抗原抗体结合的能力 在 100 μL 效价为 128 的 RhD IgG 型单克隆抗体中加入 ssDNA 适配体 1 和适配体 2 各 50 pmol,37℃ 孵育 30 min。加入 100 μL 0.2%红细胞悬液,37℃ 孵育 30 min。生理盐水洗涤 3 次,加入 100 μL 1:500 的羊抗人 IgG Alexa Fluor 488 荧光抗体,37℃ 孵育 30 min。生理盐水洗涤 3 次,上机检测。同时设置空白对照(红细胞悬液中不加 ssDNA 及 RhD 抗体)与阳性对照(红细胞悬液中加入 RhD IgG 型单克隆抗体,并以生理盐水代替 ssDNA 适配体)。

**1.4.3 单核细胞单层试验** 依据文献<sup>[9-10]</sup>的报道,采用密度梯度离心法提取 6 人份外周血单核细胞,用 RPMI 1640 洗涤 1 次,将 6 份单核细胞混合,并调节细胞浓度至 5×10<sup>6</sup>个细胞/mL。在腔室玻片中加入 50 μL 混合单核细胞,于 CO<sub>2</sub> 培养箱中 37℃ 孵育 60 min,使细胞贴壁。用生理盐水轻轻冲洗

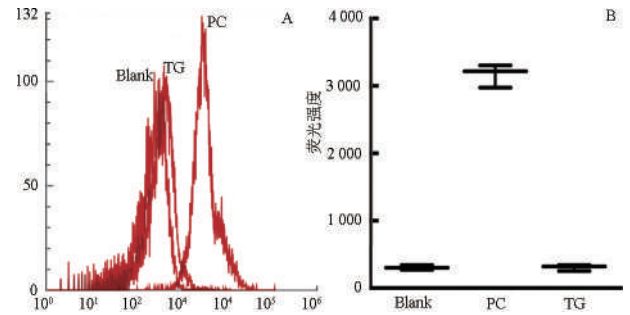
掉未贴壁细胞,以 2:1 体积加入如步骤 1.4.2 处理的 3 组红细胞(不加荧光抗体),于 CO<sub>2</sub> 培养箱中 37℃ 孵育 90 min。玻片经生理盐水洗涤 3 次后,进行瑞氏-姬姆萨染色。显微镜下观察 500 个单核细胞,按公式计算单核细胞平均吞噬指数。Cut-off 值为阴性对照平均吞噬指数+3SD<sup>[11]</sup>。

公式:单核细胞吞噬指数=粘附及吞噬红细胞的单核细胞数/总单核细胞观察数×100

**1.5 统计学分析** 计量数据以“均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )”表示。使用 IBM SPSS Statistics 22 软件,采用 F 检验比较组间差异是否显著,P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 ssDNA 适配体阻断抗原抗体结合能力的检测** 如图 1,流式结果显示,空白对照、阳性对照及试验组荧光强度分别为 287.33±30.50、3 166.33±172.55 和 307.00±45.18,n=3。F 检验组间差异显著(F=748.711,p<0.001)。阳性对照与空白对照及试验组间比较差异显著(p 值均<0.05),但试验组与空白对照组间比较,差异无统计学意义(p=0.942)。提示核酸适配体 1、2 联合使用,阻断了 RhD 抗原与 RhD IgG 抗体的结合。



A: 各组间流式检测荧光强度差异比较;B: 各组间流式检测荧光强度均值比较;Blank: 空白对照;TG: 试验组;PC: 阳性对照组

图 1 各组间流式检测荧光强度差异比较

**2.2 单核细胞单层试验** 根据镜下观察计数,按公式 1 计算可得:空白对照组单核细胞平均吞噬指数为 0.05±0.10(n=4),阳性对照组及试验组单核细胞平均吞噬指数分别为 7.20±1.48 和 0.07±0.12(n=3)(图 2)。根据 Cut-off 值为阴性对照平均吞噬指数+3SD,得 Cut-off 值为 0.35,阳性对照组单核细胞平均吞噬指数>>Cut-off 值,结果为阳性;试验组的吞噬指数低于 Cut-off 值,结果为阴性。

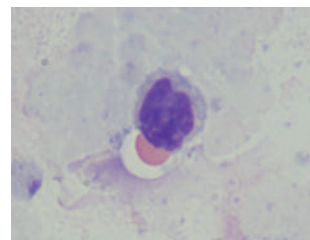


图 2 粘附并吞噬红细胞的单核细胞

## 3 讨 论

核酸适配体是短链寡核苷酸分子,可与目标靶分子特异

性结合,可通过指数富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选获得<sup>[12]</sup>。与抗体相比,其不仅亲和力和特异性高,而且还具有无毒性、无免疫原性等优点<sup>[13]</sup>。我们的前期研究获得了具有中和抗-D 生物活性的单链核酸适配体(ssDNA)。我们的研究提示,单一 ssDNA 适配体与抗-D 分子结合所形成的阻断抗原-抗体结合的空间位阻效应小于两个适配体联合使用的位阻效应<sup>[8]</sup>。因此本次研究中联合使用了适配体 1 和 2。

流式细胞术检测结果显示,未经 ssDNA 适配体处理的阳性对照致敏红细胞荧光强度为  $3\ 166.33 \pm 172.55$ ,而核酸适配体 1 和 2 联合与 RhD 抗体孵育后,荧光强度可降至  $307.00 \pm 45.18$ ,与空白对照组 ( $287.33 \pm 30.50$ ) 无显著性差异(图 1)。表明 ssDNA 适配体与 RhD 抗体结合后可使 RhD 抗体丧失与 RhD 抗原特异性结合的能力,即红细胞不会被 ssDNA 适配体处理过的抗-D 致敏。

功能细胞学试验是一类评估抗体临床意义的试验,通过体外观察单核细胞对抗体致敏红细胞的吞噬情况,预判该抗体在机体内可能引发免疫反应的强弱程度<sup>[14]</sup>。巨噬细胞具有较强的吞噬活性,表达于巨噬细胞表面的 Fc $\gamma$ R 识别并结合致敏红细胞上抗-D 的 Fc 后即可发挥其免疫吞噬功能。在 MMA 试验中镜下可见巨噬细胞黏附及吞噬的红细胞,故 MMA 试验被用于预测同种抗体致敏红细胞引起的急性溶血性输血反应<sup>[15]</sup>。本文 MMA 试验结果显示,试验组平均吞噬指数 ( $0.07 \pm 0.12$ )  $\ll$  阳性对照组 ( $7.20 \pm 1.48$ ),且  $<$  Cut-off 值 ( $0.35$ ),说明经 ssDNA 适配体处理的 RhD 抗体无致敏红细胞的能力。

综合分析流式细胞术及 MMA 试验结果可以发现,ssDNA 适配体的作用目标是 RhD 抗体,与 ssDNA 适配体结合后的 RhD 抗体丧失了与 RhD 抗原结合的能力,使巨噬细胞表面 Fc $\gamma$ R 识别不到因与 RhD 抗原特异性结合而发生构象改变的 RhD 抗体 Fc 段,导致试验组 MMA 试验结果呈阴性反应。本文研究结果提示特异性 ssDNA 适配体可使 RhD 抗体失去抗体调理作用,使用 ssDNA 适配体处理 RhD 抗体可有效预防和治疗溶血性输血反应,为 HDFN 的治疗提供了新的思路。

### 参 考 文 献

[1] Chou ST, Jackson T, Vege S, et al. High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors. *Blood*, 2013,122(6):1062-1071.

[2] Izetbegovic S. Occurrence of ABO And RhD Incompatibility with Rh Negative Mothers. *Mater Sociomed*, 2013,25(4):255-258.

[3] de Haas M, Thurik FF, Koelwijjn JM, et al. Haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang*, 2015,109(2):99-113.

[4] Armour KL, Clark MR, Hadley AG, et al. Recombinant human IgG molecules lacking Fc $\gamma$  receptor I binding and monocyte triggering activities. *Eur J Immunol*, 1999,29(8):2613-2624.

[5] Flesch BK, Vöge K, Henrichs T, et al. Fc $\gamma$  receptor-mediated immune phagocytosis depends on the class of Fc $\gamma$  receptor and on the immunoglobulin-coated target cell. *Vox Sang*, 2001,81(2):128-133.

[6] 毕晓琳,潘凌子,叶萍,等. 单核细胞单层试验预判 ABO 新生儿溶血病的应用. *中国输血杂志*, 2009, 22(9):727-728.

[7] Noumsi GT, Billingsley KL, Moulds JM. Successful transfusion of antigen positive blood to alloimmunised patients using a monocyte monolayer assay. *Transfus Med*, 2015,25(2):92-100.

[8] 庄乃保,吴凡,张印则,等. RhD 抗体 ssDNA 适配体的筛选与鉴定. *中国输血杂志*, 2016,29(6):592-595.

[9] Garner SF, Gorick BD, Lai WY, et al. Prediction of the severity of haemolytic disease of the newborn. Quantitative IgG anti-D subclass determinations explain the correlation with functional assay results. *Vox Sang*, 1995,68(3):169-176.

[10] Tong TN, Burke-Murphy E, Sakac D, et al. Optimal conditions for the performance of a monocyte monolayer assay. *Transfusion*, 2016,56(11):2680-2690.

[11] Arndt PA, Garratty G. A retrospective analysis of the value of monocyte monolayer assay results for predicting the clinical significance of blood group alloantibodies. *Transfusion*, 2004, 44(9):1273-1281.

[12] Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 1990, 346: 818-822.

[13] PEI Xiaoyu, PEI Xiaoyu, JUN ZhangPei. Clinical applications of nucleic acid aptamers in Cancer. *Molecular and Clinical Oncology*, 2014, 2(3):341-348.

[14] Leger RM. In vitro cellular assays and other approaches used to predict the clinical significance of red cell alloantibodies; a review. *Immunohematol*, 2002, 18(3):65-70.

[15] Kruspe AS, Katsman Y, Sakac D, et al. Reduction of disulfide bonds within anti-D results in enhanced Fc $\gamma$  receptor blockade. *Transfusion*, 2009,49(5):928-936.

(2017-05-31 收稿,2017-08-24 修回)

本文编辑:李弘武

欢 迎 赐 稿

欢 迎 订 阅



· 论著 ·

# 用于 RhD 抗原流式细胞检测的固定透化方法评价\*

李桢<sup>1</sup> 徐华<sup>2◆</sup> 周华友<sup>3◆</sup> 张印则<sup>1◆△</sup>

(1.深圳市血液中心,广东 深圳 518035; 2.陕西省血液中心; 3.南方医科大学 南方医院)

**摘要:目的** 寻找具有回收率高且适于 RhD 抗原荧光检测的红细胞固定透化方法。**方法** 分别采用 4% 甲醛、4% 多聚甲醛、2% 戊二醛对红细胞进行固定,同时采用 4% 甲醛-Triton X-100、4% 多聚甲醛-Triton X-100、2% 戊二醛-Triton X-100 对红细胞进行透化固定,未处理红细胞作为对照。冰上固定 20 min,洗涤后计算红细胞回收率。在各组红细胞中加入 1:128 的 RhD IgG 单克隆抗体,同时设组内空白对照,37℃ 孵育 30 min。PBS 洗涤 3 次后加入 1:200 的 FITC 荧光抗体,37℃ 孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次后流式细胞仪检测。**结果** 2% 戊二醛及 2% 戊二醛-Triton X-100 2 组的回收率分别为 72.83% 与 72.80%,高于对照组(58.32%),甲醛及多聚甲醛 2 组的回收率在 4.00% 左右,远低于对照组。流式检测结果显示,不同固定剂的荧光本底均高于未处理红细胞。与对照组相比甲醛与多聚甲醛会减弱 RhD 抗原荧光强度,而戊二醛不影响 RhD 荧光强度,戊二醛-Triton X-100 可增强 RhD 抗原检测的灵敏度。**结论** 2% 戊二醛-Triton X-100 固定透化法不仅可得到较高的红细胞回收率,且 RhD 荧光检测的灵敏度也得到提升,是荧光检测 RhD 抗原较理想的固定透化方法。

**关键词:** 甲醛;多聚甲醛;戊二醛;固定;透化;RhD 抗原

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-0984-03

**Evaluation of RBC fixation and permeabilization methods for RhD fluorescence detection** LI Zhen<sup>1</sup>, XU Hua<sup>2</sup>, ZHOU Huayou<sup>3</sup>, ZHANG Yinze<sup>1</sup>. 1. Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518035, China; 2. Shanxi Blood Center; 3. Nanfang Hospital, Southern Medical University. *Corresponding author: ZHANG Yinze*

**Abstract: Objective** To find a method for RBC fixation and permeabilization with high recovery rate and suitable for RhD antigen fluorescence detection. **Methods** 4% formaldehyde, 4% paraformaldehyde and 2% glutaraldehyde were used to fix RBCs, and 4% formaldehyde-Triton X-100, 4% paraformaldehyde-Triton X-100, 2% glutaraldehyde-Triton X-100 were used to fix and permeabilize RBCs, untreated RBCs as a control. Fixed for 20min on ice, washing, calculate cell recovery rate. 1:128 RhD IgG monoclonal antibody was added to each group of RBCs and incubated at 37℃ for 30 min. The blank control group was set at the same time. After washing with PBS for three times, 1:200 FITC was added, incubated at 37℃ for 30 min, washed for three times with PBS, and then detected by flow cytometry. **Results** The recoveries of 2% glutaraldehyde and 2% glutaraldehyde-Triton X-100 were 72.83% and 72.80%, respectively, which were higher than the control group (58.32%). The recoveries of formaldehyde and paraformaldehyde were 4.00% or so, much lower than the control group. Flow cytometry showed that the fluorescence background of different fixatives was higher than untreated RBCs. Compared with the control group, formaldehyde and paraformaldehyde weakened the fluorescence intensity of RhD antigen, 2% glutaraldehyde did not affect the fluorescence intensity of RhD, while 2% glutaraldehyde-Triton X-100 could enhance the sensitivity of RhD antigen detection. **Conclusion** The 2% glutaraldehyde-Triton X-100 fixation and permeabilization method not only can obtain higher erythrocyte recovery rate, but also improve the sensitivity of RhD fluorescence detection, which is the ideal method for fluorescence detection of RhD antigen.

**Key words:** formaldehyde; paraformaldehyde; glutaraldehyde; fixation; permeabilization; RhD antigen; RBC (red blood cell)

细胞固定与透化是细胞形态、免疫组织化学等研究的基础试验方法。细胞固定可起到中止细胞生化反应,维持细胞形态、细胞表面及胞质内蛋白质与核酸结构的作用<sup>[1-2]</sup>。细胞透化可在不破坏细胞膜及胞内有机结构的情况下,使细胞

膜通透性增加,达到小分子物质及一些大分子物质自由进出细胞的作用<sup>[3]</sup>。细胞固定与透化技术多用于有核细胞,无细胞核的红细胞是输血医学研究领域中最常使用的试验材料,目前对红细胞的固定与透化技术研究较少。我们比较了常用于细胞固定与透化的试验方法,旨在寻找 1 种较稳定的红细胞回收率高且适于荧光检测的固定透化方法,现报告如下。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.004

\* 基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20140403092619633);◆ Rh 血型系统基础与临床研究关键技术攻关合作组;△ 通信作者:张印则(1969.10-),男,医学博士,主任技师,主要从事输血免疫学研究,电话:0755-25601250,Email:zyz200157@sohu.com

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 随机选取血清学盐水法室温条件下凝集强度为“4+”的 RhD 阳性无偿献血者 EDTA 抗凝全血(经单位伦理学委员会批准)。

**1.2 试剂** PBS(pH 7.2, 0.0067 mol/L, 批号:AZE189217, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 甲醛(批号:3137C118)、多聚甲醛(批号:1706C314)及戊二醛(批号:3597C487) 购于美国 Amrescon 公司, Triton X-100(批号:104355, 美国 Promega 公司), FITC 标记羊抗人 F(ab')<sub>2</sub> 片段荧光抗体(批号:125089, 美国 Jackson 公司), RhD IgG 单克隆抗体(批号:20160725, 上海血液生物有限责任公司)。

**1.3 仪器** 流式细胞仪(型号:Attune NxT auto sampler, 美国 life technologies 公司), 自动细胞计数仪(型号:TC20 Automated Cell Counter, 新加坡 BIO-RAD 公司), 台式离心机(型号:Centrifuge 5810R, 德国 Eppendorf 公司), 血清学离心机(型号:KA-2200, 日本 Kubota 公司), 空气浴摇床(型号:SI50, 英国 BIBBY 公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 红细胞悬液制备** 取新鲜 EDTA 抗凝全血 0.5 mL 加入试管中, 1 000 g 离心 1 min, 弃上清。用预冷的 PBS 以 1 000 g 离心 1 min, 洗涤 5 次, 制成压积红细胞。取压积红细胞加至 PBS 中, 调整细胞浓度约为  $1 \times 10^7$  个/mL(细胞计数仪实际检测值为  $1.45 \times 10^7$  个/mL)。

**1.4.2 固定液制备** 4%中性甲醛:取 5 mL 浓度为 37%的甲醛, 加至 41.25 mL PBS 中, 混匀; 4%多聚甲醛:称取 2 g 多聚甲醛加入 50 mL PBS 中, 37°C, 48 h 充分溶解; 2%戊二醛:取 2 mL 浓度为 50%的戊二醛, 加至 48 mL PBS 中, 混匀; 10%Triton X-100:取 5 mL Triton X-100, 加至 45 mL PBS 中, 置 37°C 水浴中 2 h, 使其充分溶解。

**1.4.3 红细胞固定** 对文献[4-7]报道的红细胞固定方法进行适当调整, 分别采用 4%甲醛、4%多聚甲醛、2%戊二醛对红细胞进行固定, 同时采用 4%甲醛-Triton X-100、4%多聚甲醛-Triton X-100、2%戊二醛-Triton X-100 对红细胞进行透化固定。具体操作如下:各试验组在红细胞悬液中加入等体积的固定液, 对红细胞进行透化固定时再加入 1/10 总反应体积的 10% Triton X-100(Triton X-100 终浓度为 1%), 冰上固定 20 min。同时设置对照组(红细胞不进行固定与透化)。

**1.4.4 红细胞计数** 固定完成后, 用 PBS 以 1 000 g 离心 2 min 洗涤 5 次, 用自动细胞计数仪进行计数。回收率=细胞数均值( $n=5$ )/ $1.45 \times 10^7 \times 100\%$ 。

**1.4.5 流式检测** 在各组红细胞中加入 100  $\mu$ L 用 PBS 128 倍稀释的 RhD IgG 单克隆抗体, 同时各组内设空白对照(用 PBS 代替 RhD IgG 单克隆抗体, 其它操作与各试验组相同), 37°C 摇摆孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次。加入 100  $\mu$ L 用 PBS 200 倍稀释的 FITC 标记羊抗人 F(ab')<sub>2</sub> 片段荧光抗体, 37°C 摇摆孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次。加入 200  $\mu$ L PBS, 上机检测。在 FSC、SSC 的二维散点图中圈出红细胞区, FITC 的激发波长为 488 nm, 发射波长为 525 nm, 每个样品检测 10 000 个细胞。

**1.5 统计学分析** 对照组及试验组荧光强度减去相应空白对照荧光强度所得数据用于结果分析。计量数据以“均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )”表示。使用 IBM SPSS Statistics 22 软件, 采用 *F* 检验比较组间差异是否显著,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 红细胞回收率** 不同固定方法的红细胞回收率差异显著, 具有统计学意义( $F=341.70, P < 0.001$ ), 见表 1。使用戊二醛及戊二醛-Triton X-100 法固定红细胞, 回收率分别为 72.83%与 72.80%, 高于对照组(58.32%), 2 者差异无统计学意义( $P=1.00$ ), 提示红细胞回收率与是否使用 Triton X-100 无关。使用甲醛及多聚甲醛固定红细胞, 2 组回收率相似, 均在 4.00%左右, 远低于对照组。联合使用 Triton X-100 后红细胞回收率均为 0.00%, 提示二者对红细胞膜破坏严重, Triton X-100 加剧了膜的破坏。

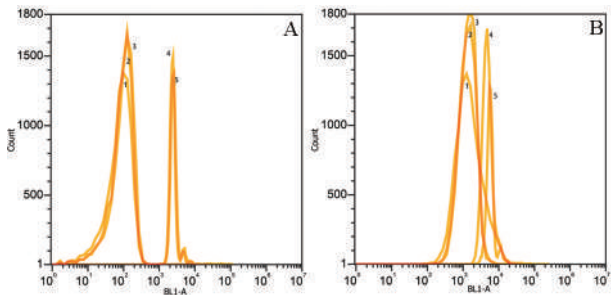
表 1 红细胞固定洗涤后的回收率 ( $n=5$ )

固定方法	洗涤后红细胞数(个/mL)	回收率(%)
4%中性甲醛	$(5.62 \pm 0.54) \times 10^5$	3.88
4%多聚甲醛	$(5.83 \pm 0.81) \times 10^5$	4.02
2%戊二醛	$(1.06 \pm 0.04) \times 10^7$	72.83
4%中性甲醛-Triton X-100	0.00	0.00
4%多聚甲醛-Triton X-100	0.00	0.00
2%戊二醛-Triton X-100	$(1.06 \pm 0.08) \times 10^7$	72.80
对照组	$(8.46 \pm 1.41) \times 10^6$	58.32

**2.2 RhD 抗原荧光强度** 流式细胞术检测结果显示, 对照组、4%中性甲醛、4%多聚甲醛、2%戊二醛、2%戊二醛-Triton X-100 各组荧光本底分别为  $101.40 \pm 2.51$ 、 $121.60 \pm 1.14$ 、 $112.20 \pm 3.27$ 、 $2592.40 \pm 23.50$ 、 $2714.80 \pm 111.22$ , 差异显著, 具有统计学意义( $F=3748.61, P < 0.01$ )。各固定组荧光本底均高于对照组荧光本底( $P$ 值均 $< 0.05$ ), 但 2%戊二醛固定组与 2%戊二醛-Triton X-100 固定组荧光本底差异无统计学意义( $P=0.345$ )(图 1A)。

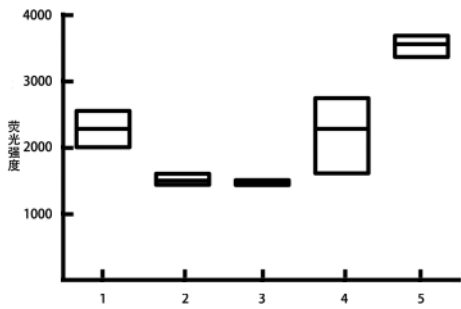
对照组、4%中性甲醛、4%多聚甲醛、2%戊二醛、2%戊二醛-Triton X-100 各组与 RhD IgG 单克隆抗体结合后, 经荧光二抗检测各组荧光强度分别为  $2380.40 \pm 254.60$ 、 $1621.20 \pm 68.38$ 、 $1580.20 \pm 26.62$ 、 $5271.20 \pm 50.84$ 、 $6270.20 \pm 61.36$ , 差异显著, 具有统计学意义( $F=1571.75, P < 0.01$ ), 但 4%中性甲醛与 4%多聚甲醛固定组差异无统计学意义( $P=0.866$ ), 其它各组间差异显著, 具有统计学意义( $P$ 值均 $< 0.05$ )。

各试验组荧光强度减去本底荧光强度后, 对照组、4%中性甲醛、4%多聚甲醛、2%戊二醛、2%戊二醛-Triton X-100 各组荧光强度分别为  $2279.00 \pm 253.10$ 、 $1499.60 \pm 68.71$ 、 $1468.00 \pm 27.25$ 、 $2478.80 \pm 430.01$ 、 $3555.40 \pm 140.21$ , 差异显著, 具有统计学意义( $F=64.75, P < 0.01$ )。组间比较显示, 对照组与 2%戊二醛固定组差异无统计学意义( $P=0.976$ ), 4%中性甲醛与 4%多聚甲醛固定组差异无统计学意义( $P=0.962$ ), 其它各组间差异显著, 具有统计学意义( $P$ 值均 $< 0.05$ )(图 1B, 图 2)。



A: 各组荧光本底比较 B: 各试验组荧光强度减去本底荧光强度 1: 对照组; 2: 4% 中性甲醛固定组; 3: 4% 多聚甲醛固定组; 4: 2% 戊二醛固定组; 5: 2% 戊二醛-Triton X-100 固定组

图 1 各组红细胞 RhD 抗原的流式细胞检测结果



1: 对照组; 2: 4% 中性甲醛固定组; 3: 4% 多聚甲醛固定组; 4: 2% 戊二醛固定组; 5: 2% 戊二醛-Triton X-100 固定组

图 2 各组样品荧光强度减去相应荧光本底后荧光强度均值

### 3 讨论

甲醛、多聚甲醛(甲醛的聚合物, 相对分子质量为 90.08 Da, 是甲醛的 3 倍)及戊二醛(相对分子质量为 100.12 Da)均可快速且不可逆地与氨基反应, 是常用的细胞固定剂。甲醛与多聚甲醛易溶于脂类物质。细胞膜由脂质双分子层构成基本骨架。由于甲醛分子量较小故易穿过细胞膜, 但对细胞会造成一定损伤<sup>[8-9]</sup>。戊二醛穿透细胞膜的能力弱于甲醛与多聚甲醛, 渗透速度较慢。红细胞回收率试验结果显示, 红细胞经不同固定方法处理后对多次洗涤的耐受程度不同。经 4% 甲醛或 4% 多聚甲醛固定的红细胞用 PBS 洗涤 5 次后, 其回收率均在 4.00% 左右, 远低于对照组(58.32%)。2% 戊二醛固定法的回收率高于对照组, 可达 72.83%。提示甲醛与多聚甲醛对红细胞膜具有较强的破坏作用, 而戊二醛对红细胞有较好的固定作用。对红细胞同时进行固定与透化, 4% 甲醛-Triton X-100 与 4% 多聚甲醛-Triton X-100 组回收率均为 0.00%, 而 2% 戊二醛-Triton X-100 试验组的红细胞回收率为 72.80%, 高于对照组(表 1)。Triton X-100(聚乙二醇辛基苯基醚)是非离子型表面活性剂, 可溶解细胞膜脂质成分提高膜的通透性。使用对红细胞破坏性较强的甲醛与多聚甲醛固定红细胞后, 再经具有破坏膜结构的 Triton X-100 进行透化, 会使红细胞完全破裂。

不同固定剂对红细胞荧光本底影响较大<sup>[10]</sup>。红细胞固定前后 RhD 抗原荧光强度检测结果显示, 经不同固定剂处

理后, 荧光本底均高于未处理红细胞, 且以戊二醛固定法最为显著, 荧光本底升高 25 (2 592/101) 倍以上, 而戊二醛-Triton X-100 的固定透化法处理红细胞后, 荧光本底升高约 27 (2 714/101) 倍。提示固定剂与透化剂均会使红细胞荧光本底升高。各组样品荧光强度减去相应荧光本底后发现, 与对照组相比甲醛与多聚甲醛会减弱 RhD 抗原荧光强度, 而戊二醛不影响 RhD 荧光强度(与对照组相比差异无统计学意义), 但戊二醛-Triton X-100 固定透化法处理红细胞后, RhD 荧光强度明显高于对照组, 提示戊二醛-Triton X-100 固定透化法可增强 RhD 抗原检测的灵敏度(图 3)。

综上所述, 细胞固定透化方法应针对抗原特点来进行选择, 以得到灵敏且准确的试验结果。戊二醛-Triton X-100 固定透化法不仅可得到较高的红细胞回收率, 且 RhD 荧光检测的灵敏度也可得到提升, 是荧光检测 RhD 抗原较理想的固定透化方法。

### 参考文献

- [1] 王成彬, 黄振国, 叶伟基, 等. 细胞固定技术在两种细胞共同培养研究中的应用. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1129-1132.
- [2] Summers RJ, Meeks SL, Healey JF, et al. Factor VIII A3 domain substitution N1922S results in hemophilia A due to domain-specific misfolding and hyposecretion of functional protein. Blood, 2011, 117(11): 3190-3198.
- [3] 周帅, 王凤山. 细胞透性化技术及其应用. 生命的化学, 2008, 28(4): 481-484.
- [4] Kokkinopoulos D, Perez S, Papamichail M. A simple hemagglutination method for the detection of cell surface antigens. Journal of Immunological Methods, 1989, 119(1): 59-63.
- [5] Thelwall PE, Shepherd TM, Stanisz GJ, et al. Effects of temperature and aldehyde fixation on tissue water diffusion properties, studied in an erythrocyte ghost tissue model. Magn Reson Med, 2006, 56(2): 282-289.
- [6] Chen JC, Bigelow N, Davis BH. Proposed flow cytometric reference method for the determination of erythroid F-cell counts. Cytometry, 2000, 42(4): 239-246.
- [7] Bailey GB, Day DB, Gasque JW. Rapid polymerization of Entamoeba histolytica actin induced by interaction with target cells. J Exp Med, 1985, 162(2): 546-558.
- [8] Wiśniewska A, Draus J, Subczynski WK. Is a fluid-mosaic model of biological membranes fully relevant? Studies on lipid organization in model and biological membranes. Cell Mol Biol Lett, 2003, 8(1): 147-159.
- [9] Guo X, Liu J, Xiao B. Evaluation of the damage of cell wall and cell membrane for various extracellular polymeric substance extractions of activated sludge. J Biotechnol, 2014, 188: 130-135.
- [10] 李冉, 杨文理, 覃扬, 等. 不同固定方法对细胞免疫荧光染色结果的影响. 西部医学, 2013, 25(11): 1608-1610.

(2017-05-31 收稿, 08-20 修回)

本文编辑: 闻欣

# 临床输血患者 Rh 血型表型分布及罕见 DCCEE 表型的研究

许亚莉<sup>1,2</sup> 吴继博<sup>2</sup> 徐华<sup>3</sup> 左琴琴<sup>3</sup> 王宝燕<sup>2</sup> 王军阳<sup>1Δ</sup>

(1.西安交通大学 医学部病原生物学与免疫学系,陕西 西安 710061;2.西安交通大学第一附属医院;3.陕西省血液中心)

**摘要:目的** 探讨临床输血患者 Rh 血型表型的分布特征。**方法** 用抗-D、抗-C、抗-c、抗-E 及抗-e 的试剂分别与患者的血液标本进行凝集反应,明确 Rh 血型表型分布特点。**结果** 18 114 例患者中,其中 RhD 阳性 18 010 例, RhD 阴性 104 例。各表型的构成情况为:DCcEe 7427 例(占 41.00%),DCcEe 表型 6 634 例(占 36.62%),DCcEe 表型 1701 例(占 9.40%),DccEE 表型 1 390 例(占 7.67%),DccEe 表型 644 例(占 3.56%),DCcEe 表型 108 例(占 0.6%),Dccee 表型 86 例(占 0.47%),DCcEE 表型 19 例(占 0.10%),DCCEE 表型 <0.01%;dcee 表型 50 例(占 0.28%),dCcee 表型 41 例(占 0.23%),dccEe 表型 6 例(占 0.03%),dCcEe 表型 4 例(占 0.02%),dCCee 表型 <0.02%。**结论** RhD 阳性患者以 DCcEe 和 DCcEe 这 2 种表型为多见,RhD 阴性患者以 dcee 和 dCcee 这 2 种表型为多见。

**关键词:** 输血患者;Rh 血型;表型;DCCEE

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 R446.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-0987-03

**Study on the Rh blood type distribution and rare DCCEE phenotype of clinical blood transfusion patients** XU Yali

<sup>1,2</sup>, WU Jibo<sup>2</sup>, XU Hua<sup>3</sup>, ZUO Qinqin<sup>3</sup>, WANG Baoyan<sup>2</sup>, WANG Junyang<sup>1</sup>. 1. Xi'an Jiaotong University, xi'an 710061, China; 2. The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University; 3. Shaanxi Blood Center. Corresponding author: WANG Junyang

**Abstract: Objective** To explore the distribution characteristics of Rh type phenotype in clinical blood transfusion patients. **Methods** Using anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, and anti-e reagents were combined with the blood samples of patients and clear and definite the characteristics of the phenotypic distribution of Rh. **Results** In 18 114 patients, RhD positive 18 010, RhD negative 104. The composition ratio of phenotype situation is: the DCcEe phenotype in 7 427 cases (41.00%), DCcEe phenotype in 6 634 cases (36.62%), DCcEe phenotype in 1 701 cases (9.40%), DCcEe phenotype in 1 390 cases (7.67%), DCcEe phenotype in 644 cases (3.56%), DCcEe phenotype in 108 cases (0.6%), DCcEe phenotype in 86 cases (0.47%), DCcEe phenotypic 19 cases (0.10%), DCcEe phenotypic <0.01%; Dccee phenotype 50 cases (0.28%), dCcee phenotype 41 cases (0.23%), dccEe phenotype 6 cases (0.03%), dCcEe phenotype 4 cases (0.02%), dCCee phenotype <0.02%. **Conclusion** the two types of RhD positive patients are DCcEe and DCcEe, and the RhD negative patients are more common with DCcEe and DCcEe.

**Key words:** recipients of blood transfusion, Rh blood type, phenotype, DCCEE

ABO 和 Rh 血型系统是临床输血中最重要的 2 个血型系统,然而,Rh 系统要比 ABO 系统更为复杂,日常的血型鉴定中,都只是对 Rh 血型按是否含 D 抗原定为阳性或阴性,而对 Rh 系统中其他的抗原不做进一步的检测。近年来,由 Rh 系统中非抗-D 引起的输血不良反应日益增多,因此对 Rh 血型系统其他抗原的检测应引起高度重视。我们通过对本院临床输血患者的 Rh 血型其他抗原进行检测,分析 Rh 血型系统中各表型的分布特征,并对罕见 DCCEE 表型做进一步研究。

## 1 材料与方法

**1.1 试验对象** 选取 2016 年 1 月 5 日-2017 年 2 月 15 日就诊于本院并首次申请输(备)血的临床患者 18 114 例,其

中女性 10 362 例,男性 7 752 例,年龄 2 d-101 岁。

**1.2 标本采集** 采集患者静脉血液 1-3 mL,EDTA 抗凝。

**1.3 试剂与设备** 抗-A、抗-B 血型定型试剂、RhD 血型定型试剂、抗-E、抗-C、抗-c、抗-e 血型定型试剂(上海血液生物); ABO/RhD 血型复检卡(美国奥森多);全自动血型配血仪;血库专用离心机;低速水平离心机;光学显微镜;原子力显微镜;载玻片、云母片;0.9%生理盐水;Inno-train 公司生产的 RBC-Ready Gene CDE 试剂。

**1.4 方法** 血型鉴定按照试剂说明书和文献[1]的有关过程进行。对于 DCCEE 表型的患者(先发现者)及其家系,进行 DNA 的提取及基因分型检测。对先发现者的新鲜标本,用生理盐水配制 1.0%的细胞悬液,置于载玻片上,用光学显微镜观察其形态。用生理盐水配制 0.5%的细胞悬液,制备至云母片上,用原子力显微镜观察其形态。

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.005

Δ通信作者:王军阳(1970.12-),男,教授,病原生物学与免疫学系副主任,主要从事神经免疫学相关研究,电话:18192936879, E-mail: jy-wang@mail.xjtu.edu.cn

2 结果

2.1 临床输血患者 Rh 表型分布特征 18 114 例患者中,其中 RhD 阳性 18 010 例,RhD 阴性 104 例。我们对其分别进行抗原表型的测定,并计算得出各表型的构成比,见表 1。

表 1 18 114 例输血患者表型分布

	n	构成比(%)	基因频率(%)
DCcee	1701	9.40	E 28.20
DCcEe	6634	36.62	e 71.80
DCcEE	19	0.10	C 64.80
DCcEe	7427	41.00	c 35.20
DCCEe	108	0.60	D 99.43
DCCEE	1	0.01	d 0.57
Dccee	86	0.47	
DccEe	644	3.56	
DccEE	1390	7.67	
dCcee	41	0.23	
dceee	50	0.28	
dCcEe	4	0.02	
dccEe	6	0.03	
dCCee	3	0.02	

2.2 先发现者红细胞形态的研究

2.2.1 ABO 血型及 Rh 因子表型鉴定 血清学检测先发现者及其家庭成员 ABO 以及 Rh 血型抗原表型,先发现者为 A/CCDEE,其妻子为 B/DCcEe,儿子为 AB 型,大女为 A 型,小女为 O 型,3 个子女的 Rh 表型均为 DCCEe,见表 2 和表 3,其家庭遗传谱系见图 1。

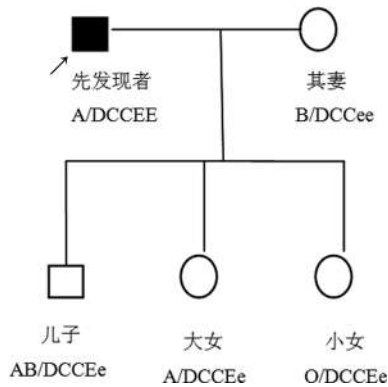


图 1 先发现者家庭遗传谱系

表 2 先发现者及其家系 ABO 血型检测

	Ac	Bc	Oc	抗-A1	抗-B	血型
先证者	0	4+	0	4+	0	A
妻子	4+	0	0	0	4+	B
儿子	0	0	0	4+	4+	AB
大女	0	4+	0	4+	0	A
小女	4+	4+	0	0	0	O

表 3 先发现者及其家系 Rh 抗原检测

	抗-D	抗-C	抗-c	抗-E	抗-e	表型
先证者	+	+	0	+	0	DCCEE
妻子	+	+	0	0	+	DCcEe
儿子	+	+	0	+	+	DCCEe
大女	+	+	0	+	+	DCCEe
小女	+	+	0	+	+	DCCEe

2.2.2 基因检测 对先发现者及其家庭成员进行 DNA 的

提取及基因分型检测,先发现者基因结果为 DCCEE,其妻子为 DCcEe,3 个子女均为 DCCEe。

2.2.3 显微镜观察红细胞形态 先发现者标本在光学显微镜下结果见图 2,由图可见,标本红细胞呈现畸形,球形红细胞增多、棘形红细胞易见、红细胞排列异常且细胞大小不均一。原子力显微镜观察结果见图 3,从图中可见,标本的红细胞双凹圆盘状消失,细胞边缘不整齐。

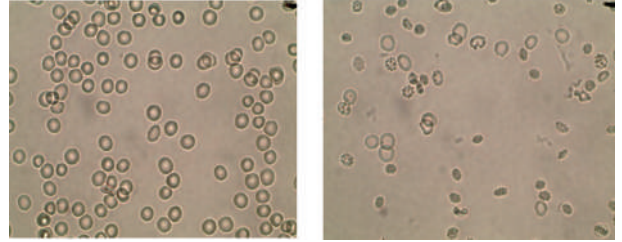


图 2 光学显微镜下红细胞形态

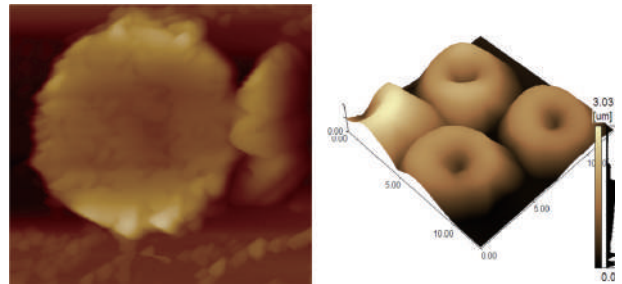


图 3 原子力显微镜下红细胞形态

3 讨论

Rh 血型是红细胞血型系统中抗原数量最多且最具复杂多态的血型系统,目前共发现有 54 个血型抗原<sup>[2]</sup>,其中 D、C、c、E、e 这 5 种抗原最具临床意义,其免疫原性依次为 D>E>C>c>e<sup>[3]</sup>。本次研究,通过对 D、C、c、E、e 这 5 种抗原进行检测,旨在了解临床输血患者的 Rh 表型分布特征。通过检测,RhD 阳性患者中存在 DCcee、DCcEe、DCcEE、DCCEe、DCCEe、DCCEE、Dccee、DccEe 以及 DccEE 9 种表型,其中以 DCcEe 和 DCCEe 这 2 种表型最为常见,CcDEE 最为少见,DCCEE 最为罕见,这与刘爱萍等<sup>[4]</sup>报道的 Rh 血型表型分布特征一致。本研究中,罕见 DCCEE 表型的基因频率为 0.006%,这与之前报道的 DCCEE 基因频率<0.01%<sup>[5]</sup>相一致。RhD 阴性患者中可见 dCcee、dceee、dCcEe、dccEe 以及 dCCee 这 5 种表型,其中以 dceee 和 dCcee 2 种表型最为多见,dCCee 表型较为少见,未见 dCcEE、dCCee、dCCEE、dccEE 4 种表现型,这与羊林等<sup>[5]</sup>报道的 Rh 阴性无偿献血者的表型分布有差异,后者中,150 名阴性献血者抗原分布以 dCcee (42.67%)最为多见,dceee (40.67%)次之,这可能与标本量大小以及地域差异等因素有关。

对于先发现者,我们对其血液标本进行血清学检测,检测其 ABO 血型及 Rh 抗原表型,结果为 A/DCCEE;RBC-Ready Gene CDE 基因分型检测,确定其体内无 e 及 c 基因。光学显微镜下,先发现者红细胞呈现畸形,球形红细胞增多、棘形红细胞易见、红细胞排列异常且细胞大小不均一;原子力显微镜观察,先证者红细胞双凹圆盘状消失,细胞边缘不

整齐。查阅先发现者病历资料,确定其无血液系统相关疾病。我们认为,先发现者的这种异常细胞形态可能与 Rh 蛋白异常相关。Rh 抗原(D 和 CcEe)是由多个亚单位组成的复合体,复合体核心有 2 个 Rh 蛋白和 2 个 Rh 相关糖蛋白(Rh-associated glycoprotein, RhAG)亚单位形成的四聚体组成<sup>[7]</sup>,辅助性蛋白可通过共价键与四聚体相连,以共分子的形式共同表达于红细胞表面。Rh 蛋白由 *RH* 基因编码合成,*RHD* 基因编码 RhD 蛋白,*RHCE* 基因编码 RHC/c 和 RHE/e 蛋白<sup>[8]</sup>,Rh 蛋白具有维持红细胞膜完整及维持红细胞正常生理功能的重要作用,当 Rh 蛋白存在缺陷时,会导致红细胞形态异常<sup>[9]</sup>。从本病例来说红细胞表面 RhCE 纯合子蛋白可能不足以维持红细胞的正常形态,因而出现异常的表现。因相关研究很少,我们也将继续进行相关的研究。

### 参考文献

- [1] 尚红,王毓三,申子瑜,等.全国临床检验操作规程.人民卫生出版社,北京,2015:118-216.
- [2] 李育,贝娜. 受血者与献血者 Rh 表型检测的临床意义. 浙江医学,2015,37(10):827-828.

- [3] 李海云,程从远. 南阳市 RhD/C/c/E/e 血型分型库建立的意义及应用. 中国实验血液学杂志,2016,24(5):1583-1587.
- [4] 刘爱萍,孔永奎,陈李影慧. 河南某医院 12836 例就诊人员 Rh 血型抗原表型分布. 郑州大学学报(医学版),2016,51(6):801-802.
- [5] 许志远,刘凯,王颖,等. 罕见 Rh 系统 RzRz(CCDEE)表型献血者 1 例. 中国输血杂志,2013,26(8):762.
- [6] 羊林,南丽霞. Rh 阴性无偿献血者表型分布调查及意义. 医学信息,2010,23(5):3.
- [7] Eysers SA, Ridgwell K, Mawby WJ, et al. Topology and organization of human Rh (rhesus) blood group-related polypeptides. Biol Chem, 1994,269(9):6417-6423.
- [8] Cartron JP, Colin Y. Structural and functional diversity of blood group antigens. Transfus Clin Biol, 2001,8(3):163-199.
- [9] 徐华. 几种重要的红细胞血型//张印则,徐华,周华友.Rh 血型系统//红细胞血型原理与检测策略. 北京:人民卫生出版社,2014:55-59.

(2017-06-26 收稿,09-20 修回)

本文编辑:夏玲

## 输血医学前沿科技论坛暨《中华输血学》新书发布会议 第一轮通知

当代基因组学、生物信息学、计算生物学、再生医学、精准医学、循证医学和互联网等新学科、新技术的应用彻底改变传统的生物学与医学的面貌,无疑地也促使输血医学快速地步入了一个新时代!在这样一个科技与人文革命浪潮的推动下,我国输血医学也有长足的进步。但是,着眼于“健康中国”这一伟大历史目标对输血医学发展的要求,不论是在我国当前输血的理念和实践、输血基础研究、科技水平,还是各级输血组织的服务观念、人文建设及管理制均需要加大创新力度,才能达到与时俱进的要求不负全社会的厚望!由我国著名的输血界前辈杨成民教授等领衔百余位输血界知名专家执笔,针对当代输血医学前沿特别是我国输血医学发展中共同关注的学术焦点问题,撰写了《中华输血学》专著,将于 2017 年 10 月底出版。《中华输血学》是人民卫生出版社的“中华系列”医药专著之一,也是我国输血界的一件喜事。经人民卫生出版社、《中华输血学》编委会、中国医学科学院输血研究所、四川大学华西医院、《中国输血杂志》编辑部共同商定于 2017 年 11 月 9 日-11 日在成都举行《中华输血学》发布仪式暨输血医学前沿科技论坛。会议将邀请 20 余位业界领军专家和知名学者,围绕我国输血医学当前面临的瓶颈问题做专题报告。热诚欢迎全国输血界和相关学科的朋友们参会。

为了便于做好会议安排,请有意参会者于 2017 年 10 月 10 日前发回参会回执。论坛主办者会议期间将向每位参会者赠送由三位主编签名(章)的《中华输血学》一册。会议注册费 800 元/人,食宿、差旅费自理。关于会议的具体安排将于 2017 年 10 月 20 日前发第二轮通知。

请您在百忙之中给予支持,并转请您熟悉的业界朋友们参会。参会的人员均需要填写参会回执,便于安排住宿。

会议回执网址:<https://www.wjx.top/jq/16625018.aspx>

会务组邮箱:shuxueyixue2014@163.com

会务组联系人:周文涛:18280097173,刘晓明:13348975133

中华输血学编委会 中国输血杂志编辑部

# 《紧急抢救输血指南(讨论稿)》研讨会纪要

紧急抢救输血是临床不可或缺的一种治疗手段,但其水平的提高除了医学及其相关科技的带动或/和促进外,还明显受制于现行的观念、制度和法律。如何在保障紧急抢救输血患者安全的前提下,确保护医务人员规避现实(时)存在的伦理乃至法律风险,2017年9月3日在长沙召开的《紧急抢救输血指南(讨论稿)》研讨会(湖南省输血协会、中南大学湘雅二医院和湘雅三医院联合主办),做了有益尝试和创新。来自全国各地的50名输血专家(名单附后),会同临床输血信息化管理与大数据建设及血小板输注疗效影响因素研讨会的部分代表,共218人参加了研讨会。会议现场讨论气氛热烈,专家和与会代表踊跃建言,部分专家还提笔在《<紧急抢救输血指南(讨论稿)>征求意见表》上填写了详细建议。

本次研讨会探讨了紧急抢救输血启动指征、ABO血型鉴定困难患者紧急抢救输血、ABO同型血液储备无法满足需求时紧急抢救输血、RhD阴性患者无同型血时紧急抢救输血、交叉配血试验不合或/和抗体筛查阳性患者紧急抢救输血及特殊情况紧急抢救血小板输注等议题,重点就中国医师协会输血科医师分会/中华医学会临床输血学分会2014年制定的《特殊情况紧急抢救输血推荐方案》(中国输血杂志2014,27(1):1-3)中悬而未决的问题,尤其对紧急抢救输血指南的输血技术问题产开了充分的讨论。与会专家最终达成的基本共识是:常规输血首选同型血,特殊情况紧急抢救时生命至上,即便相容性输血有不良反应,也要遵循两害相权取其轻的原则。《紧急抢救输血指南》的制定对紧急情况下抢救患者生命和保护施救的医务人员均具有重要意义。

## 1 紧急抢救输血启动指征

启动紧急抢救输血的指征主要涉及临床科室和输血科2个方面。

针对临床紧急抢救输血启动指征,与会专家对患者急性失血容量、失血性休克的状态、不可控的快速出血(如胸膜腔大血管破裂、肝脾破裂等)、血红蛋白值等指标(出血速度快,可能迅速危及生命;合并心、肺等严重基础疾病,很难耐受更严重贫血)及休克指数(SI值)等标准的界定进行了充分的议论,普遍倾向于提出启动紧急抢救输血管理规程的临床指征(初稿),并建议卫生行政主管部门或输血及其相关学科的学术(行业)团体广泛组织临床各科医师专题研讨修订。与会专家赞同输血科在下列时机启动紧急抢救输血指征时机:患者疑难血型,继续完成输血前试验会贻误抢救;临床医师判定特别紧急,完成输血前试验会危及生命;没有时间获得和/或测试标本时;不能立即提供同型血液(制品)。

## 2 ABO血型鉴定困难患者紧急抢救输血

ABO血型鉴定困难是临床常见的棘手的问题,特别是对于基层医院。在本次研讨会上,多位专家对ABO血型鉴定

困难患者紧急抢救输血时红细胞与血浆输注的首选、次选及三选血液制品类型,给予了明确且详细的说明,并指出输血科(血库)在采用特殊情况紧急抢救输血方案时,应抓紧时间对患者ABO血型做进一步鉴定,尽快确定患者ABO血型。要明确告知患者及其亲属采用特殊情况紧急抢救输血方案的原因和临床风险,并体现在签署的《输血治疗同意书》上。

## 3 没有时间获得和/或测试标本、ABO同型血液储备无法满足需求时紧急抢救输血

在没有时间获得和/或测试标本、ABO同型血液储备无法满足需求时,患者需紧急抢救输血,红细胞输注首选O型,但须做主侧交叉配血;血浆输注应选用AB型。非常紧急的情况,可直接发出未经交叉配血的O型红细胞,在《交叉合血单》上注明,并尽快完成交叉配血试验。

## 4 RhD阴性患者紧急抢救输血

对RhD阴性患者紧急抢救输血,与会专家普遍认为RhD阴性无抗-D患者的紧急输血可根据“血液相容型输注”原则进行,且首次输注应足量;RhD阴性患者输注RhD阳性红细胞的同种免疫可能继发的各种临床问题、育龄妇女怀上患新生儿溶血病风险的胎儿等问题,并将原因及风险明确告知患者及其家属;在紧急抢救输血过程中,若已具备与患者ABO/RhD同型血液制品供应的条件时,仍应将同型血液制品作为首选血液成分。

## 5 交叉配血试验不合或/和抗体筛查阳性患者紧急抢救输血

本次研讨会明确了交叉配血不合或/和抗筛阳性患者的红细胞与血浆紧急输注的原则。在紧急抢救输血过程中,有条件的输血科(血库)应对患者交叉配血不合的原因开展相关试验,包括鉴定不规则抗体特异性,或通过红细胞血型参比实验室尽快查明原因,寻找相合血液(制品)。

## 6 特殊情况紧急抢救血小板输注

特殊情况紧急抢救血小板输注应首选以ABO同型为首选;无法获知患者血型、血小板供应不足等情况可选择非同型单采血小板,但应注意输注无效的可能性、RhD阴性患者输注RhD阳性供者血小板被残存的红细胞同种免疫可能继发的育龄妇女致新生儿溶血病风险等各种临床问题,并明确告知患者及其家属。

## 7 与会专家还建议各医院输血管理委员会根据本院具体情况制定颁布适合本院的特殊情况抢救输血流程。

本次研讨会强调各医疗单位实施紧急抢救输血时,应严格遵循紧急抢救输血指南的启动指征,严禁在不具备启动指征的情况下以“紧急抢救输血”之名行非同型输血。研讨

会通过问卷形式,还对若干关键问题取得基本一致的意见:

1) 采用 O 型红细胞抢救输血,临床医师电话通知特别紧急可不做主侧配血(电话须录音),建议医生在《输血申请单》上签上“病情危急,先发血后补试验”字样;若采用盐水介质配血(-)、非盐水介质配血(+),可以输血;2) 非 O 型患者,输 O 型红细胞后可以立即改输同型血;选用的 O 型红细胞可以采用洗涤红细胞、悬浮红细胞或浓缩红细胞;3) 临床医师判定为重危急紧急抢救者,可不做抗体筛选和抗体鉴定;4) 输注机采 ABO 不同型血小板可不考虑患者及供者 ABO 抗体效价;5) 电子交叉配血在现今医疗水平与环境下仍有风险,并不绝对安全;6) 符合“特殊情况紧急抢救输血”条件者,间接抗球蛋白试验(+),主侧配不上血,可直接输注 ABO 同型或 O 型红细胞;7) 符合“特殊情况紧急抢救输血”条件者,可以发“ABO 血型待定”的报告;配血(+),必须如实报告;由经治

医师决定是否可以输血。

除此之外,对 ABO 亚型(如 A<sub>2</sub>型,含抗-A1)输血问题是否写进指南以及 RhD 阴性患者,有抗-D,可否输 Rh 阳性红细胞抢救生命的问题,与会专家也做了深入的探讨及磋商,但分歧明显,暂不纳入本次专家共识。另外,对于 ABO 亚型鉴定及输血问题专家意见为:《规范》未要求常规定 ABO 亚型;供者 ABO 亚型如因抗原弱漏检误定 O 型,临床输给 O 型患者,可能发生无效输血或不良反应;受者 ABO 亚型,不可能输同型血,只能输 O 型红细胞,紧急抢救时不能为鉴定亚型贻误抢救,可报告弱 A 或弱 B 型。

本次研讨会形成的专家共识将为临床紧急抢救输血提供技术指导和建议,意义重大。不少与会专家甚至认为,应将该讨论方案上升为《临床输血技术规范》的附件,使其具备“法律法规”的效力。

## 附件

### “紧急抢救输血指南”讨论稿研讨会专家名单(以姓氏拼音为序)

白连军	北京协和医院	欧阳旋	湖南省脑科医院
蔡 丹	湘潭市中心医院	邵智利	河北省儿童医院
蔡细英	株洲市中心医院	孙国栋	邯郸市中心血站
陈秉宇	浙江省人民医院	王秋实	中国医科大学附属盛京医院
高叶梅	邵阳市中心医院	王勇军	中南大学湘雅二医院
宫济武	北京医院	王 震	浙江省人民医院
桂 嵘	中南大学湘雅三医院	魏亚明	广州市第一人民医院
桂 霞	新疆医科大学附属肿瘤医院	肖 伶	湘西自治州人民医院
胡 俊	湖南省妇幼保健院	谢小兵	湖南中医药大学附一医院
胡雄燕	邵阳市中心血站	谢毓滨	湖南省血液中心
纪宏文	中国医学科学院阜外医院	邢彦超	兰州军区乌鲁木齐总医院
焦 伟	广西壮族自治区人民医院	熊志高	株洲市中心血站
康 甜	湖南省血液中心	许 靖	长沙市中心医院
兰炯采	南方医科大学南方医院	颜秀名	佛教慈济医疗财团法人大林慈济医院
乐爱平	南昌大学第一附属医院	阳志勇	南华大学附属第一医院
李 宁	中南大学湘雅医院	易思华	兰州大学第一医院
李 清	新疆医科大学附属中医医院	俞 颖	浙江省中医院
刘金菊	娄底市中心医院	曾贱高	益阳市中心医院
刘凤霞	中南大学湘雅三医院	张德梅	山西省血液中心
刘 阳	湘西土家族苗族自治州中心血站	张新逸	张家界市人民医院
刘 忠	中国医学科学院输血研究所	张志昇	台湾台大医院
刘志伟	浙江邵逸夫医院	赵树铭	陆军军医大学第一附属医院
孟双艳	怀化市第一人民医院	周红霞	岳阳市一人民医院
苗天红	北京红十字血液中心	周 明	湖南省人民医院
莫丽亚	湖南省儿童医院	左和宁	湖南中医药大学附一医院



# ABO 新生儿溶血病放散试验异常结果原因的体外模拟实验探讨\*

马春娅 杨璐 付丽辉 张晓娟 于洋 陈麟凤 汪德清<sup>△</sup>(中国人民解放军总医院 输血科,北京 100853)

**摘要:目的** 探讨 A(或 B)型新生儿在新生儿溶血病放散试验中放出抗-B(或抗-A)的原因。**方法** 采用体外模拟实验:取 O 型孕妇血浆 2 mL 经 2-Me 破坏后分别与 A(或 B)型红细胞 2 mL 37℃ 孵育 1 h,分离红细胞和血浆,分离出的血浆再用 2 mL A(或 B)型红细胞完成 2 次吸收,检测红细胞吸收前后血浆的 IgG 抗-A 和抗-B 效价;对吸收后红细胞做 56℃ 热放散,检测放散液中的抗-A 和抗-B。**结果** O 型血浆用 A 型红细胞 2 次吸收后,抗-A 效价下降至 0,抗-B 效价下降 1-4 个滴度;O 型血浆用 B 型红细胞 2 次吸收后,抗-B 效价下降至 0,抗-A 效价下降 1-2 个滴度;第 1 次吸收后的 Ac 和 Bc 放散液均检出抗-A 和抗-B,第 2 次吸收试验后的 Ac 放散液只检出了抗-B,Bc 放散液只检出了抗-A。**结论** 新生儿溶血病放散试验 A(或 B)型新生儿放散出的抗-B(或抗-A)为低效价抗-AB。

**关键词:** ABO 血型;新生儿溶血病;放散试验;低效价抗体

**中图分类号:** R457.1<sup>†</sup>1 R722.18 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-0992-03

**In vitro simulations for abnormal result analysis in elution test** MA Chunya, YANG Lu, FU Lihui, ZHANG Xiaojuan, YU yang, CHEN Linfeng, WANG Deqing. Chinese PLA General Hospital Department of Blood transfusion, Beijing 100853, China. Corresponding author: WANG Deqing

**Abstract: Objective** To analyze the cause of inverted results in the neonatal hemolytic disease elution test for type A (or B) newborn infants. **Methods** Group O Plasma were acquired from pregnant females and were then processed by 2-Me (2 mL plasma with 2 mL 2-Me), followed by incubation with 2 ml of group A (or B) erythrocytes in 37°C for 1 h. Later the erythrocytes were extracted from the mixture and an additional cycle were performed. The plasma before and after erythrocytes treatment were measured for IgG anti-A and anti-B antibody titer. The extracted erythrocytes went through the elution test at 56°C and the elution liquid were tested for anti-A and anti-B tests. **Results** After the two cycles of type A erythrocyte absorption, the anti-A titers dropped to 0 and anti-B dropped 1-4 titers while, the anti-B titers dropped to 0 and anti-A dropped to 1-2 titers for plasma processed by type B erythrocyte; After Ac and Bc were absorbed for the first time, anti-A and anti-B were both detected. However, the second time after absorption, the Ac eluate only detected anti-B and Bc eluate only detected anti-A. **Conclusion** The A (or B) antibody which were eluted from B (or A) group neonatal were, in fact, low titer anti-AB.

**Key words:** ABO blood group; hemolytic disease of the newborn; elution test; lower-titer antibodies

新生儿溶血病 (hemolytic disease of the newborn, HDN) 是由于母婴血型 (如 ABO 或 Rh 血型等) 不合引起胎儿或新生儿红细胞受到来自母体的免疫抗体破坏,而发生的免疫性溶血性疾病。ABO-HDN 多见于母亲为 O 型,父亲为 A 型、B 型或 AB 型的胎儿或新生儿<sup>[1]</sup>。目前临床应用最广的 HDN 诊断试验主要为新生儿溶血病 3 项试验,包括直接抗人球蛋白试验、游离试验和放散试验,其中放散试验是诊断 HDN 的确证试验。但在临床工作中发现部分新生儿红细胞放散结果与新生儿血型结果不一致,如 A 型新生儿红细胞放散液与 A 细胞反应为阴性,与 B 细胞反应为阳性,相反 B 型新生儿红细胞放散液与 A 型红细胞反应为阳性,与 B 型红细胞反应为阴性<sup>[2]</sup>。为探讨造成这类结果的原因,我们用正常人的红细胞和血浆在体外模拟了 HDN 患儿红细胞致敏状态,报道

如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验材料** O 型血浆 5 人份,来自本院妇产科门诊 2016 年 5-7 月孕妇产检标本 (EDTA 抗凝外周静脉血 5 mL/份),1 760 g 离心 5 min,检测完毕后,留取血浆,-20℃ 冻存,备用);A、B、O 型浓缩红细胞 (实验室自制);2-Me 标本释放剂 (批号 20167701,上海血液生物医药有限责任公司);单克隆 IgM 抗-AB (批号 8000183034,荷兰 Sanquin,);DG Gelsol 低离子强度盐溶液、DG Gel coombs 抗球蛋白卡 (批号 15005、15095V01,西班牙 Diana)。孵育器 (ID-incubator 37 SI,瑞士 DiaMed);专用离心机 (DGSpin,西班牙 GRIFols);标本离心机 (B-600A,北京白洋离心机厂);电热恒温震荡水槽 (DKZ-450A 型,上海森信实验仪器有限公司)。

**1.2 血浆和红细胞准备** 1) 完成对孕妇标本的不规则抗体和 IgG 抗-A、抗-B 效价试验后,选取不规则抗体筛查阴性、抗体效价强度 ≥ 128 的标本留取 2 mL 血浆/份,-20℃ 冻存备用。2) 取试管 6 支,3 支标记 Ac,3 支标记 Bc,取多人份直接

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.006  
\* 基金项目:“十三五”全军后勤科研项重点项目子课题 (BWS16J006);△ 通信作者:汪德清 (1962.12-),男,教授,主任医师,博士研究生导师,主要从事临床输血免疫研究,电话:010-66936508, Email:deqingw@vip.sina.com,

抗球蛋白试验(DAT)阴性的 A 和 B 型献血者红细胞各 6 mL 混合后分别分为 3 等份,加入对应试管中,用 4 mL 生理盐水洗涤 3 遍后备用。

**1.3 孕妇血浆中的抗-A、抗-B 检测** 1) 将 2 mL 待检血浆于 37°C 水浴箱融化后转移至试管中,加入 2 mL 2-Me 室温孵育 30 min,破坏血浆中的 IgM 抗体,留取 100 μL 血浆检测 IgG 抗-A、抗-B 效价。2) 分别取 2 mL 破坏后血浆与 2 mL A 型和 B 型红细胞混匀,37°C 孵育 1 h(期间不断混匀);经 1 760 g 离心 5 min,分离红细胞和血浆,取 200 μL 吸收后血浆,检测血浆中游离 IgG 抗-A、抗-B 效价;用 0.9% 生理盐水将红细胞洗涤 3 次,检测红细胞 DAT 强度;取洗涤后红细胞 1 mL 与等体积 0.9% 生理盐水混合,56°C 热放散,将放散液分别与 Ac、Bc 和 Oc 反应,检测放散液中抗-A 或抗-B 强度。3) 若血浆中仍有游离抗-A 或抗-B,将吸收后血浆再次分别与另 1 份 A 型和 B 型红细胞混匀,重复步骤 2),直至 A(或 B)型红细胞吸收后的血浆不能检出抗-A(或抗-B)后停止吸收。

**1.4 IgG 抗-A(或抗-B)效价检测** 取 10 支硬试管分别标记 1-10,加入 0.9% 生理盐水 100 μL/管,取 100 μL 待检血浆加入第 1 管,吹打混匀后取 100 μL 转移至第 2 管,以此类推完成血浆的倍比稀释,第 10 管吸取 100 μL 转移至空白管,以备后续稀释;取抗球蛋白卡做好标记,加入 50 μL/孔 1%

A 型(或 B 型)悬浮红细胞,25 μL 倍比稀释后血浆,37°C 孵育 15 min,128.1 g 离心 9 min 后观察结果,以出现凝集强度为“1+”的稀释倍数的倒数为抗体效价。

**1.5 放散试验** 取吸收后的红细胞 1 mL,用 5 mL 0.9% 生理盐水洗涤 4 次后,加入 1 mL 生理盐水,56°C 热放散(并不断振摇试管)10 min,2 000 g 离心 2 min 迅速分离出上清液(放散液);取抗球蛋白卡做好标记,分别加入 50 μL 1% 的 Ac、Bc、Oc 及 25 μL 放散液,37°C 孵育 15 min,128.1 g 离心 9 min 后观察结果,检测放散液内是否存在 IgG 抗-A 和(或)抗-B。

**1.6 低效价抗-AB 验证** 检测单克隆抗-AB 的抗体效价,根据检测结果将单克隆抗-AB 稀释至效价为 8,分别用 Ac 和 Bc 与稀释后的抗-AB 在 4°C 反应 1 h,检测吸收后红细胞 DAT 强度、吸收后上清抗-AB 及吸收后红细胞的放散结果。

**2 结果**

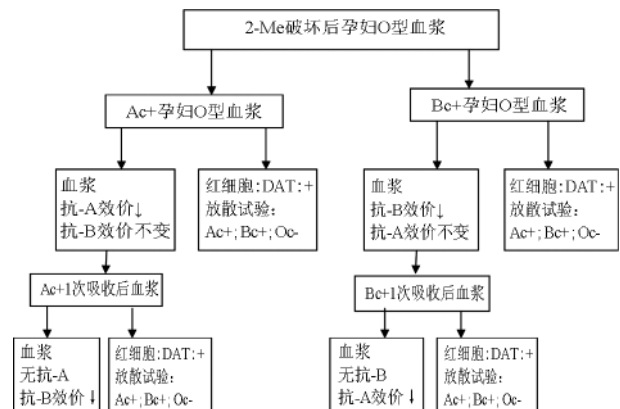
**2.1 孕妇血浆吸收试验前后 IgG 抗-A 和(或抗-B)效价变化** 见表 1。

**2.2 体外模拟 HDN 观察** 见图 1。

**2.3 体外模拟试验 Ac 和 Bc 吸收后孕妇血浆内游离抗体检测、DAT 和放散试验** 见表 2。

**表 1** 对 5 例孕妇血浆标本吸收试验前后 IgG 抗-A(或抗-B)效价

	吸收前		Ac 第 1 次吸收后		Bc 第 1 次吸收后		Ac 第 2 次吸收后		Bc 第 2 次吸收后	
	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B
标本 1	128	256	<1	128	128	1	0	128	64	0
标本 2	1 024	1 024	1	256	1 024	1	0	128	512	1
标本 3	256	1 024	1	512	256	1	0	512	128	0
标本 4	512	256	1	128	512	1	0	128	256	0
标本 5	512	512	1	256	512	1	0	128	256	0



注: DAT 直接抗球蛋白试验; + 阳性反应结果; - 阴性反应结果

**图 1** 孕妇血浆被 Ac 和 Bc 吸收前后红细胞放散液及血浆中抗体效价变化

**2.4 低效价抗-AB 验证** 1) 吸收后红细胞 DAT 结果均为阴性; 2) 未检出上清抗-AB; 3) 经 56°C 热放散, Ac 放散液结果为 Ac: -, Bc: +, Oc: -, 检出抗-B; Bc 放散液结果为 Ac: +Bc: -, Oc: -, 检出抗-A。

**3 讨论**

HDN 发生的主要原因是母体内的 IgG 抗体通过胎盘进入胎儿体内,如果胎儿红细胞上存在与抗体对应的抗原,则胎儿红细胞被抗体致敏,导致红细胞被脾脏等免疫器官清除,胎儿或新生儿发生黄疸、贫血等溶血症状,严重者可诱发核黄疸,对胎儿或新生儿神经系统造成不可逆性损害,因此 HDN 的早期鉴别诊断,对提高新生儿的存活率和生活质量有着重要的作用<sup>[3]</sup>。HDN 3 项试验中的放散试验被称为诊断该疾病的确诊试验。一般母亲为 O 型,患儿为 A 型(或 B 型)时,若放散液中能检出对应的抗-A(或抗-B),则可证实患儿体内存在来自于母体的针对自身红细胞抗原的抗体,确诊为 HDN。但在临床工作中发现有些 A 型(或 B 型)患儿红细胞放散液检出的抗体并非对应的抗-A(或抗-B),而是与之相反的抗-B(或抗-A),对于此类结果的发生应该如何解释,目前尚未明确<sup>[1]</sup>。故我们通过体外模拟新生儿红细胞被致敏的过程来探寻产生此种反应结果的原因,为判断患儿是否为 HDN 提供理论依据。

表 2 体外模拟 HDN 检测

检测项目	Ac 第 1 次吸收后			Bc 第 1 次吸收后			Ac 第 2 次吸收后			Bc 第 2 次吸收后		
	Ac	Bc	Oc	Ac	Bc	Oc	Ac	Bc	Oc	Ac	Bc	Oc
标本 1 游离 IgG 抗体	+/-	3+	-	3+	+	-	-	3+	-	3+	-	-
放散液	+/-	2+	-	2+	+/-	-	-	-	-	-	-	-
DAT	2+	2+	+/-	+								
标本 2 游离 IgG 抗体	2+	3+	-	3+	2+	-	-	3+	-	3+	+	-
放散液	2+	3+	-	3+	3+ <sup>s</sup>	-	-	2+	-	2+	-	-
DAT	3+	3+	1+	2+								
标本 3 游离 IgG 抗体	+	3+	-	3+	2+	-	-	3+	-	3+	-	-
放散液	2+	3+	-	2+ <sup>s</sup>	3+	-	-	2+	-	+/-	-	-
DAT	3+	3+	+/-	2+								
标本 4 游离 IgG 抗体	+	3+	-	4+	2+	-	-	3+	-	3+	-	-
放散液	2+	3+	-	2	+/-	-	-	2+	-	2+	-	-
DAT	3+	3+	1+	1+								
标本 5 游离 IgG 抗体	2+	4+	-	4+	+	-	-	4+	-	4+	-	-
放散液	2+	2+ <sup>s</sup>	-	2+ <sup>s</sup>	2+	-	-	2+	-	2+	-	-
DAT	3+	1+	1+									

本组实验数据显示,红细胞在 37℃ 与孕妇 O 型血浆反应后, DAT 结果为强阳性,凝集强度可达 3+(图 1,表 2),说明红细胞已被血浆中的抗体致敏。现已知 O 型人血浆内除含有抗-A、抗-B 外,还含有抗-AB,因而红细胞与孕妇 O 型血浆混合后,理论上 Ac 将会同时吸收血浆中的抗-A 和抗-AB, Bc 将会同时吸收抗-B 和抗-AB<sup>[4]</sup>。实验数据显示当孕妇 O 型血浆被 Ac 吸收后,血浆内 IgG 抗-A 和抗-B 效价均有所降低,抗-A 降幅更大;O 型血浆被 Ac 第 1 次吸收后,血浆内游离的 IgG 抗-A 凝集强度明显减弱(表 1),吸收后红细胞 DAT 为强阳性,56℃ 热放散后放散液与 Ac 和 Bc 反应阳性,与 Oc 反应阴性,证明 Bc 结合的抗体来源于 O 型血浆中的抗-A 和抗-AB;反之,用 Bc 吸收 O 型血浆,第 1 次吸收后血浆内 IgG 抗-B 凝集强度明显减弱(表 1),吸收后红细胞 DAT 为强阳性,经 56℃ 热放散后,放散液与 Ac 和 Bc 反应阳性,与 Oc 反应阴性,证明 Ac 结合的抗体来源于 O 型血浆中的抗-B 和抗-AB(图 1,表 2)。为进一步验证试验结果,我们更换新的 Ac 和 Bc 后,再次和第 1 次吸收后的血浆于 37℃ 孵育 1 h,发现吸收后 Ac 和 Bc 的 DAT 结果为阳性,Ac 再次吸收后的血浆游离抗体仅检出抗-B, Bc 再次吸收后的血浆游离抗体仅检出抗-A,说明经 Ac 第 1 次吸收后的剩余的少量抗-A(或抗-B),在第 2 次吸收过程中被 Ac(或 Bc)完全吸收,但放散试验显示吸收血浆后的 Ac 放散液中只能检出抗-B,也就是说被 Ac 吸收的抗-A 未放散下来;而吸收血浆后的 Bc 放散液中只能检出抗-A,即被 Bc 吸收的抗-B 未放散下来(图 1,表 2)。进一步检测剩余的抗-A 和抗-B 效价,发现经 Ac(或 Bc)吸收 2 次孕妇血浆后,血浆抗-B(或抗-A)抗体效价也有所降低(表 1),由此我们推测经 Ac 或 Bc 第 1 次吸收后剩余的抗体为低效价抗-AB, Ac 和 Bc 在第 2 次吸收血浆过程中将抗-AB 吸

收,但热放散时与 Ac 结合的抗-AB 仅能放散出抗-B,与 Bc 结合的抗-AB 仅能放散出抗-A。

上述试验结果是否为抗-AB 导致? 我们进一步将单克隆抗-AB 稀释至效价为 8,分别用 Ac 和 Bc 吸收后,做热放散试验,结果与患者血浆标本一致;Ac 和 Bc 与分别抗-AB 充分结合后,Ac 放散液中只能检出抗-B, Bc 放散液中只能检出抗-A,证实我们推测低效价抗-AB 的上述特性成立。对于 Ac(或 Bc)以何种方式与低效价抗-AB 结合,导致热放散时只能检测到抗-B(或抗-A),有待进一步探讨。

本模拟实验存在一定局限性,一方面因红细胞要求尽量新鲜且所需的量较大,获取新生儿红细胞较为困难,故采用健康献血者的红细胞代替;另一方面在验证低效价抗-AB 特性时选用的是稀释后的单克隆 IgM 抗-AB 标准血清,其是否与 IgG 抗-AB 的反应特性存在差异有待进一步验证。

参 考 文 献

[1] Bhat YR, Kumar CG. Morbidity of ABO haemolytic disease in the newborn. Paediatr Int Child Health, 2012,32(2):93-96

[2] 朱碎永,林甲进. A 型新生儿溶血病患儿红细胞抗体放散试验放散出高效价抗-B 初探.中国输血杂志,2013(26):854-855.

[3] Akgul S, Korkmaz A, Yigit S, et al. Neonatal hyperbilirubinemia due to ABO incompatibility: does blood group matter? Turk J Pediatr, 2013,55(5):506-509.

[4] Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, et al. Technical manual, 18th ed. Bethesda: AABB Press, 2014:291-315.

(2016-10-10 收稿,2017-08-04 修回)

本文编辑:蔡辉

# 血液质量控制检测项目试剂盒的选择 及室内质量控制方法的建立

王洪 张玉红 刘玉振(河南省红十字血液中心,河南 郑州 450012)

**摘要:目的** 评估血液制品中甘油、上清蛋白、血浆蛋白、游离 Hb 以及亚甲蓝检测试剂盒的可行性并建立室内质量控制。**方法** 选择市售生化试剂盒,自制室内质控品并制定质量控制范围,分别用分光光度计和生化仪器同时对血液制品中的甘油、上清蛋白、血浆蛋白、游离 Hb 以及亚甲蓝检测进行检测,甘油检测采用 GPO-PAP 酶比色法,上清蛋白采用邻苯三酚红比色法,血浆蛋白采用双缩脲比色法,游离 Hb 采用 Trinder 比色法,亚甲蓝采用萃取比色法。**结果** 选出 5 种试剂盒并建立了室内质控范围;甘油、上清蛋白、血浆蛋白、游离 Hb 以及亚甲蓝 2 种仪器比对检测结果均相近( $P>0.05$ );甘油、上清蛋白、血浆蛋白、游离 Hb 以及亚甲蓝用分光光度计各检测 48 人份,其最高值分别为 2.12 g/L、2.40 g/L、63.8 g/L、1.09 g/L、0.31  $\mu\text{mol/L}$ 。**结论** 血液质量控制项目可采用试剂盒可在分光光度计上进行检测,简单可行,建立室内质控,确保结果准确性。

**关键词:** 全血;成分血;试剂盒;室内质控品;亚甲蓝;甘油;上清蛋白;血浆蛋白;游离 Hb;分光光度计

**中图分类号:** R446.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-0995-03

**Whole blood and blood component quality control test kit selection and the establishment of laboratory quality control** WANG Hong, ZHANG Yuhong, LIU Yuzhen. Henan Province Red Cross Blood Center, Zhengzhou 450012, China.

**Abstract: Objective** To evaluate test kits performance for glycerin, albumin and plasma protein, free Hb and the feasibility of the methylene blue tests and establish the indoor quality control. **Methods** Bio reagent kits were purchased directly from the market and were applied to self-made reference products. Thus, a quality control, range can be established. A spectrophotometer and a biochemical analyzer were adopted for parallel tests of glycerine, albumin, plasma protein, free Hb and methylene blue, which are performed by GPO-PAP enzyme colorimetry, phenol red colorimetric method, biuret colorimetry, Trinder colorimetric method, extraction colorimetry, respectively. **Results** Five kits were picked based on test results and established correspondent quality control ranges; The two instruments presented no significant difference in terms of measurement for glycerin, albumin and plasma protein, free Hb and methylene blue ( $P>0.05$ ); 48 samples were tested for each type and the peak values were 2.12 g/L, 2.40 g/L, 63.8 g/L, 1.09 g/L, 0.31  $\mu\text{mol/L}$ , respectively. **Conclusion** Blood quality control can be performed based on test reagent kits and a spectrophotometer. However, a quality control range need to be deemed to ensure test accuracy.

**Key words:** whole blood; composition of blood; kit; indoor quality control; methylene blue; glycerol; albumin; plasma protein; free Hb; spectrophotometer

作为《血站技术操作规程》中规定的血液质量检测项目,游离 Hb、甘油、上清液蛋白、血浆蛋白以及亚甲蓝等的常规检测方法的操作费工费时。目前一些试剂生产厂家已开发并推出了一些与这些检测项目相关的生化试剂盒,其具有操作简单、快速的优点;但不同厂家生产的试剂盒存在的差异性,同时目前已开展了生化检测项目的血站,卫生部临床检验中心室间组织的质评检测项目中亦无相应质控要求,致使作了这些生化检测项目血站心中无底。为了提高这些试剂盒检测的准确性,我们将上述生化仪使用的试剂盒尝试用在分光光度计上做比色检测,按比例扩大加样量,同时自配质控品做室内质控,比对并确定不同厂家的试剂盒检测的线性范围,以便选择了简单准确、省工省时,更适合血站检测的生化试剂盒,报道如下。

## 1 材料与与方法

**1.1 检测标本来源** 从 2015 年 1 月 1 日-12 月 31 日本中心制备的悬浮红细胞、冰冻解冻去甘油红细胞、洗涤红细胞、新鲜冰冻血浆以及病毒灭活血浆 5 种血液制品各抽检 48 (人)份。

**1.2 仪器与试剂** 紫外分光光度计(UV-2401PC,日本岛津);生化分析仪(CHEMIX800)和全自动血细胞计数仪(K-4500)均由日本希森美康提供;游离 Hb 测定试剂盒(批号 140902)和蛋白测定试剂盒(批号 141010)以及亚甲蓝测定试剂盒(批号 141009)(均由北京瑞达尔提供);甘油三酯测定试剂盒(批号 02875,西班牙 Biosystems S. A);脑脊液/尿总蛋白测定试剂盒(批号 20140504,保定长城临床试剂)。

### 1.3 质控品的配制

**1.3.1 亚甲蓝** 1)亚甲蓝瓶装粉末(批号 7220793,纯度 99.5%,干燥失重 18%,美国 BIOSZUNE LIFE SCIENCES DEP

公司);2)在精密电天平上,放入 150 mL 的小烧杯,去皮后称亚甲蓝 0.019 9 g,适量加蒸馏水溶解,倒入 500 mL 容量瓶中,加水至 500 mL,混匀后取 1 mL 亚甲蓝,加入 100 mL 容量瓶中,加血浆至刻度。亚甲蓝浓度 = 0.019 9 × 1 000 × 1 000 × (1-18%) × 99.5% ÷ 319.9 ÷ 0.5 ÷ 100 = 1.01 μmol/L。

**1.3.2 甘油** 1) 复方甘油溶液(批号 1409113,甘油含量 570 g/L,北京博德桑特输采血器材科技开发公司);2)取复方甘油溶液 100 μL,加入 100 mL 容量瓶中,然后加生理盐水至 100 mL。甘油浓度 = 570 ÷ 1 000 = 0.57 g/L。

**1.3.3 血浆蛋白** 1) RANDOX CA2(朗道质控血清水平 2)(批号 777UN,血浆蛋白含量 58.3 g/L,英国 RANDOX Laboratories);2)将 RANDOX CA2 室温平衡后,加入蒸馏水 5 mL/支,混匀,放置 30 min 再混匀。血浆蛋白浓度 = 58.3 g/L。

表 1 用于分光光度计检测血液质量指标的生化试剂盒的选择

	游离 Hb 测定试剂盒	甘油三酯测定试剂盒	蛋白测定试剂盒	脑脊液/尿总蛋白测定试剂盒	亚甲蓝测定试剂盒
试剂厂家	北京瑞达尔有限公司	西班牙 BioSy-StemS.A 公司	北京瑞达尔有限公司	保定长城临床试剂有限公司	北京瑞达尔有限公司
反应原理	Trinder 比色法	GPO-PAP 酶比色法	双缩脲比色法	邻苯三酚红比色法	萃取比色法
反应时间(min)	25	15	15	15	60
测定波长(nm)	505	546	540	600	653

**1.5 质控品范围选择** 标准品是试剂盒内自带;自制质控品,质控品范围是按均值 ± 15% 计算;线性范围按试剂盒说明书要求,样品稀释比是样品和生理盐水的稀释比,将样品稀释后需要检测的项目浓度在线性范围内(表 2)。

表 2 用于分光光度计的生化试剂盒室内质控品范围及样品稀释情况

	标准品	质控品范围	线性范围	样品稀释比
血浆蛋白(g/L)	60.0	58.3(49.6-67.1)	20-120	0
上清蛋白(g/L)	1.00	1.17(0.99-1.35)	0.04-2.00	1:2
亚甲蓝(μmol/L)	1.00	1.01(0.86-1.16)	0.01-3.00	0
甘油(g/L)	0.20	0.57(0.48-0.66)	0.05-1.00	1:2
游离 Hb(g/L)	0.10	0.25(0.21-0.29)	0.03-0.40	1:2(根据颜色)

2 结果

**2.1 部分血液质量检测生化试剂用于分光光度计及其与在生化仪上的结果比较** 悬浮红细胞、冰冻解冻去甘油红细胞、洗涤红细胞、新鲜冰冻血浆以及病毒灭活血浆 5 种成分血,各抽检 32 人份,采用试剂盒在生化仪和分光光度计上分别检测的结果相似(P>0.05)(表 3)。

表 3 部分血液质量检测生化试剂用生化仪和分光光度计检测 (x̄±s, n=32)

	生化仪	分光光度计
新鲜冰冻血浆蛋白(g/L)	58.1±5.95	57.5±3.63
洗涤红细胞上清蛋白(g/L)	2.28±0.29	2.31±0.14
病毒灭活血浆亚甲蓝(μmol/L)	0.89±0.12	0.95±0.09
冰冻解冻去甘油红细胞甘油(g/L)	1.62±0.18	1.57±0.10
悬浮红细胞游离 Hb(g/L)	0.61±0.09	0.69±0.07

**2.2 血液质量检测生化试剂在分光光度计上的实际抽检** 采用分光光度计加相应生化试剂对本中心 2015 年 1 月 1 日-12 月 31 日部分血液(成分)制品的质量抽检:每次检测加入质控品的检测结果均在规定的质控范围(如果质控品值不在控制范围检测结果无效,须重做试验)(表 4)。

**1.3.4 上清蛋白** 1) (试剂同上清蛋白);2)将 RANDOX CA2 室温平衡后,加入蒸馏水 5 mL/支,混匀,放置 30 min 再混匀,吸取 1 mL,加入 50 mL 容量瓶中,然后加生理盐水至 50 mL 刻度。上清蛋白浓度 = 58.3 ÷ 50 = 1.17 g/L。

**1.3.5 游离 Hb** 1) 血液分析用质控品(EIGHTCHCK-3WP)(批号 43190822, Hb 含量 125 g/L,美国希森美康 Sysmex 公司);2)用加样枪吸取血液分析用质控品 200 μL,然后加蒸馏水至 100 mL 刻度(500 倍稀释),放置 60 min 使红细胞充分溶解,每次现配现用。游离 Hb 浓度 = 125 ÷ 50 = 0.25 g/L。

**1.4 试剂盒的选择** 因市售生化试剂盒原本用在生化仪器上检测,将其改在分光光度计上检测时,需要溶液总量 > 2 mL 才能装满比色杯比色,故我们把标本和试剂用量依照生化试剂盒说明书按比例增大 3 倍,体积总量约 3 mL(表 1)。

表 4 生化试剂用在分光光度计上检测 5 项血液成分质量指标结果汇总(n=48)

	平均值	最低值	最高值
新鲜冰冻血浆蛋白含量(g/L)	57.6	52.8	63.8
洗涤红细胞上清液蛋白含量(g/L)	0.83	0.30	2.40
病毒灭活血浆亚甲蓝残留量(μmol/L)	0.13	0.02	0.31
冰冻解冻去甘油红细胞甘油残留量(g/L)	1.25	0.86	2.12
悬浮红细胞游离 Hb(g/L)	0.42	0.05	1.09

3 讨论

本次实验生化试剂盒的选用我们考虑到了如下因素:第一、检测结果的重复性和准确性好;第二、内装有标准品;第三、操作步骤少;第四、不同的检测项目,试剂盒最好能为同一厂家生产,以便于邮寄,减少开支(表 1)。仪器的选用要求是在生化仪上使用的试剂能用在分光光度计上使用。本组实验数据显示,2 种仪器的检测结果相近(P>0.05),且分光光度计的检测变异系数更小(表 3),这是因为我们将生化试剂用于分光光度计时加样量是生化仪的 3 倍,因而检测光径长,同时比色杯无残留水,检测结果也更准确。另外,质控抽检量少,无需购买新设备。

我们的实验提示,生化试剂用在分光光度计上当检测结果的线性范围低于下限时,需要改变检测方法。在本实验中,蛋白含量 < 20 g/L,已超出试剂检测的线性检测范围,误差大,因此我们将洗涤红细胞上清蛋白检测方法由双缩脲法改为邻苯三酚红铝比色法<sup>[1]</sup>;同样血细胞计数仪检测总 Hb 线性范围最低(1 g/L),当 Hb < 10 g/L 时改用 Trinder 法做游离 Hb 检测(表 2)。当检测结果的线性范围高于上限时,需要样品稀释后再检测。本组检测标本中新鲜冰冻血浆的蛋白含量和病毒灭活血浆的亚甲蓝残留量最高值分别为 63.8 g/L 和 0.31 μmol/L,均未超过各自检测的上限值(表 2),故无需对这 2 类种标本稀释后再检测;而洗涤红细胞上清蛋白、冰冻解冻去甘油红细胞甘油残留量、悬浮红细胞游离 Hb

的最高检测值分别为 2.40、2.12、1.09 g/L, 已超出试剂上限检测范围, 故须将标本与生理盐水 1:2 稀释后再检测(表 4)。

在本实验中, 室内质控品的建立。采用我们通过自配质控品建立了室内质控, 目的是作为第三方来对试剂的生产过程、运输温度、实验操作等过程进行做质量控制, 防止质量失控的发生, 确保实验结果的准确性。甘油质控品, 没有采用高浓度 99% 甘油进行称量配制<sup>[2]</sup>, 因为高浓度甘油吸水性强, 开盖就吸空气中的水分难以准确称量, 而采用复方甘油溶液, 甘油浓度为 57%, 改为按体积稀释配制。亚甲蓝质控品配制, 称重亚甲蓝粉没有采用 105℃ 恒温干燥法, 计算亚甲蓝的含量不再考虑干燥失重, 否则计算结果需要考虑干燥失

重<sup>[3]</sup>。最后需要说明的是, 每种仪器和不同厂家的试剂盒检测的线性范围不完全一样, 需要仔细阅读说明书。

## 参考文献

- [1] 血站技术操作规范(2015 版). 国卫医发[2015]95 号附件 F13.
- [2] 林俊杰, 徐蓓邱, 颖婕. 冰冻红细胞中甘油残留量不同测定方法的比较, 中国输血杂志, 2002, 15(5): 323-324.
- [3] 杨夏, 崔春燕, 白旭华. 病毒灭活血浆亚甲蓝含量的检测及质量控制, 中国输血杂志, 2011, 24(10): 881-883.

(2016-12-18 收稿, 2017-07-23 修回)

本文编辑: 蔡辉

## · 论著 ·

# 在 1 名幼儿及其家系中发现 538C>T 变异新 B 等位基因

徐秀云<sup>1</sup> 刘昕<sup>1</sup> 周菁<sup>1</sup> 童小燕<sup>1</sup> 艾丽萍<sup>2</sup> 王芳<sup>2</sup> 舒锦<sup>1</sup> 卢娟<sup>1</sup> 徐子恒<sup>1</sup> 万贝妮<sup>1</sup> 周根水<sup>△</sup>

(1. 江西省儿童医院 输血科, 江西 南昌 330006; 2. 天津市秀鹏生物技术开发有限公司)

**摘要: 目的** 对 1 名 ABO 血型正反定型不符的患儿及其家属做 ABO 血型血清学鉴定和基因检测以弄清原因。

**方法** 采用常规血型血清学方法检测患儿 ABO 血型, 以 PCR-SSP 方法对患儿做 ABO 基因及 ABO 血型 B 亚型基因分型鉴定, 并对 ABO 等位基因直接测序; 最后对患儿做家系调查。**结果** 血清学检测: 患儿 ABO 血型为 AB<sub>x</sub> 亚型; ABO 基因测序并将结果与 NCBI 网站数据库中 ABO 血型基因序列比对: 患儿除有 1 个正常的 A102 基因外, 还存在 1 个未见报道新的点突变型(538C>T) B 型变异基因, 该位点变异使得基因产物 B 糖基转移酶第 180 位氨基酸由精氨酸转变为半胱氨酸, 使抗原表达减弱, 改变了血型表现型; 家系调查: 患儿父亲、奶奶、姑姑都拥有相同的新型 B 变异基因。**结论** 首次在中国汉族儿童中发现 1 例新的 538C>T 变异 B 型等位基因, 该 B 变异基因具有家族遗传性; 而且当它与 O 基因等位共存时, 血清学表现型为正常 B 型, 当它与 A 基因等位共存时, 血清学表现出 AB<sub>x</sub> 亚型。

**关键词:** ABO 血型; B 亚型; 等位基因, 变异型; 基因测序; PCR-SSP; 血型血清学

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-0997-04

**A novel variant B allele with nt538C>T found in an infant and its family** XU Xiuyun<sup>1</sup>, LIU Xin<sup>1</sup>, ZHOU Jing<sup>1</sup>, TONG Xiaoyan<sup>1</sup>, AI Liping<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>2</sup>, SHU Jin<sup>1</sup>, LU Juan<sup>1</sup>, XU Ziheng<sup>1</sup>, WAN Beini<sup>1</sup>, ZHOU Genshui. 1. Children's Hospital of Jiangxi Province Nanchang 330006, China; 2. Tianjin Super Biotechnology Developing Co Ltd. Corresponding author: ZHOU Genshui

**Abstract: Objective** To investigate the cause of abnormal ABO blood group test results on an infant patient by ABO blood group serological tests and gene sequencing. **Methods** After routine serological tests with ABO blood group, the ABO gene and ABO blood group-B subgroup genotype were tested by PCR-SSP. Then direct sequencing of ABO alleles was performed. Finally a family survey was conducted to collect additional data for analyses. **Results** The serological results showed that the child's ABO blood type is AB<sub>x</sub>. The gene sequencing result confirmed that the child, apart from a normal allele A101, also possessed an unreported B mutant allele caused by a single locus mutation (nt538C>T). Such mutation leads to the alternation of arginine to cysteine at the 180th amino acid site of the product and thus affected its enzyme activity. As for the Family survey, the father, the grandmother and the aunt of the child had the same new B variant allele. **Conclusion** A novel 538C>T variant B allele has been found in a Han Chinese child for the first time. Family survey result of the child showed that 538C>T point mutant B variant gene has familial inheritance, and when co-existed with O allele, the serotype appears to be a normal B type. When co-existed with A allele, the serotype shows AB<sub>x</sub> subtype characteristics.

**Key words:** ABO blood group; B subgroup; ABO allele; gene sequencing; PCR-SSP

基因数量日渐增多。在美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)网站上红细胞血型抗原基因突变型数据库(Blood Group Antigen Gene Mutation Database, BGMUT)中以命名(name)检索 B 等位基因,发现主要有 B<sub>1</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>w</sub>、B<sub>x</sub>、B<sup>d</sup>、CisAB、B<sub>m</sub>、B(A)这 8 大类,各自拥有 3-39 个成员<sup>[1]</sup>。我们在日常鉴定因血清学 ABO 正反不符的案例时,通过对 1 名疑为 AB<sub>x</sub> 亚型患儿做 ABO 基因型检测时,发现了 1 个新的 538C>T 点突变(位于 ABO 基因第 7 号外显子内)B 型等位基因,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 患儿,男,汉族,1 岁 5 个月,系第 1 胎第 1 产,无输血史,因泌尿道感染出现尿频尿痛并发热 1 周后,于 2016 年 5 月来本院肾内科就诊。在鉴定血型时,因患儿 ABO 血型正反定型不符,遂需进一步对其血型做鉴定分析并做家系调查(包括患儿父母及父系上 2 代亲属)。

1.2 试剂与仪器 抗-A、抗-B、抗-H、抗-A<sub>1</sub>试剂和 ABO 标准红细胞(批号分别为 20150815、201508159、20150616、20150815 和 20165309,上海血液生物医药责任有限公司);ABO、Rh 血型定型微柱凝胶卡(批号 20160205,长春博迅生物有限公司);基因组 DNA 提取试剂盒(批号 00D3392020000C270025,美国 Omega);ABO 基因分型初筛试剂盒、B 基因分型试剂盒(批号 201603018、201605011,天津秀鹏);所有试剂均在有效期内使用。血型专用离心机(KA-2200 型,日本久保田公司);免疫微柱孵育器(FYQ 型)、血型血清学离心机(TD-3A 型)(长春博研科学仪器公司);高速离心机(Centrifuge 5430 型,德国 Eppendorf);PCR 扩增仪(Bio-Rad C1000 型)、凝胶成像系统(Bio-Rad Gel Doc XR+型)(美国伯乐);电泳仪(DYY-8C,北京市六一仪器厂);基因测序由中国医学科学院输血研究所和天津市秀鹏生物技术开发有限公司分别完成并互相验证。

1.3 血型血清学鉴定 采用盐水法和卡式法,盐水法按文献[2]方法操作,卡式法按试剂说明书操作和判读。

1.4 DNA 提取 按照试剂盒说明书提取血液标本全基因。

1.5 PCR-SSP 法 ABO 基因和 B 基因分型检测 严格按 ABO 基因分型初筛试剂和 B 亚型基因分型试剂说明书操作。

1.6 ABO 基因直接测序 委托天津市秀鹏生物技术开发有限公司和中国医学科学院输血研究所重复检测,以相互验证结果的准确性。

2 结果

2.1 患儿 ABO 血型血清学检测 患儿正定型检出 A 抗原和弱 B 抗原,其中与抗-B 反应管盐水法 5 次离心未见混合视野现象,卡式法凝集颗粒集中于凝胶下 2/3 处,排除混合视野;反定型检出弱抗-B。综合判断疑似 AB<sub>x</sub> 型(表 1)。

表 1 患儿 ABO 血型血清学检测(试管法)

	正定型				反定型				自身对照
	抗-A	抗-B	抗 AB	抗-A <sub>1</sub>	抗-H	Ac	Bc	Oc	
立即离心	4+	2+	4+	3+	1+	-	1+ <sup>w</sup>	-	-
5 次离心	4+	2+	4+	4+	2+ <sup>w</sup>	-	1+ <sup>s</sup>	-	-

注:离心条件均为 1 000 g 离心 15 s

2.2 患儿 ABO 血型基因分型初筛 琼脂糖凝胶电泳:第 2、4、5、6、8、11 孔条带阳性,参考试剂盒结果分型表中数据,判读为 AB 型(图 1)。

2.3 患儿 B 亚型基因检测 琼脂糖凝胶电泳:第 35、36 孔条带阳性,参考试剂盒结果分型表中数据判读,单独第 35 孔为 B<sub>1</sub>型,单独第 36 孔为 A 型,显示患儿为 AB<sub>1</sub>型。看似患儿 B 基因是个正常 B<sub>1</sub>基因,但结合异常的血型血清学结果,患儿疑似存在试剂盒检测范围以外的 B 亚型(图 2)。

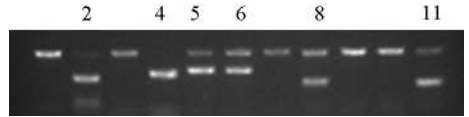


图 1 PCR-SSP 法 ABO 基因分型初筛



图 2 PCR-SSP 法 B 亚型基因分型结果

2.4 ABO 血型基因直接测序 以公认的 A101 等位基因序列做为参考序列比对:患儿 ABO 基因 7 号外显子序列中存在 1 个特异性 467 C>T 突变,说明患儿有 1 个 A102 等位基因<sup>[3]</sup>;6 号外显子的 297A>G 和 7 号外显子的 526 C>G、657 C>T、703 G>A、796 C>A、803 G>C、930 G>A 共 7 个特异性点突变,说明患儿有 1 个 B101 等位基因<sup>[4]</sup>;此外 7 号外显子还检测到 1 个新的 538C>T 点突变,与 NCBI 网站红细 ABO 基因数据库中的所有 ABO 等位基因数据比对,没有发现对应的突变数据,说明该点突变是 1 个新的未见报道的突变,亦即患儿的 B101 基因是 1 个新的变异型(亚型)。综合判定患儿基因型为 A102/B101(538 C>T)型(表 2,图 3-4)。

表 2 患儿 ABO 基因测序结果判定(以 A101 为参考序列比对)

	碱基替换	氨基酸替换	患儿基因型
A101(参考基因)	A101 碱基>被 比对基因碱基	对应氨基酸>被 比对基因氨基酸	
患儿等位基因 1	467 C>T		A102
患儿等位基因 2	297 A>G 526 C>G 538 C>T 657 C>T 703 G>A 796 C>A 803 G>C 930 G>A	Arg>Cys	B101(538 C>T)

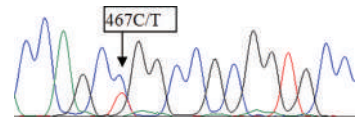


图 3 A102 等位基因特征性的 nt467C>T

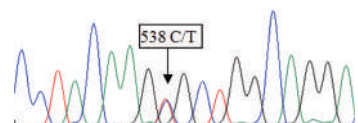


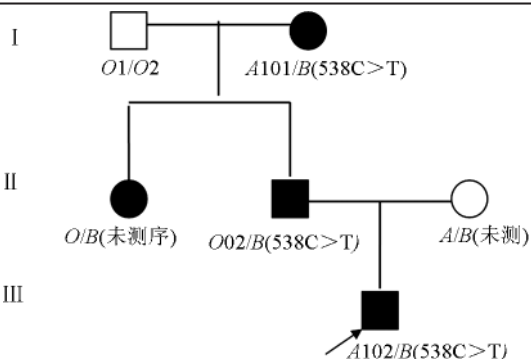
图 4 新 B 等位基因的 nt538C>T 点突变

2.6 患儿家系调查 对患儿父母及父系上 2 代亲属 ABO 血型血清学检测:根据 ABO 血型遗传规律判断患儿 A 基因来自母亲;B 基因来自父亲,而父亲的 B 基因来自患儿祖母

(也遗传给了患儿的姑姑)(表 3)。我们遂选出患儿父亲与祖母的血样做 ABO 基因测序(委托天津市秀鹏生物技术开发有限公司完成):患儿父亲 ABO 基因型为 O02/B101(538 C>T), 祖母 A 为 A101/B101(538 C>T)(图 5)。

**表 3** 患儿与父母及其父系 3 代 ABO 血型血清学家系调查(试管法)

	正定型		反定型			血型表现型
	抗-A	抗-B	Ac	Bc	Oc	
先证患儿	4+	2+	—	1+ <sup>S</sup>	—	AB <sub>x</sub>
爸爸	—	4+	3+ <sup>S</sup>	—	—	B
妈妈	4+	4+	—	—	—	AB
爷爷	—	—	3+	2+	—	O
奶奶	4+	1+	—	—	—	AB 亚
姑姑	—	4+	4+	—	—	B



**图 5** 患儿与父母及其父系 3 代 ABO 血型家系图谱

**3 讨论**

本例从血型血清学方法检测结果——患儿正定型检出 A 抗原和弱 B 抗原,反定型检出弱抗-B(表 1)——来判断,该患儿 ABO 血型预测为 AB<sub>x</sub> 型(表 1)。B<sub>x</sub> 是 ABO 亚型中 1 种表现型,至今已上传 NCBI 网站红细胞 BGMUT 数据库中的 A<sub>x</sub> 亚型基因型 29 种, B<sub>x</sub> 亚型基因型 13 种, B<sub>x</sub> 亚型相对少见<sup>[1]</sup>。国内同行对此的研究有的是从血型血清学结果来判断,有的是通过血清学联合基因检测来判断<sup>[5-13]</sup>。我们认同亚型的判断宜综合分析血型血清学和基因检测的结果为准的观点<sup>[6]</sup>。

ABO 基因分型及 B 亚型基因分型检测显示患儿为 AB 型(图 1-2),但考虑到血型血清学检测结果为 B 抗原减弱,故怀疑是存在试剂盒检测范围以外的 B 亚型或者存在新的基因突变位点导致基因编码的氨基酸发生变化,从而使抗原表达减弱。于是我们对患儿血样做 ABO 基因序列检测:“患儿基因型为 A102/B? (538C>T)”;为进一步验证结果的可靠性,我们再次将患儿 DNA 标本做测序:“基因型为 A102/B101(538C>T)”(表 2,图 3-4)。2 次测序(分别由 2 家单位进行)结果的表述方式虽不一样,但实质相同:与 B101 基因相比,该患儿 B 基因序列中第 538 位碱基发生了点突变(538C>T),导致基因产物糖基转移酶第 180 位氨基酸由精氨酸转变为半胱氨酸,糖基转移酶一级结构发生了改变。这导致我们在患儿 ABO 血型血清学结果中看到了 B 抗原表型的改变,显出 B<sub>x</sub> 表现型特性。

在线检索 NCBI 的红细胞 BGMUT 数据库可知:本例 B 等位基因序列中 538C>T 的点突变此前从未报道过,与之最

相似的 B 等位基因(对应已被命名的 B<sub>x</sub>11 亚型),同本例 B101 基因相比,其 B<sub>x</sub>11 亚型序列同样是在第 538 位碱基发生了点突变(538C>G),导致基因产物 D-半乳糖基转移酶第 180 位氨基酸由精氨酸转变为甘氨酸<sup>[14]</sup>。

为了解患儿该 B 变异等位基因的来源,我们对患儿父母及其父系 3 代做了家系调查:患儿的 B 变异等位基因来自于祖母,父辈中的父亲与姑姑均携带该等位基因。基因测序证实这种 538C>T 变异 B 等位基因具有家族遗传性(表 3,图 5)。结合家族成员 ABO 血型血清学特点及 ABO 血型表现型分析,我们推测 538C>T 变异 B 基因具有以下特性:当它与 O 基因等位共存时,血清学表现型为正常 B 型,基因型为 OB 型(538C>T)时, B 基因产物(D-半乳糖基转移酶)单独存在,往 H 抗原上转移 D-半乳糖的能力与正常 B101 型相差无几;当它与 A 基因等位共存时,血清学表现型为正定型存在弱凝集 B 抗原,反定型能检出弱抗-B,即基因型为 AB 型(538C>T)时, B 基因产物(D-半乳糖基转移酶)往 H 抗原上转移 D-乳糖的能力被 A 基因产物(N-乙酰氨基半乳糖转移酶)竞争性抑制,导致正定型结果为 A 强 B 弱,显现出亚型表现——这即是它被发现的原因。该患儿 B 变异等位基因的 7 号外显子涵盖了 538C>G 突变位点的部分特异性 CDs 序列已提交 NCBI 国际基因数据库(GeneBank)并被发布,序列号为 kx365163<sup>[15]</sup>。鉴于该亚型表现型与基因突变位点均靠近 B<sub>x</sub> 亚型分类,我们将它命名为 B<sub>x</sub>14 型。

临床报道的亚型大多见于成年人献血者或患者,儿童少见。联合应用血清学方法和基因检测技术对亚型的准确鉴定具有重要作用。本例提醒输血工作人员在对儿童患者群体做输血常规检测时只有认真细致地做 ABO 血型正反定型,才能及早发现一些亚型,以利于保障患儿临床输血安全,并发现新的变异等位基因。该患儿如需输血,可考虑输注 A 型洗涤或 O 型洗涤红细胞。

(致谢:感谢兰炯采教授与中国医学科学院输血研究所田力老师的技术支持与指导!)

**参考文献**

- [1] NCBI.ABO blood group system.2015-11-14[2016-08-17]https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gv/rbc/xslegi.fcgi?cmd=bgmutsystems\_info&system=abo
- [2] 尚红,王毓三,申子瑜.血型血清学检查//尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程,4 版.北京:人民卫生出版社,2014:118-120.
- [3] Olsson ML, Chester MA. GenBank Accession Nrs: AF016622
- [4] Yamamoto F. GenBank Accession Nrs: AF134413
- [5] 王霞,王湘屏,徐新. B<sub>x</sub> 亚型伴抗-B 抗体产生的血型血清学特性分析与输血策略.中南医学科学杂志,2014,42(4):382-384-387.
- [6] 楚强.无偿献血者 B<sub>x</sub> 亚型 1 例报道.检验医学与临床,2013,10(5):636-637.
- [7] 胡文健,傅广成,许先国,等.一种 AB<sub>x</sub> 变异型相关的 B 糖基转移酶基因新突变研究.中华医学遗传学杂志,2012,29(5):566-569.
- [8] 刘伟,李代红,刘纯. B<sub>x</sub> 亚型 1 例的分子生物学鉴定.中南大学学报(医学版),2011,36(12):1213-1216.
- [9] 孙可敬,李艳,郭素红. A<sub>2</sub> B<sub>x</sub> 亚型 1 例.中国民康医学,2011,23



(4):448-510.

[10] 陈阳,王慧,李革飞,等.B<sub>x</sub>亚型血型鉴定 1 例.中国输血杂志, 2009,22(8):677-678.

[11] 梁延连,喻琼,苏宇清,等.B 亚型中 B<sub>x</sub> 新等位基因的鉴定.中国输血杂志,2006,19(1):21-24.

[12] 向东,刘曦,郭忠慧,等.上海地区中国人群中 ABO 亚型的研究.中国输血杂志,2006,19(1):25-26.

[13] 李蓓,李继明,郭忠慧,等.1 例 B<sub>x</sub> 亚型的分子生物学研究.中国输血杂志,2006,19(1):33-34.

[14] Cai XH, Jin S, Xiang D. GenBank Accession Nrs: KF421487.

[15] Zhou GS, Xu XY, Liu X. GenBank Accession Nrs: KX365163.

(2016-10-15 收稿,2017-08-03 修回)

本文编辑:蔡辉

• 论著 •

### 客机运输对不同保存期悬浮红细胞质量影响的研究\*

魏少平<sup>1</sup> 李柱<sup>2</sup> 雷慧芬<sup>1</sup> 祁术元<sup>1</sup> 王洪波<sup>1</sup> 刘娟<sup>1</sup> 樊凤艳<sup>1</sup>(空军总医院 1.输血科 2. 理疗科,北京 100142)

**摘要:目的** 探讨客机运输对不同保存期悬浮红细胞质量及保存期限的影响。**方法** 保存了 10、21、32 d 的培养液为 MAP 配方的悬浮红细胞各 6 袋,每袋红细胞制备时均分为 2 袋,分别进入实验组和对照组。保存了 10、21、32 d 的红细胞依次分 3 批次进行实验。实验组血液分别搭乘播音-737 客机往返飞行 3 h,期间经历 2 次起降。对照组血液到达机场后直接返回医院,放置于本科室储血专用冰箱保存。前 2 批血液分别在飞行结束后及红细胞保存 d 28、d 35 无菌取样 15 mL 进行血细胞计数、红细胞三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、悬浮红细胞上清游离血红蛋白(free hemoglobin, Fhb)、钾离子(potassium, K<sup>+</sup>)和乳酸(lactic acid, LA)浓度检测。第 3 批血液分别在保存 d 21、28、35 无菌取样进行上述指标检测。**结果** 每批次实验结果均显示随着悬浮红细胞保存时间的延长,其上清中 Fhb、钾离子和乳酸水平均有不同程度升高;红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低;红细胞计数结果各项指标均无明显变化。保存 10、21、32 d 后经历 3 h 大型飞机运输的悬浮红细胞在各个检测时间点各项检测指标与对照组相比均无统计学差异。**结论** 客机运输 3 h,期间起飞降落均为 2 次,对保存 10、21、32 d 的悬浮红细胞的质量及保存期限均未产生明显影响。

**关键词:**输血;血液运输;悬浮红细胞;血液保存

**中图分类号:**R457.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1000-04

**Effects of air-born transportation on the quality of suspended red blood cells with different storage time** WEI Shaoping<sup>1</sup>, LI Zhu<sup>2</sup>, LEI Hui fen<sup>1</sup>, QI Shuyuan<sup>1</sup>, WANG Hongbo<sup>1</sup>, LIU Juan<sup>1</sup>, FAN Fengyan<sup>1</sup>. 1. The Department of Blood Transfusion, Air Force General Hospital, PLA, Beijing 100142, China; 2. The Department of Physiotherapy, Air Force General Hospital, PLA. Corresponding author: FAN Fengyan

**Abstract: Objective** To assess whether the air-born transportation affects the quality and shelf-life of suspended red blood cells with different storage time. **Methods** Suspended donated red blood cells (concentrated in MAP) were selected according to storage time with a total of three collections: 10 d, 21d and 32 d. Each selection was prepared with 6 bags of samples and each bag was divided into 2 small bags randomly assigned for the experimental group and the control group (6 small bags each group). The experiment was performed in three batches, one storage period group for each batch. The experimental groups were transported on board a Boeing 737 for a 3-hour return trip with 2 take-offs and 2 landings. The control groups, on the other hand, were transported to the airport in the same vehicle but immediately carried back to the hospital and kept in a special refrigerator. In the first two batches 15ml samples were collected at day 28 and day 35 post transportation for tests including blood cell counts, adenosine triphosphate (ATP) activity level, supernatant free hemoglobin (Fhb) and potassium analysis. Samples from the third batch were collected at 21, 28, 35 days post transportation for the same tests mentioned above. **Results** Data from each experimental batch showed that with the prolonged storage time, supernatant Fhb, potassium, lactic acid increased and level of ATP decreased in the experimental group. Blood cell counts remained the same in the two groups. All data from the experiment groups were the same as from the control groups. **Conclusion** These results suggest that the quality of suspended red blood cells of different storage time are not significantly affected by plane transportation designed in this paper.

**Key words:** blood transfusion; blood transportation; suspended red blood cells; blood storage

在我国,添加液为 MAP、SAGM、CPDA-1 的悬浮红细胞保存期为 35 d,添加液为 AS-1、AS-3、AS-5 的悬浮红细胞保存期为 42 d<sup>[1]</sup>。我国卫生行业标准对血液的运输做了明确要求,但并未对保存多长时间的悬浮红细胞可以进行运输进行限定<sup>[2]</sup>。在人们观念中保存期越短的悬浮红细胞越能适应运输过程中保存条件的变化,不易造成损伤;保存期长的悬浮红细胞适应保存条件改变的能力差,在各种运输条件下造成的损伤越重。虽然自第二次世界大战时飞机运输红细胞成分就已经用于输血治疗<sup>[3]</sup>,但一直未见飞机运输对不同保存期悬浮红细胞质量影响的报道。随着国内近年各地“血荒”事件屡有发生、我们国家大型卫生飞机研制工作的不断推进,研究飞机运输对不同保存期悬浮红细胞质量影响,并为搭乘大型客机运输红细胞或空中医院红细胞保存提供数据支持尤为必要。我们将保存 10、21、32 d 的悬浮红细胞用大型客机进行运输,对红细胞质量进行检测,评估飞机运输对不同保存期悬浮红细胞质量的影响。

## 1 材料与方 法

**1.1 悬浮红细胞制备及分装** 悬浮红细胞采集于 2015 年 8-10 月,均来自健康献血者,性别、血型不限,年龄在 20-45 岁。采集献血员全血 400 mL 于枸橼酸盐-磷酸盐-葡萄糖-腺嘌呤(citrate-phosphate-dextrose-adenine, CPDA)抗凝保存剂三联袋,4℃ 5 000 g 离心 7 min,90% 以上血浆流入转移袋后,将另 1 转移袋内的 MAP 红细胞保存液加入红细胞内代替移出的血浆,制成悬浮红细胞 2 U。将制备好的悬浮红细胞用双连袋平均分成 2 份,(4±2)℃ 保存。

**1.2 实验分组** 本实验分 3 批次进行,每批实验各制备 6 人份悬浮红细胞,第 1、2、3 批实验红细胞保存期分别为 10、21、32 d。每批实验设立实验组和对照组,来自每名献血者的 2 袋血液随机进入实验组或对照组。实验前 2 组血液均置于本科室储血专用冰箱保存。实验时 2 组血液分别装在专用储血箱内,箱体上部放置相变材料作为冷媒,储血箱内放置压力及温湿度记录仪(T7610,德国 Testo),检测探头至于箱体中间部位,夹在 2 袋血液中间。每 5 min 记录 1 次箱内大气压力及温湿度。2 组血液用汽车运输到达机场后实验组血液搭载播音-737 客机往返飞行 3 h,经历 2 次起降,飞行结束后运输至本科室储血专用冰箱保存。对照组血液到达机场后直接返回医院,血液放置于本科室储血专用冰箱保存。3 次血液运输过程中运血箱内温度均控制在 2-8℃,湿度为 35%-80%,大气压力随飞机起落在 840-1 000 mbar 间变动。第 1、2 批血液实验组和对照组分别在飞行结束后,红细胞保存 d 28、35 无菌取血液样本 15 mL 进行检测;第 3 批血液分别在保存 d 21、28、35 取样进行检测。

**1.3 血细胞计数及血液生化指标检测** 取血液样本用全自动全血细胞计数仪(XE-2100,日本希森美康)进行检测。取血液样本分离上清用全自动生化分析仪(7600,日本 Hitachi)检测钾离子(potassium, K<sup>+</sup>)、和乳酸(lactic acid, LA)浓度。

以上检测指标按照国际通用检测原理由经过校准的专用仪器检测,由具有检测资质人员进行操作。

**1.4 红细胞三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)及悬浮红细胞上清游离血红蛋白(free hemoglobin, Fhb)检测** 取血液样本 40 μL 加入装有 1 000 μL 等渗 PBS 缓冲液的 EP 管中摇匀,用沸水 100℃ 加热 10 min,自然冷却后 11 346×g 离心 3 min,取上清液,应用 ATP 检测试剂盒(Human ATP Elisa kit,美国 BD),按照试剂盒说明书进行操作。血浆 Fhb 检测应用 Fhb 检测试剂盒(南京建成),按照试剂盒说明书进行操作。

**1.5 统计分析** 采用 SPSS 18.0 统计学软件,数值以“平均值±标准差”表示,按照重复测量设计资料进行数据方差分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 第 1 批实验结果** 保存 10 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在保存 d 14、28、35 各项检测指标与对照组相比均无统计学差异。随着悬浮红细胞保存时间的延长,其上清中 Fhb、K<sup>+</sup> 和 LA 水平均有不同程度升高(表 1);红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低,红细胞计数结果中红细胞计数(RBC)、血红蛋白浓度(Hb)、红细胞比积(Hct)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MHB)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)均无明显变化(表 2)。

**2.2 第 2 批实验结果** 保存 21 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在保存 d 21、28、35 各项检测指标与对照组相比均无统计学差异。随着悬浮红细胞保存时间的延长,其上清中 Fhb、K<sup>+</sup> 和 LA 水平均有不同程度升高(表 3);红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低,红细胞计数结果各项指标均无明显变化(表 4)。

**2.3 第 3 批实验结果** 保存 32 d 天后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在保存 d 21、28、35 各项检测指标与对照组相比均无统计学差异。随着悬浮红细胞保存时间的延长,上清中 Fhb、K<sup>+</sup> 和 LA 水平均有不同程度升高(表 5);红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低,红细胞计数结果各项指标均无明显变化(表 6)。

表 1 保存 10 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在不同时间点上清生化指标检测结果 (n=6)

检测时间(d)	组别	Fhb	K <sup>+</sup>	LA
		(mg/dL)	(mmol/L)	(mmol/L)
14	对照组	8.8±4.7	16.2±1.4	8.6±1.0
	实验组	11.7±5.9	17.9±1.7	10.0±1.6
28	对照组	14.0±7.8	29.9±3.4	15.0±1.6
	实验组	12.0±4.6	27.1±3.0	16.6±1.1
35	对照组	23.4±9.5	36.2±3.2	18.3±1.6
	实验组	20.9±11.1	37.2±3.4	19.2±2.2

注:实验组与对照组相比,Fhb、K<sup>+</sup> 和 LA 水平均无统计学差异(P>0.05);随保存时间延长,Fhb(P<0.05, F=8.221)、K<sup>+</sup>(P<0.01, F=162.213)和 LA(P<0.01, F=118.092)水平均有不同程度升高

**表 2** 保存 10 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在不同时间点红细胞计数及 ATP 水平检测结果 (n=6)

检测时间(d)	组别	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	Hb(g/L)	Hct(L/L)	MCV(fl)	MHB(pg)	MCHC(g/L)	RDW	ATP(nmol/L)
14	对照组	5.09±0.49	150.2±12.7	0.464±0.044	91.1±2.5	29.5±0.8	324.2±4.4	14.5±0.8	911±92
	实验组	5.49±0.27	161.8±5.4	0.500±0.018	91.1±2.5	29.5±0.8	323.8±3.4	14.4±0.8	1015±99
28	对照组	5.44±0.46	160.7±14.7	0.494±0.043	90.7±2.6	25.9±0.9	325.3±4.7	14.9±0.7	850±43
	实验组	5.59±0.24	165.2±6.7	0.507±0.199	90.7±2.4	29.6±0.9	326.5±3.1	14.7±0.7	812±95
35	对照组	5.40±0.30	158.8±5.9	0.491±0.020	91.0±2.6	25.9±0.9	324.0±2.5	15.0±0.7	735±99
	实验组	5.54±0.38	162.8±9.9	0.506±0.029	91.6±2.9	29.4±0.8	321.5±3.6	14.9±0.7	746±98

注:红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低( $P<0.05, F=19.965$ ),实验组与对照组相比无统计学差异;实验组与对照组相比,RBC、Hb、Hct、MCV、MHB、MCHC 均无统计学差异( $P>0.05$ );3 个时间点的 RBC、Hb、Hct、MCV、MHB、MCHC 均无统计学差异( $P>0.05$ )

**表 3** 保存 21 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在不同时间点上清生化指标检测结果 (n=6)

检测时间(d)	组别	FHb(mg/dL)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	LA(mmol/L)
21	对照组	23.9±15.4	25.1±4.1	11.2±1.4
	实验组	28.3±11.5	27.2±1.9	11.7±1.2
28	对照组	35.3±8.3	21.8±1.1	13.0±0.9
	实验组	36.6±6.0	22.6±1.1	13.1±1.0
35	对照组	35.3±10.7	37.1±2.3	14.3±0.8
	实验组	38.8±15.1	36.9±2.4	14.5±0.7

注:实验组与对照组相比,FHb、K<sup>+</sup>和 LA 水平均无统计学差异( $P>0.05$ );随保存时间延长,FHb( $P<0.05, F=3.387$ )、K<sup>+</sup>( $P<0.01, F=127.371$ )和 LA( $P<0.01, F=27.372$ )水平均有不同程度升高

**3 讨论**

飞机运输是应对战争、自然灾害、突发事件等医疗救援

**表 4** 保存 21 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在不同时间点红细胞计数及 ATP 水平检测结果 (n=6)

检测时间(d)	组别	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	Hb(g/L)	Hct(L/L)	MCV(fl)	MHB(pg)	MCHC(g/L)	RDW	ATP(nmol/L)
21	对照组	5.66±0.70	157.2±20.3	0.484±0.059	85.6±5.5	27.8±2.11	325.0±5.0	13.8±0.8	940±38
	实验组	5.90±1.01	163.8±27.0	0.503±0.082	85.8±5.7	27.9±2.3	325.3±6.3	13.9±0.7	951±43
28	对照组	5.65±0.63	156.2±14.9	0.481±0.043	85.5±5.3	27.7±2.0	324.0±5.6	14.0±0.9	810±47
	实验组	5.64±0.60	155.3±13.3	0.482±0.042	85.7±5.2	27.6±2.1	322.5±5.5	13.9±0.9	831±53
35	对照组	5.67±0.68	155.5±16.1	0.482±0.047	85.3±5.4	27.5±1.9	322.8±3.4	14.0±0.8	691±53
	实验组	5.34±0.37	146.5±10.1	0.453±0.029	85.0±5.6	27.5±2.1	323.2±4.3	14.0±0.8	712±76

注:红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低( $P<0.05, F=67.901$ ),实验组与对照组相比无统计学差异;实验组与对照组相比,RBC、Hb、Hct、MCV、MHB、MCHC 均无统计学差异( $P>0.05$ );3 个时间点的 RBC、Hb、Hct、MCV、MHB、MCHC 均无统计学差异( $P>0.05$ )

**表 5** 保存 32 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在不同时间点上清生化指标检测结果(n=6)

检测时间(d)	组别	FHb(mg/dL)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	LA(mmol/L)
21	对照组	12.4±5.1	28.2±2.6	9.6±1.7
	实验组	8.4±5.8	27.2±3.1	9.7±1.7
28	对照组	13.0±5.7	27.9±2.1	11.8±1.8
	实验组	15.9±10.8	27.8±2.5	11.3±1.8
35	对照组	22.2±13.5	34.3±2.4	12.3±1.1
	实验组	20.9±14.0	34.5±2.9	12.2±1.1

注:实验组与对照组相比,FHb、K<sup>+</sup>和 LA 水平均无统计学差异( $P>0.05$ );随保存时间延长,FHb( $P<0.01, F=8.566$ )、K<sup>+</sup>( $P<0.01, F=110.436$ )和 LA( $P<0.01, F=42.829$ )水平均有不同程度升高

本文中实验结果显示播音-737 客机运输 3 h,期间起飞降落均为 2 次,对保存 10、21、32 d 的悬浮红细胞 K<sup>+</sup>、FHb、LA、ATP、红细胞计数各指标均未产生明显影响,不影响悬浮红细胞飞行运输结束后的保存期限。在我们的实验中客机机舱具有良好增压系统,飞行时运输箱内实时记录的压力大

时远程、快速运输血液的主要方式,但飞机运输时飞机特有的气压、噪声、震动等特点,都有可能在运输过程中对血液质量造成损害,尤其是对保存期较长的血液。有文献报道悬浮红细胞暴露于 1 000、600 和 200 mbar 的压力 1 h,在 d 28、35 和 42 时 600 和 200 mbar 组的溶血率明显高于 1 000 mbar 组<sup>[4]</sup>。范娅涵等<sup>[5]</sup>研究显示汶川大地震时北京红十字血液中心保存期小于 3 d 的悬浮红细胞由北京起飞,经过约 3 h 的飞机运输抵达成都,保存约 20 d 后随机抽取样本再经汽车运输约 5 h 至重庆进行检测(正常对照组为滤除白细胞后保存 20 d 的库存红细胞悬液)。结果显示飞机运输的红细胞悬液中 FHb 明显增高,认为飞机运输时的机械震荡力对红细胞具有明显破坏作用。

部分时间维持在 850 mbar 左右,最低时仍高于 820 mbar,远高于 Klose 等<sup>[4]</sup>研究中直升飞机飞行时舱内的极限压力,因此大型客机运输时压力变化的因素几乎对红细胞质量未产生影响。温度控制被认为血液保存和运输过程中影响其物理功能和治疗效果最重要的影响因素,运输过程中我们运血箱内温度的实时记录结果显示运输过程中温度严格控制在 2-8℃。而且对照组的悬浮红细胞同样经历了往返机场的汽车运输,排除了汽车运输影响,实验组与对照组差异仅仅体现在是否进行约 3 h 的飞机运输。在直升飞机运输悬浮红细胞的实验研究中,Otani 等<sup>[6]</sup>的研究结果显示在更为恶劣的直升飞机运输条件下保存 7 d 的悬浮红细胞经过约 4 h 的中转及运输(空中飞行 115 min,3 次起降),实验组与对照组仅在 d 42 时 FHb 结果具有统计学差异,实验组显著高于对照组,但实验组红细胞溶血率仅为 0.34%,低于 0.8%的欧盟标准,支持我们的实验结果。

**表 6** 保存 32 d 后经历 3 h 大型飞机运输组的悬浮红细胞在不同时间点红细胞计数及 ATP 水平检测结果 ( $n=6$ )

检测时间(d)	组别	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	Hb(g/L)	Hct(L/L)	MCV(fl)	MHB(pg)	MCHC(g/L)	RDW	ATP(nmol/L)
21	对照组	5.47±0.29	157.7±10.4	0.482±0.024	88.5±5.0	29.0±2.1	326.3±7.0	15.1±0.9	846±104
	实验组	5.48±0.26	159.3±14.4	0.481±0.034	88.1±5.4	29.2±2.2	331.3±7.4	15.2±1.0	851±127
28	对照组	5.51±0.33	157.5±12.4	0.487±0.038	88.4±6.2	28.6±2.2	323.8±4.2	14.3±0.9	819±82
	实验组	5.62±0.39	159.8±11.4	0.494±0.030	88.1±6.0	28.5±2.3	323.7±4.5	14.5±0.9	770±93
35	对照组	5.34±0.23	152.5±9.9	0.470±0.027	88.1±6.0	28.6±2.1	324.8±2.3	14.4±0.9	790±90
	实验组	5.73±0.81	162.0±14.4	0.503±0.046	88.3±5.9	28.4±2.0	322.0±3.6	14.4±1.0	730±98

注:红细胞 ATP 水平随保存时间延长显著降低( $P<0.05$ ,  $F=18.930$ ), 实验组与对照组相比无统计学差异; 实验组与对照组相比, RBC、Hb、Hct、MCV、MHB、MCHC 均无统计学差异( $P>0.05$ ); 3 个时间点的 RBC、Hb、Hct、MCV、MHB、MCHC 均无统计学差异( $P>0.05$ )

近年来,我国开展了专用型医学救援飞机的研究论证,提出了依托国产大型运输机开展专用卫生飞机研制的方案,并已开始着手进行研制<sup>[7]</sup>。专用卫生飞机上配备血液是急性大出血紧急治疗和应急实施手术的保障,本研究为飞机上可以运输保存多少天的红细胞及经飞机运输后红细胞保存期提供了数据依据。但本实验中红细胞飞机运输时间仅为 3 h,对各保存期红细胞质量不造成损害的极限飞行时间尚需进一步研究。

(致谢:感谢解放军总医院输血科及汪德清教授对本研究完成给予的支持!)

#### 参 考 文 献

[1] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 全血及成分血质量要求. 2012-05-11.

- [2] 中华人民共和国卫生部. 血液运输要求(卫通[2012]21号). 2012-12-03.
- [3] 雷二庆,李芳,栾建凤. 野战输血史研究. 北京:军事医学科学出版社,2014:11-12.
- [4] Klose T, Borchert HH, Pruss A, et al. Current concepts for quality assured long-distance transport of temperature-sensitive red blood cell concentrates. Vox Sang, 2010, 99(1):44-53.
- [5] 范娅涵,肖瑞卿,李兵,等. 3 种不同运输方式对红细胞悬液质量影响的实验研究. 中国输血杂志, 2008, 21(8):577-580.
- [6] Otani T, Oki K, Akino M, et al. Effects of helicopter transport on red blood cell components. Blood transfus, 2012, 10(1):78-86.
- [7] 安瑞卿,陈良恩,张晓丽. 关于发展我军空中医院的总体构想. 空军医学杂志, 2011, 27(4):185-189.

(2017-01-10 收稿, 08-01 修回)

本文编辑:夏玲

## 《〈中国输血杂志〉创刊 25 周年纪念专辑》出版

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

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

(《中国输血杂志》编辑部)

· 论著 ·

## 无偿献血者 HCV 核心区氨基酸置换情况分析\*

林红<sup>△</sup> 邵雷 胡文佳 王金花 朱珊珊 陈慧 朱绍汶(江苏省血液中心, 江苏 南京 210042)

**摘要:**目的 研究感染 HCV 的无症状献血者基因型和 1b 基因型的核心区氨基酸置换情况。方法 用巢式 PCR 方法扩增 91 个 HCV RNA 阳性献血者标本, 根据直接测序得到的序列用 Mega6.0 软件进行序列比对和进化树构建, 分析基因型和氨基酸置换情况。结果 在 78 个测序结果清晰的样品中, 66 个为基因型 1b (84.6%), 其他基因型为 1a (1, 1.3%)、2a (7, 8.9%)、3b (2, 2.6%) 和 6a (2, 2.6%)。62 个 1b 样品的核心区蛋白 (aa68-120) 发生 17 处氨基酸置换。第 70 位 R70Q、R70P 和 R70H 各 1 例; 第 91 位 L91M 置换非常普遍, 为 87.9%。结论 本研究中献血者感染的 HCV 基因型主要为 1 型, 尤其是 1b 为优势基因型。首次发现中国献血者感染的 HCV 核心区蛋白的氨基酸置换具有独特性。

**关键词:** HCV 基因型; HCV 核心区; 氨基酸置换; 献血者

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 R446.6 R512.6<sup>+</sup>3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X (2017)9-1004-03

**Patterns of amino acid substitution in hepatitis C virus core region among Chinese volunteer blood donors** LIN Hong, SHAO Lei, HU Wenjia, WANG Jinhua, ZHU Shanshan, CHEN Hui, ZHU Shaowen. Jiangsu Province Blood Center, Nanjing 210042, China. Corresponding author: LIN Hong

**Abstract:** **Objective** To estimate the prevalence of genotypes and amino acid substitutions in the HCV core region genotype 1b in blood donors who always were asymptomatic with HCV infection. **Methods** A total of 91 HCV RNA positive samples were amplified by nest-PCR. Then, they were genotyped and the mutations were analyzed by phylogenetic tree according to sequences. **Results** In 78 samples with clear sequences, 66 samples were classified into HCV subtype 1b (84.6%) followed by subtype 2a (10.3%), 6a (3.85%), 1a (1, 1.3%), 2a (7, 8.9%), 3b (2, 2.6%) and 6a (2, 2.6%). Seventeen amino acid substitutions from aa68-120 of Core region were detected in 62 samples. R71Q, R70P and R70H were 1 (1.6%) respectively, but L90M (87.9%) was common. **Conclusion** HCV genotype 1, especially 1b, was the dominant genotype in this investigation. The patterns of amino acid substitution in the core region in blood donors were distinctive.

**Key words:** HCV genotype; HCV core; amino acid substitution; blood donors

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 的持续感染是发展成肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的主要风险因素<sup>[1]</sup>。肝癌的发生与 HCV 蛋白的致癌效应、脂肪变性和胰岛素抵抗、慢性炎症与纤维化、氧化压力以及染色体的不稳定因素有关<sup>[2]</sup>。丙型肝炎的治疗目前主要采用聚乙二醇干扰素 (pegylated interferon, PEG-IFN) 联合利巴韦林 (ribavirin, RBV), 但产生的应答反应差别显著, 主要在于宿主因素 (基因多态性位点, 比如 IL-28B, HLA 等) 和病毒因素。不同基因型 HCV 对联合治疗的应答反应差别显著, 比如感染 HCV 基因型 1b 的患者获得持续病毒学应答 (sustained virological response, SVR) 差<sup>[3]</sup>, 说明病毒自身可影响感染干扰素疗效, 并提示可从 HCV 自身进化和遗传差异中分析原因。临床研究发现 HCV 的 Core 蛋白第 70 位精氨酸 (R) 置换为谷氨酸 (Q) (R70Q) 或者第 91 位亮氨酸 (L) 置换为甲硫氨酸 (M) (L91M) 等位点的氨基酸置换在 SVR 和无 SVR 组间存在差异, 尤其是 1b 型患者。因此, 认为 70Q/91M 变异是无

SVR 产生的独立预测因子<sup>[4]</sup>。本研究对 HCV 感染献血者感染的 HCV 基因型及其 Core 蛋白功能区氨基酸替换类型进行分析, 了解献血者感染的 HCV Core 区氨基酸替换情况, 为其进行治疗提供参考依据。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 2013-2016 年间搜集 223 例抗-HCV 双阳性献血者标本, 经 COBAS Taqman HCV Test 确认 HCV RNA 阳性标本 (荧光定量 PCR 法) 91 例, 检测限为 15 IU/mL, 病毒血症率为 40.8%。59 例为男性, 32 例为女性。HCV RNA 病毒载量为 (2.4×10<sup>3</sup>-7.1×10<sup>6</sup>) IU/mL。

**1.2 HCV RNA Core 区扩增** 用 QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) 从 200 μL 血清中提取总 RNA, 提取步骤按试剂盒说明书操作, 溶于 50 μL Elution buffer, -80℃ 保存。提取得到的 RNA 样品采用 Promega RT reagent kit 反应体系及条件进行逆转录。反应体系: 5× primescript buffer 2 μL, CR1、CR2 和 Olig(T) 各 0.5 μL, RT mix 1.5 μL, HCV RNA 5 μL, 共 10 μL。反应条件如下: 65℃ 5 min; 42℃ 60 min; 95℃ 5 min; 4℃ 保存。采用巢式 PCR 方法进行 2 轮 PCR 扩增 HCV Core 区。引物序列、PCR 反应体系与反应条件与文献 [5] 相同。扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测目的条

带(385 bp)。

**1.3 HCV 基因分型** 将 HCV RNA 巢式 PCR 阳性标本的目的条带切胶回收、纯化、测序,利用 MEGA version 6.06 软件与来源于 GeneBank 数据库的 38 个参照序列(见图 1 进化树)进行序列比对和系统进化分析,确定标本的 HCV 基因型,分析突变位点。

**1.4 统计学分析** 用 SPSS(19.0)统计分析软件处理数据。Pearson Chi-square test 用来比较各组间性别比例的差异。 $P < 0.05$  表示对比组间差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 献血者感染的基因型** 对 91 例 HCV RNA 阳性献血者的 RNA 进行扩增,成功扩增 80 例,经测序后,用 ClustalW 程序进行序列比对,其中 2 例的基因序列紊乱,无法进行分型,用 Mega 软件对 78 例测序结果构建进化树(图 1)。结果显示共有 4 种基因型,1 型(67)、2 型(7)、3 型(2)和 6 型(2),分别占 85.9%、8.9%、2.6% 和 2.6%。其中基因型 1b 有 66 例,占 84.6%,其余 HCV 基因型分别为 1a(1,1.3%)、2a(7,8.9%)、3b(2,2.6%) 和 6a(2,2.6%)。

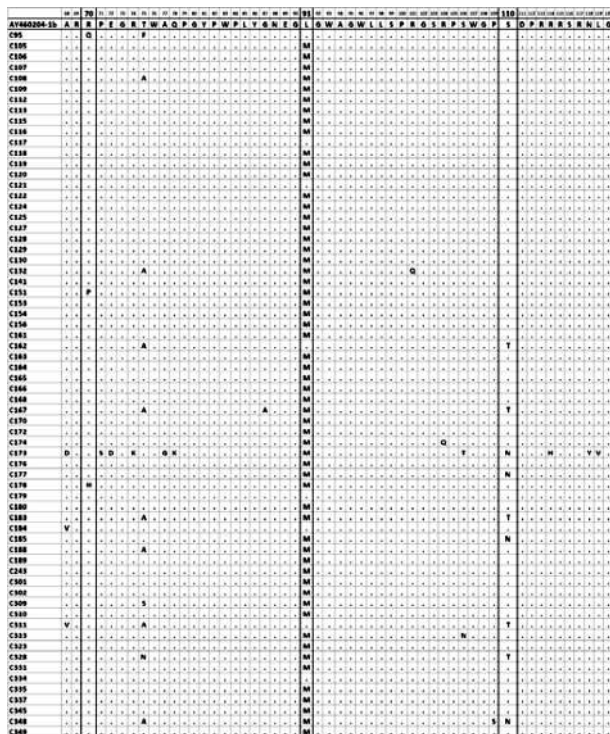
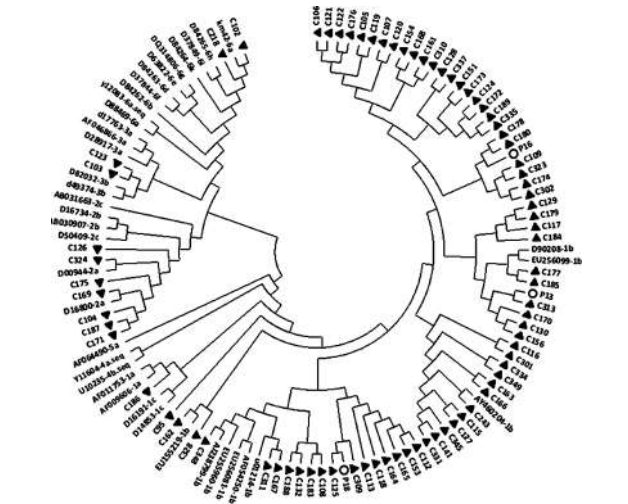


图 2 HCV Core 区置换情况



▲:HCV 感染献血者标本号,○:感染 HCV 的病人标本号,其余为 38 个参考序列

图 1 献血者 HCV Core 区的进化树

**2.2 基因型 1b 的 HCV Core 区氨基酸置换情况** 用 Mega 软件与参考序列进行比对,转变为氨基酸后,发现 66 个感染 1b 基因型 HCV 的样品中只有 4 个(C117、C121、C179 和 C334)未发生氨基酸置换,62 个样品中发生 17 处置换。就第 70、91 和 110 位点而言,其中仅有 1 例(编号 C95)献血者感染的 1b HCV 的 Core 区第 70 位精氨酸(Arg, R)置换为谷氨酰胺(Glu, Q),1 例(编号 C151)置换为组氨酸(His, H),另有 1 例(编号 C178)置换为脯氨酸(Pro, P);第 91 位的亮氨酸(Leu, L)转换为甲硫氨酸(Met, M)有 58 例,占 87.9%;第 110 位丝氨酸(Serine, S),5 例置换为苏氨酸(Thr, T),4 例置换为天冬酰胺(Asp, N)。仅有 2 例 70 和 91,7 例第 91 和 110 同时发生置换,没有发现 3 个位点同时发生置换的情况(图 2)。

**2.3 HCV Core 区氨基酸置换献血者特征比较** 比较 66 名献血者感染 1b 基因型 HCV Core 区氨基酸置换情况与性别和年龄的关系,发现发生氨基酸置换与未发生氨基酸置换之间、男女性别之间以及年龄之间,氨基酸置换情况与献血者特征之间均没有统计学差异( $P > 0.05$ )。比较双氨基酸位点突变的 8 名献血者,男女各 4 名,发现其病毒滴度均较高(表 2),且多为本地献血者,ALT 值均合格,未发现 R70Q 和 L91M 同时置换。

表 1 献血者特征与 HCV Core 区氨基酸置换之间的关系比较

	未置换	单氨基酸位点置换			双氨基酸位点置换	
		70	91	110	70/91	91/110
人数(%) (n=66)	4(6.1)	3(4.5)	58(87.9)	9(13.6)	2(3.0)	6(9.1)
性别						
男(n=39)	3	0	33	5	0	2
女(n=27)	1	3	25	4	2	4
年龄						
范围	19-36	19-23	19-52	19-52	19-23	19-52
平均值	25.3	20.3	29.1	34.8	21	37.5

表 2 双氨基酸位点置换的 8 名献血者特征

性别	年龄(岁)	籍贯	ALT (IU/mL)	病毒滴度 (IU/mL)	氨基酸置换			检测时间	
					R70	L91	S110		
C151	女	19	江苏	28.6	$4.8 \times 10^5$	P	M	T	2014 年
C167	男	23	江苏	15.3	$1.5 \times 10^5$	R	M	T	2015 年
C173	男	52	河南	41.9	$1.4 \times 10^6$	R	M	N	2015 年
C177	女	36	江苏	24.5	$3.9 \times 10^6$	R	M	N	2015 年
C178	男	36	陕西	20.9	$1.7 \times 10^6$	H	M	T	2015 年
C183	女	21	江苏	37.7	$7.1 \times 10^6$	R	M	T	2015 年
C328	男	19	江苏	16.8	$2.7 \times 10^6$	R	M	T	2016 年
C348	女	50	河北	48.9	$1.1 \times 10^6$	R	M	N	2016 年

**3 讨论**

本研究中的所有 HCV RNA 阳性献血者的病毒载量都高于  $10^3$  IU/mL, 所以巢式 PCR 大都能成功扩增,并获得清晰测序结果进行基因型和氨基酸置换分析。结果显示,本地献血

者感染的 HCV 基因型以 1 型为主,尤其是 1b,为优势基因型,与之前的研究结果一致<sup>[5]</sup>,意味着本地区献血者感染的 HCV 基因型分布较为稳定。

HCV 感染常常慢性化,并导致肝硬化或者肝细胞癌。目前,HCV 感染后的治疗常规利用干扰素配合其他抗病毒药物,如利巴韦林(ribavirin,RIB)进行。亚洲地区人群感染的 HCV 大都为基因型 1b,并且病毒载量高,对于这种联合疗法的应答效果不理想。Akuta 等<sup>[6]</sup>认为 HCV Core 区氨基酸替代是肝细胞癌的 1 个重要预测因素,尤其是 R70Q 或者 R70H,会影响抗病毒治疗的应答,不能清除 HCV RNA,从而发展为肝细胞癌<sup>[7]</sup>。台湾科学家在 147 名接受抗病毒治疗的 HCV 感染引起的肝病或者肝细胞癌患者中发现有 45% 发生氨基酸置换,第 70 位和第 91 位的氨基酸置换率分别为 41.5% 和 60.5%,且在重症肝硬化患者中比例更高,且未发生氨基酸置换患者的应答率高于氨基酸置换患者的<sup>[8]</sup>。在伊朗慢性丙肝病人中,发生第 70 位氨基酸置换的患者感染 HCV1b 基因型的频率高于其他基因型,且 R70Q 与肝硬化的风险增加显著相关<sup>[9]</sup>。

目前对于无症状 HCV 感染献血者核心区氨基酸置换的研究不多。在 114 名抗-HCV 阴性,RNA 阳性日本献血者<sup>[10]</sup>中,基因型 1b 不是优势基因型,仅占 21.2%,但 70Q 和 91M 的替换频率(均为 38.9%)高于其他基因型。本研究中感染基因型 1b 的献血者占绝大多数(84.6%),仅发现 70Q、70P 和 70H 各 1 例(1.6%);91M 的替换率(85.3%)远远高于日本献血者(7/18)。本研究中这 2 个位点同时发生置换的仅有 2 人(3.0%),远远低于日本献血者(7/18)。如果这 2 个位点的置换,尤其是 70Q 对疾病进展和抗病毒治疗效果有预测作用,那么,对于本研究中的献血者来说,感染的 HCV 可能并不影响疾病进展或治疗效果。这仅仅是 1 个推测,还需要扩大标本量以及对本地区感染 HCV 患者进行相应调查做出进一步分析。

本研究首次对中国献血者感染的 HCV 核心区突变进行检测,发现核心区其他位置也有置换,比如 75 和 110 等氨基酸位点。朱季香等<sup>[11]</sup>认为 HCV Core 区第 70、91 和 110 这 3 个位点可作为核心区预测干扰素疗效的优选氨基酸位点,但本研究中未发现 3 个位点同时发生氨基酸置换,其中 2 个位点发生置换的频率也较低(<10%)。比较这 3 个氨基酸置换位点与献血者性别和年龄之间的关系,发现没有统计学差异,这与近年来本地区感染 HCV 献血者特征相一致<sup>[12,13]</sup>。但从表 3 列出的 8 个双氨基酸位点突变的献血者特点可以看出,其病毒滴度普遍较高。因此,HCV RNA 核心区个别或者多处氨基酸置换对于献血者来说,是否影响感染 HCV 后

的病毒清除能力、疾病进展以及抗病毒治疗效果还未可知,需要进一步对这类献血者进行较长时间的随访、调查和分析。

## 参考文献

- [1] Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: a global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010, 7(8): 448-458.
- [2] Lin MV, King LY, Chung RT. Hepatitis C virus-associated cancer. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 345-370.
- [3] Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatol*, 2007, 46(5): 1357-1364.
- [4] El-Shamy A, Shoji I, Saito T, et al. Sequence heterogeneity of NS5A and core proteins of hepatitis C virus and virological responses to pegylated pegylated-interferon /ribavirin combination therapy. *Microbiol Immunol*, 2011, 55(6): 418-426.
- [5] 朱绍汶,林红,毛平等. 江苏地区无偿献血者 HCV 基因型的分布. *中国输血杂志*, 2016, 29(2): 131-134.
- [6] Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatol*, 2007, 46(5): 1357-1364.
- [7] Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, et al. Amino acid substitutions in hepatitis C virus core region predict hepatocarcinogenesis following eradication of HCV RNA by antiviral therapy. *J Med Virol*, 2011, 83(6): 1016-1022.
- [8] Hsu SJ, Hsu CS, Liu CH, et al. HCV core gene polymorphisms correlate with liver fibrosis but not sustained virological response in patients with genotype 1 infection. *Antivir Ther*, 2011, 16(2): 227-235.
- [9] Kadjabaf D, Keshvari M, Alavian SM, et al. The prevalence of hepatitis C virus core amino acid 70 substitution and genotypes of polymorphisms near the IFNL3 gene in Iranian patients with chronic hepatitis C. *Hepat Mon*, 2016, 16(6): e37011.
- [10] Furu Y, Hoshi Y, Murata K, et al. Prevalence of amino acid mutation in hepatitis C virus core region among Japanese volunteer blood donors. *J Med Virol*, 2011, 83(11): 1924-1929.
- [11] 朱季香,何长龙,郭艳等. HCV 核心蛋白氨基酸替换与干扰素应答的关系. *第三军医大学学报*, 2013, 35(9): 880-885.
- [12] 朱绍汶,陈显,王金,等. 2011-2012 年南京地区无偿献血人群丙型肝炎病毒感染情况分析. *临床血液学杂志*, 2013, 26(10): 718-720.
- [13] 许剑锋,朱绍汶,蒋昵真,等. 江苏地区无偿献血人群 HCV 流行病学调查. *南京师大学报(自然科学版)*, 2016, 39(2): 73-77.

(2017-02-06 收稿,06-05 修回)

本文编辑:夏玲

## 六种 HIV 酶免血液筛查试剂的评价\*

刘宜仲 陈爱华 彭佛喜 黄守民 张煜 刘艺庆 杨魁 钟瑜 王琰琨(深圳市宝安区中心血站,广东深圳 518101)

**摘要:目的** 探讨血站实施 HIV 核酸检测后酶免 ELISA 试剂如何进行取舍,与核酸检测形成良好互补,降低 HIV 检测风险。**方法** 应用艾滋血清盘对试剂灵敏度、特异性进行评估,使用室间质评血清进行比对;同时采用 2 遍酶免 1 遍核酸检测的方式对无偿献血标本进行 HIV 平行检测,筛查反应性标本送疾病预防控制中心(CDC)进行确认。**结果** 质评结果均为 100%,血清盘检测 6 种试剂敏感性均为 100%,特异性其中 1 种试剂为 95%,其余为 100%,2 种酶免试剂对无偿献血标本平行筛查时发现 1 例窗口期标本无法被其中 1 种试剂检测出。**结论** 试剂整体符合检测要求,但不同厂家试剂检测水平有一定差异,血液筛查试剂选择时应应对检测试剂进行综合评估,以选择临床检测灵敏度较高产品为佳。

**关键词:**血站;无偿献血;ELISA;HIV;核酸检测

**中图分类号:**R466.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1007-03

**Evaluation of six HIV ELISA kits in blood screening** LIU Yizhong, CHEN Aihua, PEN Foxi, HUANG Shoumin, ZHANG Yu, LIU Yiqing, YANG Shu, ZHONG Yu, WANG Yingkun. Shenzhen Baoan District Central Blood Station, Shenzhen 518101, China

**Abstract: Objective** In this study we evaluated the performance of 6 HIV ELISA( ) kits in reducing the risk of HIV screening after nucleic acid testing(NAT) for blood bank applications. **Methods** Six ELISA reagents were processed with HIV serum panel and external quality control serum. The blood samples were screened by two different HIV ELISA reagents and one NAT reagent. The HIV-reactive samples were sent to CDC for confirmatory test using western blot. **Results** External quality assessment(EQA) results were 100% across all samples with 100%, sensitivity. In specificity tests, one reagent presented a specificity of 95% while the rest all reached 100%. Two of the reagent were then selected for a parallel blood screening test, where one of the reagent failed to identify the HIV infected sample. **Conclusion** We confirmed that these screening reagents, though presented acceptable overall results, did exhibit slight differences in several categories. Therefore, we suggest that reagents quality evaluations be comprehensive analysis and that reagent with higher sensitivity be preferred.

**Key words:**blood bank;voluntary blood donation;ELISA;HIV;NAT

《血站技术操作规程》(2015 版)<sup>[1]</sup>自 2016 年 3 月 1 日执行,采供血机构传染病检测项目(HIV、HBV、HCV)需包括病毒核酸检测,并提到“实施核酸检测试剂批签发之前,HIV、HBV 和 HCV 感染标志物应采用 2 遍血清学检测和 1 遍核酸检测,血清学检测应采用 2 个不同生产厂家的试剂;实施核酸检测试剂批签发之后,HIV、HBV 和 HCV 感染标志物应采用核酸和血清学检测 2 种方法各进行 1 次检测”。那么在核酸检测试剂批签发后血清学检测试剂即可减少 1 遍,如何进行有效取舍非常重要,本文就 HIV 酶免试剂的选择进行评估,阐述如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 标本来源** 广东省室间质评血清 5 人份,编号:20160101-20160105,卫生部室间质评血清 5 人份,编号:1651-1655。康彻斯坦抗-HIV 血清盘,批号:201601008,本抗-HIV 血清盘有标本 46 份,其中阴性 20 份(1-20),阳性 20 份(21-40),其中第 27 号为 HIV-II 型抗体,其余为 HIV-I 型

抗体,梯度稀释标本 5 份(其中 L5 为基质液,其他 4 份为阳性梯度稀释标本,浓度水平依次为:约 8 NCU/mL,约 4 NCU/mL,约 2 NCU/mL,约 1 NCU/mL),1 份(2 支)精密度标本(浓度约为 4 NCU/mL)。2016 年 1 月-2016 年 12 月深圳市宝安区无偿献血标本共 33 195 人份。

**1.2 仪器与试剂** 全自动加样仪(瑞士 HAMILTON AT+2,深圳爱康 Xantus)和全自动酶免分析仪(瑞士 HAMILTON FAME24/20)、移液器、Procleix TIGRIS 核酸检测仪(Gen-Probe Incorporated-盖立复医药咨询)。人类免疫缺陷病毒抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)试剂 1-4,批号分别为 2015112012、201509131、H20150307、2015106620,人类免疫缺陷病毒抗原抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)试剂 5 及 6,批号分别为 5F0329、D380810;血液常规筛查平行检测使用试剂 1 批号:2016040208、2016050408、2016060508,试剂 4 批号:2015086619、2015106620,试剂 5 批号:5F0329,试剂 6 批号:D363810、D380810、D412710、D417510、D438210;所用试剂均有中国食品药品监督管理局检验合格报告,操作严格按试剂盒说明书进行。核酸检测使用 Gen-Probe Incorporated(盖立复医药咨询)配套试剂 Procleix Ultrio Plus Assay,批号分别为 129872、136308、146960、149043。



**1.3 方法** 各酶免试剂使用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 对血清盘、质评血清进行评估试验,同时使用 2 种试剂对无偿献血标本进行平行筛查检测,筛查反应性标本送 CDC(疾病预防控制中心)使用免疫印迹试验(WB)对标本进行确认,核酸使用 TMA(转录介导扩增技术)-化学发光法对标本进行 HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA 3 项目联合检测,检测反应性标本再进行单项目鉴别试验,以鉴别是何种项目反应或假反应。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS17.0 进行  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为

差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 室间质评血清检测结果** 广东省临检中心 20160101-20160105 检测结果分别为阳性、阴性、阳性、阳性、阴性,与临检中心反馈确认结果一致,成绩均为 100%;卫生部临检中心 1651-1655 检测结果分别为阴性、阳性、阴性、阴性、阳性,与临检中心反馈确认结果一致,成绩均为 100%,具体检测值见下表 1。

**表 1 室间质评检测结果**

试剂 (S/CO)	广东省(2016年-)					卫生部				
	0101	0102	0103	0104	0105	1651	1652	1653	1654	1655
试剂 1	4.22	0.02	6.10	9.28	0.02	0.03	13.04	0.02	0.02	11.99
试剂 2	4.83	0.08	9.53	12.00	0.16	0.05	12.00	0.06	0.18	12.00
试剂 3	5.81	0.09	10.89	17.68	0.37	0.07	20.00	0.05	0.13	20.00
试剂 4	3.44	0.04	8.25	12.64	0.02	0.02	20.00	0.03	0.02	20.00
试剂 5	1.12	0.48	5.63	8.95	0.50	0.61	10.83	0.59	0.56	9.67
试剂 6	1.02	0.37	1.07	1.09	0.43	0.42	11.64	0.42	0.50	11.70
反馈结果	阳性	阴性	阳性	阳性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阳性

**2.2 HIV 血清盘检测结果** 20 份阴性参考品检测结果除试剂 1 第 12 号标本结果为假阳性外其余均为阴性,试剂 1 特异性为 95% (19/20),其余 5 种试剂特异性为 100% (20/

20),20 份阳性参考品检测结果均为阳性,敏感性为 100% (20/20),阳性梯度稀释标本(L1-L5,L5 为基质液)及精密度标本(CV)结果见下表 2。

**表 2 血清盘阳性梯度稀释标本及精密度标本检测结果**

	试剂 1		试剂 2		试剂 3		试剂 4		试剂 5		试剂 6	
	结果	S/CO	结果	S/CO	结果	S/CO	结果	S/CO	结果	S/CO	结果	S/CO
L1	+	13.04	+	12.00	+	20.00	+	20.00	+	5.32	+	4.95
L2	+	12.92	+	12.00	+	17.72	+	11.84	+	3.32	+	2.70
L3	+	8.77	+	11.34	+	11.00	+	7.99	+	1.92	+	1.41
L4	+	3.63	+	6.61	+	6.47	+	4.67	+	1.24	±	0.90
L5	-	0.02	-	0.52	-	0.36	-	0.02	-	0.50	-	0.39
CV	+	12.82	+	12.00	+	17.87	+	12.47	+	3.45	+	2.64
CV	+	12.67	+	12.00	+	17.73	+	14.49	+	3.22	+	2.75

**2.3 无偿献血标本平行筛查检测结果** 对标本进行 2 遍酶免 1 遍核酸平行检测,其中核酸检测与 2 遍酶免检测均为阳性结果 17 人份,经 CDC 确认均为抗-HIV 阳性,占 0.05% (17/33 195);核酸检测与单一酶免试剂(试剂 6)为阳性结果 1 人份,经 CDC 追踪确认为抗-HIV 阳性;单核酸检测阳性结果 153 人份,占 0.46% (153/33 195),经鉴别试验其中 56 例为 HBV-DNA 阳性,鉴别试验阳性率为 36.6% (56/153),其余均为阴性,未出现单核酸检测阳性酶免阴性确认为抗-HIV 阳性的标本。两遍酶免检测中检一筛查阳性率为 0.09% (29/33195),确认阳性率为 58.6% (17/29),检二筛查阳性率为 0.24% (79/33195),确认阳性率为 22.8% (18/79),酶免具体见下表 3。

**表 3 33 195 份无偿献血标本酶免平行检测结果**

	检一		合计
	筛查阳性/ 确认阳性	筛查阴性	
检二 筛查阳性/确认阳性	18/17	61/1	79/18
筛查阴性	11/0	33 105	33 116/0
合计	29/17	33 166/1	33 195/18

注:1)检一为国产试剂,2016 年 1-6 月使用试剂 4,7-12 月使用试剂 1;检二为进口试剂,2016 年 1 月使用试剂 5,2-12 月使用试剂 6;2)双试剂筛查阴性结果无需进行再次确认,即为最终检测结果;3)筛查阳性率比较  $\chi^2 = 23.186, P < 0.01$ ,确认阳性率比较  $\chi^2 = 12.436, P < 0.01$

**3 讨论**

2016 年 3 月 1 日起国家采供血行业标准《血站技术操作规程》(2015 版)<sup>[1]</sup>规定抗-HIV 检测除核酸检测外血清学检测可选用酶联免疫吸附试验(ELISA)或化学发光免疫分析试验(CLIA)。目前化学发光检测因检测设备、试剂的注册及成本问题等未在血站常规开展,仅停留在科研试验阶段,故目前血站在增加 1 遍核酸检测后,仍然使用酶免试剂(ELISA)检测人类免疫缺陷病毒(HIV)抗原及抗体。虽然核酸检测有缩短窗口期的特点,但是抗原抗体具备在外周血中持续存在时间较长的特点,ELISA 对变异及亚型的检出概率与 NAT 对突变及基因型在检测概率上相互补充,ELISA 检测对确保用血安全仍有相当重要的意义<sup>[2]</sup>。

对 6 种试剂采用室间质量评价及血清盘进行评估,结果显示 6 种试剂参加广东省及卫生部临检中心质量评价结果均为 100%,结果符合要求;血清盘评估 6 种试剂对阳性参考品检测灵敏度均为 100%,未出现漏检现象,灵敏度达到要求,特异性检测 5 种试剂为 100%,其中 1 种试剂(试剂 1)出现 1 例假阳性反应,特异性为 95%,这可能为该试剂本身的非特异反应,也可能是工作人员对评估血清加样时吸到部分纤维蛋白絮状物引起的非特异性反应;血清盘基质液 L5 检

测结果均为阴性,基质干扰符合要求,各评估试剂精密度标本 CV 重复检测符合要求。

对比检测 S/CO 值,各试剂有一定差异,总体上国产试剂(试剂 1-4)检测值较高,进口试剂(试剂 5、6)检测值较低,质评血清中试剂 3 对各阳性标本检测 S/CO 均较高,在测评中有较高的灵敏度,血清盘梯度稀释低浓度 L4 标本(约 1 NCU/mL)试剂 2 及试剂 3 检测 S/CO 值仍然大于 6.0,而进口试剂 5 为弱阳性,S/CO 值为 1.24,试剂 6 S/CO 值为 0.90,处在检测灰区(0.90-1.00)范围,进口试剂抗体检测 S/CO 值较低推测为试剂原因,试剂 6 在本站日常使用中室内质控使用浓度为 4 NCU/mL,检测 S/CO 均值在 2.65 左右(血清盘同浓度 L2 值为 2.70),而浓度为 2 NCU/mL 质控血清检测 S/CO 均值在 1.50 左右(血清盘同浓度 L3 值为 1.41),相同浓度检测值接近。这说明国产试剂与进口试剂在检测微板抗原包被上有一定区别,不同试剂厂家对检测试剂包被的片段有不同浓度及侧重点,对不同血清带检测能力有一定差异,不同地区在选择试剂时,可根据当地人群 HIV 感染抗体血清学分型而侧重选择该地区分型抗体检测能力较强的试剂。

对无偿献血标本进行常规检测,结果显示 2 种酶免试剂检测阳性率有一定差异( $P < 0.01$ ),检二使用试剂筛查阳性率较高,并筛查出 1 例单试剂(试剂 6)阳性标本经追踪确认为阳性。此单试剂阳性标本经核酸(HIV-RNA)检测为阳性,CDC 检测硒标法阴性,免疫印迹法可疑(gp160 可疑),1 个月后再次采血血站检测转为双试剂阳性,CDC 检测硒标法阳性,免疫印迹法阳性(P24、gp120、gp160 阳性),证实为感染窗口期标本。此标本检测两遍酶免试剂均为第 4 代 HIV 检测试剂,这说明第 4 代试剂在增加 HIV P24 抗原检测后,虽然其检测灵敏度得到提高,但试剂间检测水平仍然有一定差异<sup>[3]</sup>,在血液筛查时首先应选择灵敏度较高的试剂以降低临床用血风险。从表 3 可看出检二试剂在灵敏度提高的同时筛查假阳性也较高,其确认阳性率较低,特异性有所降低,这就不可避免淘汰掉很大部分假阳性献血者,不利于提高重复无偿献血比率,影响无偿献血热情,也不能保证献血者权益,不仅造成了本来就紧缺的血源(献血者)的流失,也对献血者也造成了一定程度的心理阴影<sup>[4-6]</sup>,因此,需对假阳性献血人群建立适合的归队策略,保障献血者权益<sup>[7-9]</sup>。

平行检测发现 1 例双试剂阳性确认阴性标本,此标本确认时硒标法阳性,免疫印迹法可疑(P24、gp160 阳性),1 个月后 CDC 再次检测为阴性,之后未能再追踪到。姚栋等<sup>[10]</sup>认为由于 HIV 确证试验只是检测血液中存在各种 HIV 蛋白

的抗体,并不检测 P24 抗原,因此第 4 代试剂与确证试验结果的一致性相对较低。对于第 4 代试剂初筛阳性确证试验阴性的人群,可进一步随访,以避免由于 HIV 感染后抗体还没有出现阳转而导致漏检<sup>[11]</sup>。

本次评估血清盘为抗体血清盘,缺少对 HIV 抗原的评估,通过常规平行检测亦发现试剂 6 检测出低浓度窗口期标本,而其在血清盘及质评血清评估中检测 S/CO 值均相对较低,这说明评估血清的灵敏度不能完全代表试剂的临床检测灵敏度,对试剂的选择应进行综合评估判断。我们认为在实施核酸检测试剂批签发前,2 遍酶免试剂可选择临床检测灵敏度较高的试剂,搭配当地 HIV 感染人群血清学分型检测能力较强的试剂;核酸试剂批签发后在条件许可的情况下建议选择临床检测灵敏度较高的试剂。

## 参考文献

- [1] 国卫医发〔2015〕95 号附件.血站技术操作规程(2015 版), 2015:15-16.
- [2] 曾劲峰,郑欣,许晓绚.ELISA 检测与 NAT 在血液筛查应用中的互补性研究.中国输血杂志,2012,25(10):1012-1014.
- [3] 熊志高,刘昕晨,谭艳阳.株洲市无偿献血者 HIV 感染率及初筛与确证试验结果分析.中国输血杂志,2016,29(4):406-408.
- [4] Tynell E, Norda R, Ekermo B, et al. False-reactive microbiologic screening test results in Swedish blood donors-how big is the problem? A survey among blood centers and deferred donors. Transfusion, 2007, 47(1):80-89.
- [5] Whittaker S, Carter N, Arnold E, et al. Understanding the meaning of permanent deferral for blood donors. Transfusion, 2008, 48(1):64-72.
- [6] Delage G, Myhal G, Gregoire Y, et al. Donors' psychological reactions to deferral following false-positive screening test results. Vox Sang, 2014, 107(2):132-139.
- [7] 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.
- [8] 李玲,刘忠.初筛反应性献血者确证方案与归队策略分析.中国输血杂志,2016,29(1):1-2.
- [9] 王东,邓雪莲,王新梅. HIV 血清学假阳性献血者的归队条件探究.中国输血杂志,2016,29(1):16-20.
- [10] 姚栋,肖姗,张如胜,等.第四代 HIV 初筛试剂在血液筛检中的应用评价.实用预防医学,2012,19(10):1567-1568.
- [11] 王照军,周子昱,孟宪军.第 4 代 HIV 抗原抗体酶联检测试剂质量评估.临床血液学杂志,2014,27(4):325-327.

(2017-03-13 收稿,06-15 修回)

本文编辑:夏玲

· 论著 ·

# Diego 血型基因分型方法的建立及西安地区多态性分布研究

左琴琴 王红 吴大洲 毛娟 徐华<sup>△</sup>(陕西省血液中心, 陕西 西安 710061)

**摘要:目的** 建立降落 PCR 技术检测 Diego 血型基因的方法,并对西安地区献血者 Diego 血型基因多态性分布进行分析研究,同时建立 Diego 稀有血型库。**方法** 建立了降落 PCR 检测 Diego 血型基因的方法,并采用抗-Dia 和商品化基因分型试剂盒进行验证,以及基因测序做进一步确认。对西安地区 1068 名献血者提取基因组 DNA,进行 Diego 血型基因分型。**结果** 建立了检测 Diego 血型基因的降落 PCR 方法,用此方法共检测到 Di(a+b-)1 例,Di(a+b+) 52 例,Di(a-b+) 1 015 例,未检测到 Di(a-b-) 样本。献血者中 Dia 抗原的表达频率为 0.049 63, Dib 抗原的表达频率为 0.999 06。**结论** 本研究成功建立了降落 PCR 技术检测 Diego 血型基因的方法,并对西安地区献血者的 Diego 血型进行筛查和分析,获得其多态性分布数据。

**关键词:** Diego 血型;降落 PCR;基因多态性;基因频率

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1010-03

**Establishment of genotyping for Diego blood group and study on Xi'an area polymorphism distribution** ZUO Qinqin, WANG Hong, WU Dazhou, MAO Juan, XU Hua. Shaanxi Blood Center, Xi'an 710061, China. Corresponding author: XU Hua

**Abstract: Objective** To establish a method for detection of Diego blood group gene by Touchdown PCR, and to analyze the distribution of Diego blood group polymorphism of blood donors in Xi'an area, and to establish the rare blood group pool of Diego. **Methods** Diego gene was detected by Touchdown PCR, and anti-Dia serum and commercial genotyping kits were used to verify the results, then sequenced. Genomic DNA was extracted from 1 068 blood donors in Xi'an area, and Diego blood group genotyping was performed. **Results** The Touchdown PCR method for the detection of Diego blood group gene was established. 1 Di(a+b-), 52 Di(a+b+), 1 015 Di(a-b+) and no Di(a-b-) were detected in all of the samples. In blood donors, the expression frequency of Dia antigen was 0.04963, and Dib antigen was 0.99906. **Conclusion** In our study, we successfully established a method to detect the Diego blood group gene by touchdown PCR, and screened and analyzed of Diego blood group of blood donors in Xi'an area, and obtained the data of its polymorphism distribution.

**Key words:** Diego blood group; touchdown PCR; polymorphism; frequency

Diego 血型最早在 1955 年由 Layrisse 等<sup>[1]</sup>报道,发现于委内瑞拉的 1 例新生儿溶血病中。Diego 血型系统具有临床意义的一对抗原为 Dia 和 Dib,呈显性遗传,在新生儿期就有很强表达,且抗原性较强,抗-Dia 和抗-Dib 属于 IgG 类抗体,可以引起新生儿溶血病和溶血性输血不良反应。Dia 和 Dib 抗原的分子基础是 Diego 基因第 19 外显子 2561 位上碱基存在 T>C 的置换,使得 854 位的氨基酸由亮氨酸变为脯氨酸。本研究以此为基础,建立了降落 PCR 方法来进行 Diego 血型基因分型,检测样本 Dia(DI1)和 Dib(DI2)的基因,可应用于 Diego 血型的筛选,以保证临床安全、有效及科学的输血等,并对西安地区无偿献血者的 Diego 血型基因多态性分布进行分析,现报道如下。

## 1 材料与与方法

**1.1 样本** 2016 年 6-9 月西安地区 1 068 名非血缘关系献血者,排除重复献血的样本。

**1.2 试剂与仪器** 抗-Dia(IgG;CE-Immundiagnostika GmbH, Germany,批号:2017-11);抗球蛋白试剂(上海血液生物医药

有限责任公司,批号:20165101);血液基因组 DNA 提取离心柱型试剂盒(天根生化科技有限公司);人类红细胞 Diego 血型系统基因分型试剂盒(天津市秀鹏生物技术开发有限公司,批号:201607003);RBC-Ready Gene Rare ID(Inno-train Diagnostik GmbH,批号:S9SP105);Taq 酶(Promega Corporation);2X GC Buffer、6X Loading Buffer、dNTP、DL2000(TaKa-Ra Bio Inc.);PCR 仪(Sensoquest Labcyle,德国);台式离心机(KA-2200 型,日本久保田);台式离心机(L600A,湖南湘仪离心机仪器有限公司);水浴箱(GFL,德国);根据 Diego 基因第 19 外显子 2561 位上碱基存在的 SNP 设计引物,并送交公司合成,引物序列见表 1。

表 1 检测 Diego 血型基因及内对照 PCR 引物序列

基因名称		引物序列	产物长度
DI1	sense	5'-GGTGTGAAGTCCACGCT-3'	404bp
	anti-sense	5'-GACGGCAGGACTTGCTGCTTAGG-3'	
DI2	sense	5'-GGTGTGAAGTCCACGCC-3'	404bp
	anti-sense	5'-GACGGCAGGACTTGCTGCTTAGG-3'	
GAPDH	sense	5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'	129bp
	anti-sense	5'-ATGGTGTGAAGACGCCAGT-3'	

## 1.3 方法

**1.3.1 基因分型方法** 使用 DNA 提取试剂盒从 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝外周血中提取基因组 DNA,对 DI1、DI2 及内对照进行

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.012

<sup>△</sup>通信作者:徐华(1971-)男,主任技师,博士,主要从事输血免疫学研究,电话:029-85233050,Email:drxuhua@163.com

特异性扩增;PCR 反应体系为:2×GC Buffer 10 μL,上、下游引物各 1 μL (与内对照引物按 2:1 混合),Taq DNA 聚合酶 0.5 U,样本 DNA 2 μL,dNTP 1 μL,ddH<sub>2</sub>O 4.9 μL,总体积 20 μL。采用降落 PCR 的方法,扩增条件为:96℃ 2 min;96℃ 20 sec,68℃ 60 sec 共 5 个循环;96℃ 20 sec,65℃ 45 sec,72℃ 30 sec 共 10 个循环;96℃ 20 sec,62℃ 45 sec,72℃ 30 sec 共 16 个循环;72℃ 3 min,4℃ ∞。扩增产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳分析。

**1.3.2 血清学方法** 按文献方法[2],采用间接抗球蛋白法用抗-Dia 检测 73 例样本的 Dia 抗原。

**1.3.3 扩增产物基因测序** 将 1 例 Di(a+b-),52 例 Di(a+b+) 及随机挑选 48 例 Di(a-b+) 样本扩增产物送测序,测序引物为降落 PCR 扩增 Dia 和 Dib 所用的共用下游引物。

## 2 结果

**2.1 Diego 血型降落 PCR 检测结果** 两个泳道决定一个样本的基因型,根据有无 PCR 特异性扩增产物来判断样本的基因型,结果见图 1,1、2 泳道为 Di(a+b-) 样本,3、4 泳道为 Di(a+b+) 样本,5、6 泳道为 Di(a-b+) 样本;同时在本研究中,对检出的 Di(a+b-) 及所有 Di(a+b+) 及随机挑选 48 例 Di(a-b+) 样本用天津秀鹏和 Inno-train 的基因分型试剂盒进行验证,检测结果相互吻合。

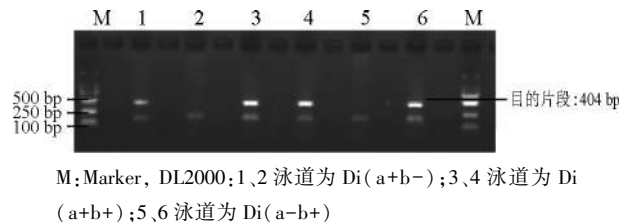


图 1 Diego 血型基因扩增产物电泳结果

**2.2 血清学结果** 对 1 例 Di(a+b-),52 例 Di(a+b+) 及随机挑选的 48 例 Di(a-b+) 样本红细胞用抗-Dia 进行检测,结果与降落 PCR 检测结果一致。

**2.3 基因测序结果** 本试验对 1 例 Di(a+b-),52 例 Di(a+b+) 及随机选取的 48 例 Di(a-b+) 样本扩增后送公司测序,测序结果与 Genbank 序列进行 BLAST 比对 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>),序列与 SLC4A1 完全相同,测序结果见图 2,图中序列为 Diego 血型编码基因 SLC4A1 19 外显子的部分序列,DI1 的 2561 位置上碱基为 T,DI2 的 2561 位置上碱基为 C,试验中所有 DI1 样本测序结果为图 2 中 A 图所示,DI2 样本测序结果为图 2 中 B 图所示,证明扩增产物具有很好的准确性。

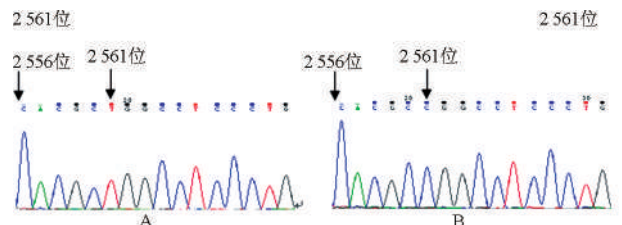


图 2 Diego 血型基因扩增产物测序结果(19 外显子部分序列)

**2.4 西安地区 Diego 血型基因多态性分布** 用本试验建立的降落 PCR 技术对 1 068 名西安地区非血缘关系供者样本

进行基因分型检测,结果见表 2。西安地区 1 068 例样本中共检测到 Di(a+b-) 1 例,Di(a+b+) 52 例,Di(a-b+) 1 015 例,未检测到 Di(a-b-) 样本,献血者中 Dia 抗原的表达频率为 0.049 63,Dib 抗原的表达频率为 0.999 06。检出的 1 例 Di(a+b-) 样本为 O 型,C+c+D+E+e+,Inno-train 试剂盒结果为 Kp(a+b+),Lu(a-b+),Wr(a-b+),Yt(a+b-),Co(a+b-),Kn(a+b-),Do(a-b+),电泳结果见图 3,甘油冻存该献血者的 2U 红细胞,以备提供给有抗-Dib 的患者使用。

表 2 西安地区 1 068 例无偿献血者 Diego 血型基因检测结果

例数(n)	基因型			合计
	Di(a-b+)	Di(a+b+)	Di(a+b-)	
1 015	52	1	1 068	
百分率(%)	95.037	4.869	0.094	100

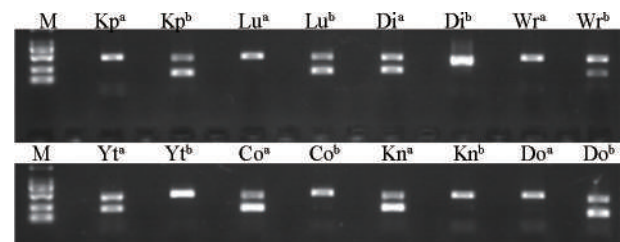


图 3 Di(a+b-) 样本 Inno-train RBC-Ready Rare ID 试剂盒电泳结果

## 3 讨论

Diego 血型系统包含 21 个抗原,编码基因为 SLC4A1,定位于染色体 17q12-q21,涵盖了一段 18kb 的 DNA 片段,包含 20 个外显子,编码的蛋白为细胞膜带 3 蛋白(Band 3 蛋白)。Diego 血型抗原在不同人群的频率差异很大,有明显的种族差异性<sup>[3]</sup>,Dia 抗原几乎是蒙古人中独有的,白种人和黑种人几乎不存在 Dia 抗原,而南美印第安人中该抗原表达频率较高约为 36%,日本人为 10%;有文献报道,中国香港人群 Dia 抗原的表现频率为 4.4%,中国台湾人群的为 3.2%<sup>[4]</sup>;而中国大陆表现频率报道为 3%~5% 不等,本研究结果显示西安地区 Dia 抗原的表达频率为 4.963%,与上述结果相近。而 Dib 抗原表达频率在不同人群的差异不大,绝大多数人群 Dib 抗原为阳性。

Diego 血型的抗体能引起新生儿溶血病和溶血性输血反应,不同于欧洲人群,中国人群中 Dia 抗原频率较高,随机输血及母婴之间血型不合几率较大,国内已有多例抗-Dia 所致的新生儿溶血病及交叉配血不合的报道<sup>[5-6]</sup>。虽然抗-Dib 少见,但国内已有案例报道<sup>[7]</sup>,本实验室在临床输血患者中也检出过 1 例抗-Dib。当存在 IgG-Dib 抗体的患者需要输用 Dib 抗原阴性的血液时,很难找到相合的血液,这提示我们有必要对 Dia 和 Dib 抗原的多态性进行研究,了解其在人群中的分布规律,同时筛选出合适的献血者,建立覆盖 Dia 抗原的抗体筛查和鉴定的谱红细胞,以及包含 Dib 抗原阴性红细胞的稀有血型数据库和实体库,为需要输血的稀有血型患者提供血源保证。

由于市售抗-Dia 价格昂贵及抗-Dib 难以获得,使得应用抗体筛查 Diego 血型存在很大困难。本研究建立的降落 PCR 检测 Diego 血型基因分型技术,经过验证,证明特异性和稳定性好,并且成本低廉,适用于替代血清学方法进行大样本量的 Diego 血型筛查。本研究采用自建的降落 PCR 方法对本

地区 1068 例无偿献血者进行了 Diego 血型基因分型,掌握了本地区献血者的 Diego 血型的多态性分布数据,建立了 Diego 血型的数据库,并冻存了 2U 的 O 型 Di(a+b-)型红细胞,以备于提供给有 IgG-Dib 抗体的患者使用,提高了我们对临床的血液保障水平。

参 考 文 献

[1] Figueroa D.The Diego blood group system: a review. *Immunohematology*, 2013,29 (2):73-81.

[2] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检测操作规程(第四版).北京:人民卫生出版社,2015,118-143.

[3] 杰夫·丹尼尔.人类血型.北京:科学出版社,2007:421-441.

[4] 刘宇,牛森.中国汉族人群 Diego 血型基因频率调查研究. *检验医学与临床*,2010,7(4):308-310.

[5] 郭楠,刘朝晖,白静,等.罕见的抗-Dia 和抗-D 引起交叉配血不合 1 例报告. *北京医学*,2012,34(10):924-925.

[6] 江梦天,任明,何鸣镛,等.抗-Dia 抗体引起的新生儿溶血病 1 例. *临床血液学杂志*,2016,29(8):687-688.

[7] 吕红娟,朱海峰,徐群,等.罕见抗-Dib 母婴血型不合配合型血液筛选及家系调查. *中国输血杂志*,2015,28(1):21-23.

(2017-02-16 收稿,06-27 修回)

本文编辑:李弘武

· 论 著 ·

### 732 例全自动血型分析仪检测 ABO 血型结果不确定的分析\*

张坤莲 黄旭颖 周助人 李丽春 章旭 李晓丰 李剑平<sup>△</sup>(辽宁省血液中心,辽宁 沈阳 110044)

**摘要:目的** 探讨 ABO 血型检测结果不确定的原因。**方法** 对 2010-2016 年应用全自动血型分析仪检测 ABO 血型结果不确定的 732 例血样进一步采用手工试管盐水法、吸收放散试验等血清学试验及血型基因分型方法进行检验。**结果** 717 例(97.95%)采用试管法进一步检测能够确定 ABO 血型,其中抗-B 减弱 457 例(62.43%),抗-A 减弱 171 例(23.36%);不规则抗体 115 例(15.71%),确认抗-M 18 例(2.45%)、抗-E 1 例(0.14%)和抗-Le(b) 1 例(0.14%)。15 例经血型基因分型检测确认 AB<sub>w</sub>33 型 1 例(0.14%)、A<sub>x</sub>13B 型 1 例(0.14%)、B<sub>w</sub> 型 5 例(0.68%)、B<sub>a</sub> 型 2 例(0.27%)、cisAB03 型 2 例(0.27%)、cisAB06 型 1 例(0.14%)、B(A) 型 1 例(0.14%)、A 型类孟买 1 例(0.14%)及 ABO\*004 等位基因表达弱 A 抗原 1 例(0.14%)。**结论** 抗-B、抗-A 减弱及不规则抗体是全自动血型分析仪检测 ABO 正反定型不符的主要原因。沈阳地区中国人人群中 B 亚型多于 A 亚型。对于全自动血型分析仪检测的 ABO 血型不确定的标本应用手工试管法及血型基因分型方法检测联合分析能够准确鉴定 ABO 血型。

**关键词:**血型;ABO 亚型;血型基因分型;疑难血型鉴定

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1012-04

**Analysis of the doubtful ABO blood grouping from an automated system in 732 cases** ZHANG Kunlian, HUANG Xuying, ZHOU Zhuren, LI Lichun, ZHANG Xu, LI Xiaofeng, LI Jianping. Liaoning Blood Center, Shenyang 110044, China. Corresponding author: LI Jianping

**Abstract: Objective** To analyze the doubtful results of ABO blood grouping from automatic blood grouping analyzer. **Methods** 732 samples of blood donors from Liaoning Blood Centre were typed by automatic blood grouping analyzer from 2010 to 2016. The methods of traditional test tube typing, absorption-elution and ABO genotyping were used to detect the samples for ABO grouping. **Results** 717 (97.95%) cases of ABO group were confirmed by test tube typing: 457 cases (62.43%) with weak anti-B and 171 cases (23.36%) with weak anti-A were found. Irregular antibodies were found in 115 cases (15.71%), 18 (2.45%) cases with anti-M, 1 (0.14%) case with anti-E and 1 (0.14%) case with anti-Le (b) were identified. 15 cases of ABO subgroup were confirmed by ABO genotyping: 1 (0.14%) case with AB<sub>w</sub>33, 1 (0.14%) case with A<sub>x</sub>13B, 5 (0.68%) cases with B<sub>w</sub>, 2 (0.27%) cases with B<sub>a</sub>, 2 (0.27%) cases with cisAB03, 1 (0.14%) case with cisAB06, 1 (0.14%) case with B(A), 1 (0.14%) case with para-Bombay A type and 1 (0.14%) case with ABO\*004 expressed weakly A antigen were confirmed. **Conclusion** The main reasons for doubtful ABO blood groups by automatic blood grouping analyzer were attributed to weak anti-B, anti-A and irregular antibodies. In the Chinese populations in Shenyang, subgroup B is more common than subgroup A. The samples of doubtful ABO blood groups by automatic blood

grouping analyzer should be analyzed by traditional test tube typing and ABO genotyping.

**Key words:** blood group; ABO subgroup; ABO genotyping; doubtful blood grouping

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.013

\* 基金项目:沈阳市科技计划项目(F10-149-9-35;F10-206-1-00);辽宁省重点支持计划项目;△ 通信作者:李剑平(1963.01-),男,主任医师,主要从事血液安全研究,电话:024-88334530,Email:ljp\_63@163.com

ABO 血型是人类最重要的红细胞血型系统之一,在临床安全输血、器官移植组织配型以及法医学鉴定中具有十分重要作用。血型血清学定型技术已广泛应用于临床输血和遗传学鉴定,可检出多种血型系统的表型,但在血型鉴定中有局限性,不能解决 ABO 血型鉴定中出现的正反定型不一致等疑难问题。在临床输血实践中 ABO 亚型及疾病状态下血型抗原或抗体减弱是输血工作者面临的 ABO 血型鉴定与安全输血的难题。随着分子生物学研究的不断深入,使我们了解了大部分血型系统的分子机制、血型抗原的基因和等位基因,研究者已阐明了各种血型抗原变异体的分子基础。准确的 ABO 血型定型是确保安全输血的前提,我们对 732 例应用全自动血型分析仪检测正反定型不符血样的检测结果进行了回顾性分析,探索 ABO 疑难血型鉴定的检测策略,现报告如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 标本来源** 标本来自于 2010 年 1 月-2016 年 8 月应用全自动血型分析仪检测正反定型不符的 732 例献血者血样,所有研究标本均遵循献血者知情同意原则。

**1.2 血清学试验** 献血者初次 ABO 血型鉴定采用汉泰全自动血型分析仪(HemoType+),参照仪器说明书进行。进一步分析 ABO 正反定型均采用手工试管法,参照文献[1]进行操作。主要试剂:单克隆抗-A、-B 血型定型试剂(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20090306、20150815 等;北京金

豪制药股份有限公司,批号 201103030、2016043001 等),抗-A1(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20090120、20150924 等),抗-AB(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20081016;DIAGAST,批号 422000、449000 等),抗-H(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20090630、20150616 等)血型定型试剂和人 ABO 血型反定型红细胞(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20091129、20165332;北京金豪制药股份有限公司,201112118、2016073011 等)。

**1.3 ABO 血型聚合酶链式反应-序列特异性引物基因分型方法(PCR-SSP)** 采用 TIANamp Blood DNA Kit 试剂盒提取 DNA,DNA 浓度调为(50-70) ng/ $\mu$ L,DNA 纯度 A260/A280 比率为 1.6-1.9,并用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳显示无 DNA 降解现象。采用人红细胞 ABO 血型基因检测试剂盒和人类 ABO 血型基因 cisAB 与 B(A)检测试剂盒(天津秀鹏公司)进行 ABO 基因分型及 cisAB 与 B(A)血型检测,按照试剂盒说明书操作,产物通过 2.5% 琼脂糖凝胶电泳,以 150 V 电泳 15 min,凝胶紫外成像。

**1.4 ABO 血型聚合酶链式反应-基于直接测序的基因分型方法(PCR-SBT)** ABO 基因位点扩增方法、扩增引物序列、扩增、测序外显子 1-7 及序列比对分析方法参照文献[2-10]。

### 2 结果

**2.1 15 例疑难 ABO 血型血清学检测结果** 见表 1。

**2.2 15 例疑难 ABO 血型基因分型结果** 见表 2。

表 1 15 例疑难 ABO 血型血清学检测结果

样本	试剂	抗原检测(正定型)					抗体检测(反定型)				吸收 放散	血型 物质
		抗-A	抗-A1	抗-B	抗-AB	抗-H	Ac	Bc	Oc	自身 <sup>c</sup>		
1	试剂 1	4+	4+	3+	4+	3+	0	1+	0	0	/	
	试剂 2	4+	/	3+	/	/	0	1+	0	0		
2	试剂 1	W+	0	4+	4+	4+	1+	0	0	0	A,B	A,B,H
	试剂 2	0	/	4+	4+	/	1+	0	0	0		
3	试剂 1	0	0	0	0	0	±	4+	1+	0	无	A,H
	试剂 2	0	/	0	/	/	±	4+	1+	0		
4	试剂 1	1+	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	无	A,B,H
	试剂 2	1+	/	4+	/	/	0	0	0	0		
5	试剂 1	0	0	0	0	3+	4+	0	0	0	B	H
	试剂 2	0	/	0	/	/	4+	0	0	0		
6	试剂 1	0	0	1+	0	4+	4+	1+	0	0	B	B,H
	试剂 2	0	/	1+	/	/	4+	1+	0	0		
7	试剂 1	0	0	1+	0	3+	4+	±	0	0	B	B,H
	试剂 2	0	/	1+	/	/	4+	±	0	0		
8	试剂 1	0	0	1+	0	3+	4+	±	0	0	B	B,H
	试剂 2	0	/	1+	/	/	4+	±	0	0		
9	试剂 1	0	0	0	3+	4+	4+	0	0	0	无	B,H
	试剂 2	0	/	0	/	/	4+	0	0	0		
10	试剂 1	0	0	4+	2+	3+	4+	1+	0	0	无	B,H
	试剂 2	0	/	4+	/	/	4+	1+	0	0		
11	试剂 1	1+	0	4+	4+	2+	4+	0	0	0	无	B,H
	试剂 2	1+	0	4+	/	/	4+	0	0	0		
12	试剂 1	0	0	0	0	4+	4+	0	0	0	无	B,H
	试剂 2	0	/	0	/	/	4+	0	0	0		
13	试剂 1	1+	0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	A	B,H
	试剂 2	0	/	4+	/	/	4+	0	0	0		
14	试剂 1	2+	0	3+	3+	4+	4+	4+	0	0	无	A,B,H
	试剂 2	2+	/	3+	/	/	4+	4+	0	0		
15	试剂 1	W+	0	4+	4+	3+	2+	0	0	0	无	A,B,H
	试剂 2	0	/	4+	/	/	2+	0	0	0		

表 2 15 例疑难 ABO 血型基因分型结果<sup>[2-11]</sup>

样本	PCR-SSP	PCR-SBT	突变位置	突变特性
1	A1/B	A102/Bw33	Bw33 序列与 B101 比对,第 796 位 A>C	第 796 位 A>C 突变导致产生 Bw33 的表型,其血清中产生抗-B 抗体
2	/	Ax13/B101	Ax13B 与 A101 比对,第 940 位 A>G	第 940 位 A>G 突变导致 A 抗原表达减弱
3	/	A101/O01	FUT1 等位基因同时发生 35C>T 和 658 C>T, FUT1 基因为 h35T+658T/h35T+658T	h35T+658T/h35T+658T 是导致类孟买表型的直接原因,该纯合突变类型极其罕见
4	B/O	B101/O04	004 等位基因与 A101 等位基因比较,仅存在 nt261delG 和 nt579T>C 两个碱基的改变	含有 261delG 的 004 等位基因的样本有弱 A 抗原表达
5	B 或 O	Bel06	与 B101 基因序列比较仅在 905A/G 突变。该序列与 Bel06 和 Bx02 基因的序列完全一致	由于该患者的血清学结果与 Bel 亚型一致所以定为 Bel06
6	B/O1	Bw / O01	与 B101 序列比对第 7 外显子存在 905A>G 突变。导致多肽链 D302G 替换	a-1,3 半乳糖基转移酶基因 nt905A>G 突变导致 B 抗原表达减弱
7	B/O1	Bw / O01	与 B101 序列比对第 7 外显子存在 905A>G 突变。导致多肽链 D302G 替换	a-1,3 半乳糖基转移酶基因 nt905A>G 突变导致 B 抗原表达减弱
8	B/O1	Bw / O01	与 B101 序列比对第 7 外显子存在 905A>G 突变,导致多肽链 D302G 替换	a-1,3 半乳糖基转移酶基因 nt905A>G 突变导致 B 抗原表达减弱
9	B/O2	Bw03/O02	与 B101 序列比对第 7 外显子存在 721C>T 突变,导致多肽链 R241S 替换	B101 序列比对第 7 外显子存在 721C>T 突变,导致 B 抗原表达弱
10	B/O2	Bw12/O02	与 B101 比对第 6 外显子存在 278C>T 突变,导致多肽链 P93L 替换	278C>T 突变未造成 B 抗原表达减弱,但是产生抗 B 抗体
11	B/O2	cisAB06/O02	与 B101 基因序列比对仅在第 526 位 G>C 发生突(c.526G>C),该位点的突变导致 176 位甘氨酸变成精氨酸(P.R176G)	B 等位基因 c. 526G>C 突变成 cisAB06 等位基因,其血清学表现为正定为 AB 型,反定型为 B 型
12	B/O1	/		
13	B <sub>(A)</sub> 04/O2	/		
14	cisAB03/O2	/		
15	cisAB03/B	/		

2.3 732 例应用全自动血型分析仪检测 ABO 血型正反定型不符的影响因素分析 见表 3。

表 3 732 例 ABO 正反定型不符的影响因素分析结果

	抗-A 减弱	抗-B 减弱	抗体筛选阳性	亚型
例数(%)	457(62.43)	171(23.36)	115(15.71)	15(2.07)

### 3 讨论

根据 ABO 血型特性,IgM 抗-A 和/或抗-B 有规律地存在于人类血清中,常规 ABO 血型定型包括正向 ABO 抗原鉴定和反向 ABO 抗体鉴定。ABO 血型正反定型不符的原因一是可能由于疾病或遗传因素所致 ABO 血型抗原减弱,二是可能由于老年人、新生儿、双胞胎血型嵌合体、双受精、低免疫球蛋白血症等导致预期出现的抗体减弱或缺失<sup>[12]</sup>,我们分析的 732 例献血者血样,85.79%(628 例)血样是由于 ABO 血型抗体减弱所致应用全自动血型分析仪检测 ABO 血型时正反定型不符,而且抗-B 减弱比例高于抗-A 减弱比例。

ABO 血型系统基因定位于 9 号染色体,有 7 个外显子和 6 个内含子组成,外显子编码长度为 28-688 bp<sup>[13-14]</sup>,有 3 个主要等位基因(A101、B101 和 O101)。ABO 基因的直接编码产物为 α-1,3-N-乙酰半乳糖胺转移酶(A 基因编码)或为 α-1,3-半乳糖胺转移酶(B 基因编码),在这 2 个糖基转移酶的催化下,分别将 2 个不同底物(UDP-CalNAc 和 UDP-Cal)H 唐链上形成 A 和 B 抗原<sup>[15]</sup>。研究发现在 ABO 血型系统一些 ABO 亚型(ABO 变异型),它们在人群中频率不高,主要表现为 ABO 血型抗原的差异性表达。现研究发现的 ABO 亚型主要包括 A2、A3、Ax、Ael、Aw、Am、B3、Bx、Bel、Bw、CisAB、B(A)。向东等<sup>[16]</sup>报道了在上海地区 440 617 例献血者检出

ABO 亚型的分布情况,其结果显示最常见的亚型为 A<sub>2</sub> 和 A<sub>2</sub>B 型,频率分别占 0.156% 和 0.443%,其它 ABO 亚型(不包括 A2、A<sub>2</sub>B 和类孟买型)在人群中的频率为 1.50/万。血型变异体都表现出明显的民族特异性,不同人种中 ABO 变异型表现型频率存在差异,有的变异型在一个民族或人种中可能具有极高的频率,而在另一个民族或人种中的频率可能较低;同一变异型不同的等位基因在不同人种中的频率也表现出同样的特性<sup>[17]</sup>。我们分析的 732 例献血者血样中有 15 例(2.05%)是 ABO 亚型,占同期献血人群的 0.31/万。15 例亚型中 B 亚型占 53.33%(Bw 亚型 6 例, Bel 亚型 2 例),沈阳地区中国人人群中 B 亚型多于 A 亚型,与文献<sup>[18]</sup>报道的北京地区中国人人群 B 亚型多于 A 亚型相似。

ABO 血型系统存在一定的 ABO 亚型(变异型),本文 15 例 ABO 亚型表型的血清学和基因型检测结果提示我们,在应用试管法分析 ABO 血型正反定型不符的血样时,同时应用 2 个试剂厂商提供的 ABO 正反定型试剂,有利于发现亚型,本文中 12、13 及 15 号血样是由于 2 个厂商提供的试剂血清学反应格局不一致发现的亚型。当血清学方法难以判定或无法解释血清学检测结果时,应进一步应用血型基因分型方法分析 ABO 血型抗原抗体减弱或不表达的原因。但是从 15 例血样血清学行为与 ABO 基因分型检测结果对比中,我们认为目前红细胞输血时 ABO 基因配型还不能取代血清学配型,因为有些 ABO 亚型红细胞有弱 A、弱 B 抗原表达的同时血浆(血清)中存在抗-A、抗-B,在临床输血实践中,血清学技术仍然发挥着至关重要的作用,我们在研究中发现基因型为 B101/O04 的 4 号血样,虽然无 A 等位基因,但含有 261delG 的 O04 等位基因的样本确有弱 A 抗原表达。

目前,国内采供血机构已广泛应用全自动血型分析仪进行献血者的 ABO 血型鉴定,由于仪器是按照一定凝集规则来判定血型检测结果,所以低于判定规则的结果,仪器均不予判定。本文 732 例标本中有 717 例经手工试管法进一步检测均能确定 ABO 血型,所以,我们认为对于这部分血样应进行手工试管法进行复查,如果复查后难以确定 ABO 血型,再进一步进行血清学及分子生物学检测,分子生物学检测根据条件采用 PCR-SSP 或 PCR-SBT 法,但有些血样只有进行 PCR-SBT 法检测才能确定 ABO 血型。

### 参 考 文 献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜,等.全国临床检验操作规程.3 版.南京:东南大学出版社,2006:246-249.
- [2] 王凤敏,章旭,李剑平. ABO 变异型 A102Bw33 血型基因亚型遗传学鉴定.中国实验血液学杂志,2016,24(1):225-228.
- [3] 章旭,李剑平.一例 ABO 亚型 Ax13B 亚型的分子生物学研究.中华医学遗传学杂志,2015,32(6):837-839.
- [4] 林凤秋,孙长平,王慧,等.FUT1 基因 35C>T 和 658 C>T 纯合突变引起类孟买表型的研究.中华医学遗传学杂志,2015,32(5):834-836.
- [5] 章旭,李剑平. ABO \* 004 等位基因表达弱 A 抗原的序列分析.中华医学遗传学杂志,2015,32(4):558-561.
- [6] 杜文竹,章旭. ABO 亚型 Bel06 的分子生物学鉴定.中国当代医学,2015,22(30):166-167,170.
- [7] 林凤秋,章旭,李剑平. a-1,3 半乳糖基转移酶基因 905A>G 突变的研究.中华医学遗传学杂志,2014,31(01):82-84.
- [8] 李归冀,章旭. 两例 ABO 变异型 Bw 亚型的分子遗传学分析,

中华医学遗传学杂志,2013,30(06):733-735.

- [9] 戚新,章旭,刘显智,等.一例 ABO 血型 cisAB06 亚型的基因序列分析.中华医学遗传学杂志,2013,30(02):172-175.
- [10] 李世祥,章旭,李剑平.罕见 ABO 变异型 Bel 亚型鉴定 1 例.中国保健营养,2013,23(6):3277-3278.
- [11] 王慧,张坤莲,章旭,等.ABO 亚型 B(A)04 鉴定及家系调查,中国输血杂志,2012,25(2):148-150.
- [12] Daniels G. Human blood groups. 2nd ed. Oxford, UK: Blackwell Scientific, 2002:52.
- [13] 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. Hum Mut, 2004, 23(1): 8-16.
- [14] Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S. Genomic organization of human histo-blood group ABO gene. Glycobiology, 1955, 5(1): 51-58.
- [15] Daniels G. Human blood group. 2nd ed. Oxford, UK: Blackwell Science, 2002:36-39.
- [16] 向东,刘曦,郭慧中,等.上海地区中国人人群中 ABO 亚型的研究.中国输血杂志,2006,19(1):25-26.
- [17] 邵超鹏,庄乃保.血型变异型与临床输血.中国输血杂志,2009,22(7):591-593.
- [18] 许志远,王涛.北京地区献血人群 ABO 亚型研究.北京医学,2013,35(8):712-714.

(2017-02-23 收稿,06-11 修回)

本文编辑:闻欣

## 2017 年本刊专题报道

临床用血全面质量管理体系与智能信息化(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



## · 论著 ·

## PK7300 全自动血型分析系统性能使用前确认

王霞 潘彤 刘军 杨文玲<sup>△</sup>(天津市血液中心,天津 300110)

**摘要:目的** 以 Beckman PK7300 全自动血型分析系统为例,对全自动血型分析系统的性能的适用性进行确认。**方法** 1)依据厂家推荐和其他实验室经验选取孵育温度、标本红细胞浓度、标准红细胞浓度、试剂加入量、稀释标本加入量及判定方法等 6 项参数,与孵育时间、标准抗血清稀释度及标本血浆稀释度等 3 项待确认参数,同时通过匹配试验进行确认。2)使用血型已知的标本和正反不符及 RhD(-)的特殊标本进行特异性、灵敏度的确认。3)通过与现用微板法进行平行检测进行一致性及可疑率的确认。**结果** 1)确定本实验室的最佳参数:标准抗血清稀释度为 1:40、标本血浆稀释度为 1:2.5 及孵育时间为 60 min。2)使用确认后的参数对 3 930 份 ABO 血型已知的标本进行检测,判读正确率均>95%,70 份 RhD(-)及 4 份正反不符标本的判读正确率均为 100%。3)与微板法的比对,检测结果的一致性>95%,系统检测的总体可疑率<2%。**结论** 待确认的 3 项主参数与其它参数所构成的检测系统的特异性、灵敏度、一致性及可疑率满足到临床试验要求。

**关键词:**全自动血型分析系统;判读正确率;微板法;一致性;可疑率

**中图分类号:**R457.1<sup>†</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1016-03

**Validation of Beckman PK7300 automatic blood group analysis system** WANG Xia, PAN Tong, LIU Jun, YANG Wenling. *Laboratory Medicine, Tianjin Blood Center, Tianjin 300110, China. Corresponding author: YANG Wenling*

**Abstract: Objective** To validate the applicability and the capacity of Beckman PK7300 automatic blood group analysis system. **Methods** According to the recommendations of manufacturers and other laboratories, six parameters, including incubation temperature, reagent red blood cell concentration, sample red blood cell concentration, sample diluents ratio, diluted sample volume, determination parameters, were determined. The other three main parameters (including incubation time, antibodies of standard serum, dilution of sample plasma) were evaluated with matching experiments. The sensitivity and specificity were validated by using known blood types and special samples which consisted of non-conformative forward and reverse typing and RhD (-) samples. The consistency and suspicious rate were validated by comparing with microplate technique. **Results** The three main parameters (incubation time, antibodies of standard serum, dilution of sample plasma) were determined as 60 min, 1:40 and 1:2.5, respectively. Using the evaluated parameters, the 3 930 samples with known ABO blood group were performed with forward typing and reverse typing detection. The rates of correct interpretation were >95%. Simultaneously, the 70 cases and 4 cases of special samples were detected correctly. The rate of consistency was >95% and suspicious rate was <2%. **Conclusion** The sensitivity, specificity, consistency and suspicious rate of the analysis system can meet the requirements.

**Key words:**automatic blood analysis system; rate of correct interpretation; microplate technique; consistency; suspicious rate

ABO 和 RhD 血型是献血者血液检测项目之一<sup>[1]</sup>,批量检测方法包括微板法及各种全自动血型分析系统。目前多数全自动血型分析系统为开放式,设备厂家仅向用户推荐设备的试验参数,并未提供与分析系统匹配的血型试剂的相关参数,那么如何对包括检测试剂在内的整个检测系统进行使用前的确认,现将本实验室 PK7300 在使用前所作的确认工作报告如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 标本** 来自天津市血液中心无偿献血者 EDTA-K<sub>2</sub>抗凝全血。1)用于参数确认标本:680 例,包括 A、B、O 及 AB 各

170 例。2)确认试验:3 930 例常规标本,其中 A 型 1 023 例、B 型 1 260 例、O 型 1 177 例及 AB 型 421 例;70 例 RhD(-)标本和正反不符 4 例。3)可疑率确认试验:11 273 例,其中 A 型 3 011 例、B 型 3 724 例、O 型 3 373 例及 AB 型 1 165 例。

**1.2 试剂与仪器** 1)人 ABO 血型反定型用红细胞试剂盒(简称标准 ABO 试剂红细胞):上海血液生物医药,批号:20155313;抗-A、抗-B 血型定型试剂(单克隆抗体):上海血液生物医药,批号:20150919 及 RhD(IgM)血型定型试剂:上海血液生物医药,批号:20151803。抗-A、抗-B 血型定型试剂和 RhD(IgM)血型定型试剂简称标准抗血清。Beckman PK7300 全自动血型分析系统配套使用 P3、P4 梯形微孔板。Hamilton Star 全自动加样仪(瑞士 HAMILTON 公司)、Zenyt340R 酶标仪及配套微孔板。

**1.3 PK7300 全自动血型分析系统工作原理** 标本红细胞

和血浆分别经分配器吸取、稀释后分配到梯形板中;试剂(抗-A、抗-B、抗-D 及标准 ABO 试剂红细胞)经样品分配器分配到相应的微孔内,经震荡混匀后在孵育箱内进行反应。CCD 摄像机对微板中的各个反应孔进行扫描,处理器根据判定参数确定每孔的检测结果(+、-及?)。系统最后将结果进行综合判定确定被检标本的最终结果即 A、B、O、AB 及?(可疑)。

**1.4 PK7300 全自动血型分析系统参数** 厂家设备参数设置见表 1,参照 2012 版血站技术操作规程的要求,依据厂家推荐和其他实验室使用情况,我们对抗-A、抗-B、抗-D 标准抗血清稀释度、标本血浆稀释度及孵育时间 3 个关键参数进行使用前确认。

**表 1** PK7300 全自动血型分析系统厂家设备关键参数

序号	参数名称	确认设定值
1	孵育时间(min)	20-60
2	孵育温度(℃)	18-40
3	试剂加注量(μL)	10-40
4	标本红细胞悬液浓度(%)	1.5-2.5
5	标本血浆稀释度	1.0-64.0
6	稀释标本加注量(μL)	10-40
7	判定参数 SPC	0-99
	P/C	(+):0-99,(-):0-99
	LIA	0-999
8	试剂红细胞浓度	未提及
9	抗-A、抗-B、抗-D 标清稀释比例	未提及

**1.5 本实验室 PK7300 全自动血型分析系统确认时的参数设置** 见表 2。

**表 2** PK7300 全自动血型分析系统进行确认时的参数设置

序号	参数名称	确认设定值
1	孵育时间(min)	30、45、60
2	孵育温度(℃)	30
3	试剂加注量(μL)	25
4	标本红细胞悬液浓度(%)	1.5
5	标本血浆稀释度	1:2.0、1:2.5、1:3.0
6	稀释标本加注量(μL)	25
7	抗-A、抗-B、抗-D 标清稀释度	1:16、1:40、1:64
8	判定参数 SPC	0-10
	P/C	(+):30,(-):5
	LIA	0-300

**1.6 特异性和灵敏度的确认试验** 对常规检测中 ABO 和 RhD 血型定型正常及正反不符(包括亚型、抗体减弱等)的特殊标本进行检测,未出现错误判断情况及判读正确率>95%即为确认合格。

**1.7 一致性和可疑率确认试验** 一致性试验使用 PK7300 全自动血型分析系统与目前本实验室在用血型微板法,对常规标本进行 1 周的同步平行检测来进行比对;可疑率确认通过使用 PK7300 全自动血型分析系统来检测微板法检后的标本(检测周期为 1 个月),来对该系统的准确率、可疑率、一致性进行进一步的确认。

**1.8 质量控制方法** 每批试验时使用检测后血型已知的 5 份标本,包括 A、B、O、AB 及 RhD(-)。作为室内质量控制,试验结果与预期一致,判定室内质控在控检测系统可靠。

**1.9 统计学分析** 采用 Excel 2007 对数据进行处理。

## 2 结果

**2.1 本实验室选择的待确认参数试验结果** 对抗-A、抗-B 及抗-D 标准抗血清稀释度、标本血浆稀释度及孵育时间 3 项参数分别进行确认,每项检测条件下判读正确率>95%为通过,结果见表 3。

**表 3** 本实验室选择的待确认主要参数试验结果

参数及设置	例数	正确数	可疑数	错误数	正确率(%)	
抗-A、抗-B、抗-D	1:16	200	100	0	0	100
标清稀释度	1:40	200	100	0	0	100
	1:64	200	100	0	0	100
标本血浆稀释度	1:2.0	200	199	1	0	99.50
	1:2.5	200	200	0	0	100
	1:3.0	200	191	9	0	95.50
孵育时间(min)	60	280	279	1	0	99.64
	45	280	279	1	0	99.64
	30	280	250	30	0	89.28

**2.1.1 抗-A、抗-B 及抗-D 标准抗血清稀释度** 分别采用 3 种不同稀释度的抗血清即 1:16、1:40 及 1:64 对已知血型标本进行检测。3 种稀释度标准抗血清的判读正确率均>95%,考虑到试验人员的操作的便利性,故我们选定 1:40 作为本室标准血清稀释度。

**2.1.2 标本血浆稀释度** 分别采用 3 种不同标本血浆稀释度即 1:2.0、1:2.5 及 1:3.0 与 1.5%标准试剂红细胞进行反定型,对已知血型标本进行检测。3 种标本血浆稀释度的判读正确率均>95%,但相比较而言血浆稀释度为 1:2.5 的判断率最为理想,故我们将血浆稀释度为 1:2.5 作为本室标本血浆最佳稀释度。

**2.1.3 孵育时间** 分别采用 3 种不同孵育时间即 30 min、45 min 及 60 min 与 1.5%标准试剂红细胞、1:40 标准抗血清稀释度及血浆稀释度为 1:2.5 进行匹配来对已知血型标本进行检测。孵育时间为 30 min 时判读正确率仅为 89.28%;孵育时间为 45 min 和 60 min 的判读正确率均为 99.64%,考虑到孵育时间为 60 min 对本实验室检测报告的发放周期不构成影响故而接受系统设置。基于以上试验结果,我们将标准血清稀释度 1:40、标本血浆稀释度 1:2.5 及孵育时间 60 min 作为本实验室常规检测最优参数。

## 2.2 特异性和灵敏度的确认试验

**2.2.1 特异性** 对 ABO 及 RhD 血型已知的 3 930 份样本进行 ABO 和 RhD 定型检测。结果未出现错误判读及判读正确率均>95%(其中 A 型 98.84%、B 型 98.66%、O 型 98.49%及 AB 型 99.53%)。

**2.2.2 灵敏度** 对已知血型的特殊标本(均由免疫血液研究室进行确认)其中含 A<sub>2</sub>B 及其他正反不符 4 例和 RhD(-)标本 70 例进行 ABO 和 RhD 定型。结果 4 例正反不符标本有 3 例结果为可疑,1 例免疫室鉴定为 B 亚型标本结果为 B 型。ABO 和 RhD 判读正确率均为 100%。

## 2.3 一致性及可疑率确认试验

**2.3.1 与微板法的同步平行比对** 通过与微板法进行平行试验,结果显示 PK7300 全自动血型分析系统的一致性>95%,结果见表 4。

表 4 PK7300 全自动血型分析系统与微板法比对结果

检测数	PK7300		微板法		
	正确数	正确率 (%)	正确数	正确率 (%)	
d1	349	344	98.57	349	100
d2	192	190	98.96	192	100
d3	256	256	100	256	100
d4	88	88	100	88	100
d5	171	169	98.83	171	100
d6	173	172	99.42	173	100
d7	173	173	100	173	100
合计	1 402	1 392	99.28	1 402	100

2.3.2 可以率确认试验 将微板法检后的标本使用 PK7300 全自动血型分析系统进行再次检测,总可疑率为 1.22%符合厂家标明的可疑率(厂家参考可疑率 $<2\%$ ),结果见表 5。

表 5 PK7300 全自动血型分析系统血型检测稳定性结果

检测样本数	正确数	可疑数	错误数	正确率 (%)	可疑率 (%)	
						血型 A
B	3 724	3 666	58	0	98.44	1.56
O	3 373	3 341	32	0	99.06	0.94
AB	1 165	1 154	11	0	99.06	0.94
合计	11 273	11 136	137	0	98.78	1.22

### 3 讨论

血型检测结果的正确与否是保证临床输血安全的前提。随着检测技术的发展,多种自动化血型检测系统备受青睐。但目前临床使用的血型检测系统多为开放式,厂家推荐的设备参数主要为设备本身试验参数及判定规则,并未提供相关检测试剂的使用参数,且国内使用的商品化血型检测试剂产品特性不统一。我们按照英国血液学标准委员会《血型、抗体筛查和交叉配血新技术的评价、确认和实施指南》<sup>[2]</sup>中“应当对血型检测系统尤其是非标准化检测系统进行评价和确认”。此外,《血站质量管理规范(2006)》<sup>[3]</sup>、《血站实验室质量管理规范(2006)》<sup>[4]</sup>及《血站技术操作规程(2012)》<sup>[5]</sup>明确指出血液检测方法和检测程序必须经过确认后方可投入使用。

Beckman PK7300 血型检测的参数有 9 项,鉴于其他实验室已经对部分参数进行了确认和评估,根据本实验室的实际情况及条件确定只对包括标准抗血清稀释度、标本血浆稀释度及孵育时间在内的 3 项关键参数进行使用前的确认,以评估该系统是否达到本实验室检测可接受标准。

Beckman PK7300 的检测原理是梯形微孔板承载的抗原抗体免疫沉降法。已知抗原抗体比例、反应温度及反应时间等因素<sup>[6]</sup>均对检测造成一定影响,相比较而言,二者浓度和比例是影响反应的主要因素。我们在参考系统厂家推荐的标准红细胞和标本红细胞抗原浓度均为 1.5% 红细胞和血浆或标准抗血清加样体积比例为 1:1 的基础上对标准血清的稀释度进行确认。结果 1:16 和 1:40 均可满足试验要求,我们

考虑到既要满足试验要求又要兼顾检验人员的可操作性最终选定 1:40 作为最佳抗血清稀释度。标本血浆稀释度选择的恰当与否关系到试验结果准确性,贾俊杰等<sup>[7]</sup>报道血浆稀释度过低( $<1:1.5$ ),血浆粘滞性较高导致红细胞沉降速度降低可能导致红细胞在梯形板中沉降不完全;而血浆稀释度过高( $>1:3.5$ )抗体效价过低,导致抗原抗体比例不匹配使微孔板中出现凝集不完全的现象,经过与其它参数的匹配试验我们选定 1:2.5 为标本血浆最佳稀释度。此次确认过程中我们发现孵育时间 45 min 和 60 min 的判读正确率均 $>95\%$ ,虽然 45 min 可以缩短本试验的时间,但我们考虑到 60 min 并不影响血液检测的总体周期因而本实验室接受厂商推荐的 60 min 作为本室的孵育时间。

对血型已知的 3 930 份标本、4 例正反不符及 70 例 RhD (-) 等特殊标本进行定型分析,未出现错误判断且判读正确率均 $>95\%$ ,说明该系统的灵敏度、特异性符合检验方法的要求。PK7300 全自动血型分析系统与微板法的同步平行比试验中我们发现微板法的正确率为 100%,而 PK7300 全自动血型分析系统的正确率为 99.28%,二者之间的差距我们分析原因可能是由于手工半自动法对弱凝集的反应孔进行人为干预,使酶标仪判读通过。这种人为干预可能会导致若抗体或亚型的漏检,而 PK7300 血型分析系统是完全没有人工干预的全封闭检测系统,其能对弱凝集标本作出“可疑”的判读结果,从而提示试验人员进行复试或进行进一步的血型鉴定从而避免漏检。

综上所述,依据厂家推荐和其他实验室使用经验并结合本室实际情况,我们完成了 PK7300 全自动血型分析系统的关键参数使用前的确认,同时为其他实验室血型检测系统的确认提供一种符合本实验室的思路和方法。本次确认过程中存在的不足之处是我们没有充足的时间对血型检测系统的抗干扰能力进行量化的评估确认,而且本次确认过程中特殊标本数量偏少,未能对亚型等样本进行更充分地验证。

### 参考文献

- [1] GB18467-2011.献血者健康检查要求.
- [2] Scott M, Brazier D, Knight R, et al. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for grouping, antibody screening and crossmatching. *Transfusion Medicine*, 1995, 5(2): 145-150.
- [3] 中华人民共和国卫生部.血站质量管理规范.2006-04-25.
- [4] 卫医发[2006]183号.血站实验室质量管理规范.
- [5] 中华人民共和国卫生部.血站技术操作规程.2012-06-01.
- [6] 陈显,刘洲君,朱绍汶,等.全自动血型仪在血型检测中的应用. *临床输血与检验*, 2014, 16(3): 250-252.
- [7] 贾俊杰,王瑞,刘亚庆,等.全自动血型分析系统试验参数的评价与验证. *中国输血杂志*, 2014, 27(4): 354-357.

(2017-02-14 收稿, 05-10 修回)

本文编辑: 闻欣

## 发热伴血小板减少综合征患者血小板输注疗效分析

陈晶晶 李静 王明民<sup>△</sup>(青岛市第六人民医院, 山东 青岛 266033)

**摘要:**目的 探讨发热伴血小板减少综合征(SFTS)患者血小板输注的疗效和可能存在的影响因素,为提高临床血小板输注疗效提供理论依据。方法 选择在本院确诊,接受治疗并进行血小板输注的 30 例 SFTS 患者为研究对象,其中男性 17 例,女性 13 例,平均年龄 57.5 岁。通过比较血小板输注前后患者 PT、APTT、TT 变化,分析输注血小板后患者凝血功能改变状况;测定血小板输注前 1 h 和输注后 24 h 外周血血小板的数量,计算 PPR 和 CCI,评价血小板输注效果。结果 与血小板输注前相比,患者输注血小板 24 h 后血小板数量明显增加,APTT、TT 时间显著缩短;随着患者输注血小板次数的增多,血小板输注有效率下降。结论 SFTS 患者输注血小板之后,凝血功能得到改善;随着血小板输注次数的增多,血小板输注有效率下降,无效率明显增高;非免疫性因素可能对 SFTS 患者血小板输注疗效有较大影响。

**关键词:**发热伴血小板减少综合征;血小板输注;疗效

**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)9-1019-03

**Curative effects of platelet transfusion in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome** CHEN Jingjing, LI Jing, WANG Mingmin. The Sixth People's Hospital of Qingdao, Qingdao 266033, China

**Abstract: Objective** To investigate the efficacy and influence factors of platelet transfusion in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS), and provide theory for clinical curative effects of platelet transfusion. **Methods**

Thirty SFTS patients who were diagnosed and treated in our hospital were selected. There were seventeen males and thirteen females, with an average age of 57.5 years. Comparing the changes of PT, APTT and TT after platelet transfusion, the coagulation function of patients were analyzed. The platelet counts of pre-transfusion one hour and post-transfusion 24 hours were tested. The effectiveness was assayed by percentage platelet recovery (PPR) and corrected count increment (CCI). **Results** Platelet count was significantly increased after 24 hours of platelet transfusion; APTT and TT time were significantly shorter. The platelet transfusion efficiency results showed that with the increase times of platelet transfusion, the efficiency was decreased. **Conclusion** After platelet transfusion, the blood coagulation function of SFTS patients was improved. With the increase times of platelet transfusion, the efficiency was decreased and the inefficiency was increased. The non-immune factors may have a major impact on platelet transfusion.

**Key words:**severe fever with thrombocytopenia syndrome; platelet transfusion; curative effects

发热伴血小板减少综合征(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)是一种由发热伴血小板减少综合征布尼亚病毒(severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus, SFTSV)引起的新发传染病,在我国多个省市地区均发现多名感染病例,该病以发热伴白细胞、血小板减少和多脏器功能损害为主要临床表现,病情严重患者可因多器官功能障碍死亡,该病病死率高,约为 2.5%~30%,平均为 12%,已经成为危害我国公共健康的严重问题<sup>[1-3]</sup>。我们通过比较分析 SFTS 患者输注血小板前后各项指标变化,探讨血小板输注的疗效和可能存在的影响因素,为提高临床血小板输注疗效提供理论依据,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

根据卫生部颁布的《发热伴血小板减少综合征防治指南(2010 版)》选择 2013 年 1 月-2015 年 12 月在本院确诊,接受治疗的 30 例 SFTS 患者为研究对象,每例患者有明显出血或血小板数目明显降低( $<30 \times 10^9/L$ ),需进行血小板输注治疗<sup>[4]</sup>。其中男性 17 例,女性 13 例,年龄 27-84 岁,平均年龄 57.5 岁,患者入院后对其流行病学史、入院前病情、入院后体温、体征以及生化指标、血常规、血凝等各项指标进行详细检查记录。

1.2 血小板来源及输注 由青岛市中心血站提供 ABO 血型配合的去白细胞单采血小板,血小板采制均符合国家标准要求,1 个治疗量所含血小板数量 $\geq 2.5 \times 10^{11}/L$ 。输注前检查患者血型,按照相同血型做交叉配血试验,每次 1 个治疗量,根据患者情况在 30-45 min 内输完。

1.3 观察指标及血小板输注效果评价 采用 SYSMEX XN-1000i 全自动血液分析仪测定血小板输注前 1 h 和输注后 24 h 的外周血血小板的数量,计算血小板回收率(percentage platelet recovery, PPR 或 PR%, 以下简称 PPR)和输注后血小板校正增加值(corrected count increment, CCI);采用 ACL TOP 500 全自动凝血仪测定血小板输注前后凝血酶原时间

(PT), 活化部分凝血活酶时间 (APTT), 凝血酶时间 (TT), 进行比较分析。

$$PPR = \frac{(\text{输后血小板计数} - \text{输前血小板计数} / \text{L}) \times \text{血容量} (\text{L})}{\text{输入血小板总数} \times 2/3}$$

$$CCI = \frac{(\text{输注后血小板计数} - \text{输注前血小板计数}) \times \text{体表面积}}{\text{输注的血小板总数}}$$

血容量 = 体重 (kg) × 70 mL; 体表面积 (m<sup>2</sup>) = 0.006 1 × 患者身高 (cm) + 0.012 8 × 患者体重 (kg) - 0.152 9; 输注后 24 h PPR > 20% 或 CCI ≥ 4.5 为血小板输注有效, 否则为输注无效。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS20.0 进行统计分析, 计量资料用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 *t* 检验, 计数资料采用  $\chi^2$  检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果 (表 1, 2)

**表 1** 血小板输注前后各项指标比较

	<i>n</i>	血小板 (×10 <sup>9</sup> /L)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)
血小板输注前	30	26.6±9.0	11.6±1.5	48.5±12.5	23.0±8.1
血小板输注后	30	47.5±14.9*	11.4±1.3	40.7±13.8*	19.3±4.2*

\* 与血小板输注前比较, *t* 值分别为 -6.57, 2.28, 2.23, 均为 *P* < 0.05

**表 2** 血小板输注有效率比较

血小板输注次数	有效	无效	合计	有效率 (%)
<3 次	22	0	22	100.0
≥3 次	6	2	8	75.0*

\*  $\chi^2 = 5.9, P < 0.05$

## 3 讨论

SFTS 是由 SFTSV 引起的新发传染病, 由我国学者首次发现和鉴定。该病起病急, 患者主要临床表现为发热, 体温多在 38℃ 以上, 重者持续高热, 可达 40℃ 以上, 伴消化道症状、肝肾功能损害等, 少数患者病情危重, 可因多器官功能衰竭死亡。实验室检查最主要的表现为血小板、白细胞降低<sup>[4-5]</sup>。本研究中由于 SFTS 尚无特异性治疗手段, 主要为对症支持治疗, 因此有明显出血或血小板数目明显降低 (<30 × 10<sup>9</sup>/L) 的患者, 需进行血小板输注治疗。研究结果显示, 输注血小板后, 患者血小板数目明显增加, 血小板对机体凝血起重要作用, 活化的血小板及其裂解产物具有凝血、止血等保护功能<sup>[6]</sup>, 并且反映凝血功能的 APTT 和 TT 时间显著缩短, 说明患者的凝血功能得到改善。

血小板输注无效 (platelet refractoriness, PTR) 是指患者至少连续 2 次输注足量随机 ABO 同型血小板后, 临床出血表现未见改善, 血小板计数未见有效提高, 有时反而会下降, 输入的血小板在体内存活期很短, CCI 和 PPR 没有达到适合的数值<sup>[7]</sup>。影响血小板输注疗效的因素有很多, 主要包括免疫性因素和非免疫性因素。免疫性因素主要包括 ABO 血型不合, HLA、HPA 抗体, 自身抗体, 药物抗体等<sup>[8]</sup>。研究显示, 同种异体免疫是造成 PTR 的主要原因, 血小板表面 HLA 抗原和 HPA 抗原在 PTR 的免疫机制中起主要作用, 外源性血小板, 作为同种异体抗原可诱导受血者机体产生同种异体免疫反应而导致 PTR, 滤白血液制品的使用, 使同种免疫的产生率大大降低, 但有研究证实反复多次输注滤白血液制品的

患者中仍有 12.2% 的患者能够产生 HLA 同种免疫<sup>[9-11]</sup>。因此本研究中发现的随着患者血小板输注次数的增多, 血小板输注有效率下降, 无效率显著增高, 可能是由于反复多次输注使同种免疫产生导致血小板被破坏所致。引起 PTR 的非免疫性因素主要包括血小板成分制品的质量、脾亢、弥散性血管内凝血、发热感染、抗生素应用等<sup>[12-13]</sup>。研究显示, 发热是引起 PTR 的独立危险因素, 发热包括病原菌感染及输注血小板后的发热反应, 感染期血小板暴露于隐抗原, 吸附抗体, 网状内皮系统清除这些被抗体包裹的血小板, 使血小板生存期缩短, 消耗增多, 多器官功能障碍也能引起 PTR<sup>[14-15]</sup>。SFTS 患者临床表现主要为发热, 多器官功能障碍等, 可能是引起 PTR 的主要原因。因此, 在临床上应积极治疗原发病, 严格掌握血小板输注指征, 减少输血次数, 减少因发热、感染、多器官功能障碍等非免疫性因素导致的输注无效, 缩短输血周期, 适当增加血小板输注量, 提高血小板输注疗效<sup>[16]</sup>。

## 参考文献

- [1] Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *New England J Med*, 2011, 364(11): 1523-1532.
- [2] 雷晓颖, 张笑爽, 于学杰. 发热伴血小板减少综合征布尼亚病毒研究进展. *中国公共卫生*, 2014, 30(7): 967-971.
- [3] Zhang YZ, HeYW, Dai YA, et al. Hemorrhagic fever caused by a novel bunyavirus in China: pathogenesis and correlates of fatal outcome. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(4): 527-533.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 发热伴血小板减少综合征防治指南 (2010 版). *中华临床感染病杂志*, 2011, 4(4): 193-194.
- [5] Li D. A highly pathogenic new bunyavirus emerged in China. *Emerging Microbes Infections*, 2013, 2(1): 1-4.
- [6] 刘和平, 任峰. 血小板及冷沉淀输注对创伤大出血患者凝血功能的影响. *创伤外科杂志*, 2015, 17(6): 542-545.
- [7] 焦淑贤, 杨志夏, 赵林. 血小板输注无效. *中国输血杂志*, 2008, 21(4): 302-305.
- [8] Davis KB, Slichter SJ, Corash L. Corrected count increment and percent platelet recovery as measures of posttransfusion platelet response: problems and a solution. *Transfusion*, 1999, 39(6): 586-592.
- [9] 杜春红, 黄涛, 苑广洋, 等. 血小板输注无效患者 T、B 淋巴细胞抗原和血小板抗体表达的研究. *中华血液学杂志*, 2016, 37(3): 238-241.
- [10] 焦淑贤, 赵林, 周洪, 等. 血小板输注无效患者体内血小板反应性抗体特异性调查研究. *中国输血杂志*, 2009, 22(2): 117-120.
- [11] Engelfriet CP, Reesink HW. Detection of platelet-reactive antibodies in patients who are refractory to platelet transfusions, and the selection of compatible donors. *Vox Sang*, 2003, 84(1): 73-88.
- [12] Kickler TS. The challenge of platelet alloimmunization: management and prevention. *Transfusion Medicine Reviews*, 1990, 4(4): 8-18.
- [13] Slichter SJ, Davis K, Enright H, et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet

transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*, 2005, 105(10): 4106-4114.

- [14] 沈胜建, 赵明峰, 张宇辰. 血液病患者单采血小板输注无效的原因及对策. *山东医药*, 2014, 54(37): 4-7.
- [15] Alcorta I, Pereira A, Ordinas A. Clinical and laboratory factors associated with platelet transfusion refractoriness: a case-control stud-

y. *British Journal of Haematology*, 1996, 93(1): 220-224.

- [16] 盛楚华, 邱树彬, 邱小华. 血液病患者血小板输注效果评价及影响因素分析. *中国全科医学*, 2006, 9(16): 1332-1334. (2016-10-12 收稿, 2017-03-11 修回)

本文编辑: 闻欣

## · 论著 ·

# 免疫性血小板输注无效血液病患者血小板抗体特异性检测及分析\*

李明<sup>#</sup> 陈国安<sup>#Δ</sup> 沈钢 杨茹 (武汉血液中心, 湖北 武汉 430030)

**摘要:目的** 对本中心送检的免疫性血小板输注无效血液病患者进行血小板抗体特异性检测与分析。**方法** 采用固相凝集法对多次输注血小板并发生血小板输注无效(PTR)的血液病患者进行血小板抗体筛检, 对其中血小板抗体阳性患者采用 PAKPLUS 试剂盒进行血小板抗体鉴定。**结果** 共筛选出血小板抗体阳性标本 115 例, 其中抗-HLA-I 类 69 例(60.00%), 抗-HPA 3 例(2.61%), 抗-HLA-I 类和抗-HPA 43 例(37.39%); 46 例抗-HPA 阳性标本中, 单一血小板膜糖蛋白抗体 22 例(47.83%), 其中抗 GP II b/III a 6 例(13.04%), 抗 GP I a/II a 10 例(21.74%), 抗 GP IV 6 例(13.04%), 多个血小板膜糖蛋白抗体 24 例(52.17%)。**结论** 抗-HLA-I 和抗-HPA 是导致血液病患者免疫性 PTR 的主要因素, 血小板抗体检测可为临床血小板输注策略提供依据, 提高血小板输注效果。

**关键词:** 血小板输注无效; 血小板抗体; 血液病

**中图分类号:** R457.1 R331.1<sup>+</sup>43 R781.6<sup>+</sup>2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1021-03

**Detection and analysis of platelet antibody specificity from immunologic platelet transfusion refractoriness hematopathy patients** REN Ming, CHEN Guoan, SHEN Gang, YANG Ru. Wuhan Blood Center, Wuhan 430030, China

**Abstract: Objective** To screen out immunity platelet transfusion ineffective hematopathy patients, then make an examination and analysis of platelet antibody specificity respectively. **Methods** Solid phase agglutination method was used. Platelet antibody screen was conducted on hematopathy patient who received transfusion platelet repeatedly and experienced platelet transfusion refractoriness (PTR). PAKPLUS kit was adopted. Platelet antibody identification was conducted on platelet antibody positive patient. **Results** A total of 115 cases platelet antibody positive specimens were screened, including 69 cases of anti-HLA-I class (60.00%), three cases anti-HPA (2.61%), anti-HLA-I class and anti-HPA 43 cases (37.39%). Among 46 cases of anti-HPA positive antibody specimens, 22 cases were single platelet membrane glycoprotein antibody (47.83%), including 6 cases anti GP II b/III a (13.04%), 10 cases anti GP I a/II a (21.74%), 6 cases anti GP IV (13.04%), and 24 cases mixed platelet membrane glycoprotein antibody (52.17%). **Conclusion** Anti-HLA-I class antibody and anti-HPA antibody constitute the main factors to cause hematopathy patient immunity PTR. Platelet antibody detection can provide guidance for clinical platelet transfusion strategy, and improve platelet transfusion effect.

**Key words:** platelet transfusion refractoriness; platelet antibody; hematopathy

输注机采血小板是临床支持治疗血液疾病患者的重要手段, 血小板输注的效果直接影响到患者能否进行集中化疗及病情的转归。临床上很多血液疾病的患者需要长期多次输注机采血小板, 由此导致的小血小板输注无效(Platelet Transfusion Refractoriness, PTR)已成为输血治疗最常见的疑难问题。血小板回收率(Percentage Platelet Recovery, PPR)和血小板计数校正增加值(Corrected Count Increment, CCI)是

目前临床上判断血小板输注无效的 2 个重要评价指标。引起 PTR 的因素可分为非免疫性和免疫性 2 大类。非免疫因素主要包括血小板质量、发热及败血症、DIC、脾脏肿大、造血干细胞移植等, 免疫因素则主要是体内产生了血小板相关抗体和/或血小板特异性抗体<sup>[1]</sup>。我们对临床上血小板输注无效的血液病患者进行了血小板抗体检测, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 收集 2015 年 1 月-2016 年 6 月间武汉各大医院患有血液系统疾病, 临床上血小板输注无效, 且在本中心血小板交叉配型出现阳性, 经血小板抗体筛检为阳性的患者 115 名, 其中男性 30 人、女性 85 人, 年龄 2-89 岁(中位数

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.016

\* 基金项目: 武汉市卫生计生委科研项目(WG12B04); #共同第一作者; Δ通信作者: 陈国安(1969.10-), 男, 主任技师, 主要从事血液安全管理, 电话: 027-83641391, Email: 727098249@qq.com

年龄 42.4 岁)；血小板输注无效以血小板输注后 1 h PPR < 30%，24 h PPR < 20%，或 1 h CCI < 7.5，24 h CCI < 4.5 为判定标准。

**1.2 仪器与试剂** 血小板抗体鉴定试剂盒 (PAKPLUS, 批号 3003617), 血小板抗体检测试剂盒 (MASPAT Kit, 批号: 8000225046), 血小板筛选细胞 (MASPAT Screening Platelets, 批号 8000229746), 血小板指示红细胞 (MASPAT Indicator Red Cells, 批号 8000229441)。恒温酶标仪 (TECAN), 加样枪 (Eppendorf, 德国)。机采血小板全部由武汉血液中心提供, 符合质量标准。每袋血小板为 1 个治疗量, 含血小板数  $\geq 2.5 \times 10^{11}/L$ , 血小板保存温度为 22℃ 震荡保存。

**1.3 方法** 每例标本取 1 mL 血清于 EP 管内, 标记编号并放置 -20℃ 冰箱保存。

**1.3.1 血小板抗体筛查** 取 MASPAT Kit 微孔条, 编号, 设阳性对照及阴性对照孔。每孔加入 50  $\mu$ L 血小板抗体筛选细胞, 轻摇 10 s, 50 g 离心 5 min, 弃液体, 加洗涤液洗涤 3 次, 轻扣于吸水纸吸干液体。每孔加入 100  $\mu$ L LISS, 再分别加入 50  $\mu$ L 对应的患者血清、阳性对照及阴性对照血清。封口, 轻轻混匀, 37℃ 空气浴 35 min, 洗液洗涤 5 次扣干, 立即加入 50  $\mu$ L 抗人 IgG 和 50  $\mu$ L 指示红细胞, 轻轻混匀后 200 g 离心 5 min, 判读并记录试验结果。结果判定标准, 阳性: 指示红细胞均匀平铺于反应孔底部; 弱阳性: 指示红细胞结合区域大于阴性对照; 阴性: 指示红细胞聚集于反应孔底部中央形成细胞扣。阳性和弱阳性表示患者血清中含有血小板抗体, 阴性表示患者血清中不含血小板抗体。

**1.3.2 血小板抗体检测** 取 PAKPLUS 微孔板, 编号, A1-G1 为阴性对照, H1、H2 为阳性对照, 每孔 250  $\mu$ L 洗脱液工作液, 室温 5-10 min, 甩干。稀释液 SD 3:1 比例稀释阴阳性对照, 病人血清。每孔加稀释好的血清 50  $\mu$ L, 盖膜, 37℃ 空气浴 35 min, 取出甩干, 洗板 4 次。稀释液 SD 100:1 稀释抗-IgG, 除空白孔, 每孔加已稀释的抗-IgG 50  $\mu$ L, 盖膜, 37℃ 30 min, 取出甩干, 洗板 4 次。0.5 mL 去离子水溶解 1 瓶 PNPP 粉末, 再用底物缓冲液 SB 100:1 稀释, 除空白孔, 每孔加已稀释的 PNPP 100  $\mu$ L, 室温避光 30 min。每孔 100  $\mu$ L 终止液, 空白孔 200  $\mu$ L 终止液, 酶标仪比色, 405 nm 读值, 630 nm 为参照波长。结果判断: (阴性对照孔的均值)  $\times$  (2) = Cutoff 值, OD 值  $\geq$  Cutoff 值被判读为阳性。

**2 结果(表 1-4)**

**表 1 血液病患者病因构成 (n=115)**

	n	构成比 (%)
急性粒细胞白血病(AML)	47	40.87
再生障碍性贫血(AA)	30	26.09
骨髓增生异常综合症(MDS)	17	14.78
急性淋巴细胞白血病(ALL)	9	7.83
淋巴瘤	4	3.48
特发性血小板减少性紫癜(ITP)	3	2.61
慢性粒细胞白血病(CML)	3	2.61
多发性骨髓瘤(MM)	2	1.74

**表 2 115 例血液病患者血小板抗体频率分布**

	阳性例数	频率 (%)
单一抗-HLA-I	69	60.00
单一抗-HPA	3	2.61
抗-HLA-I + 抗-HPA	43	37.39
合计	115	100

**表 3 46 例 HPA 抗体分类**

血小板膜糖蛋白类型	阳性例数	阳性率 (%)
GP II b/III a	6	13.04
GP I a/II a	10	21.74
GP IV	6	13.04
GP II b/III a+GP I a/II a	6	13.04
GP I a/II a+GP IV	5	10.87
GP II b/III a+GP I a/II a+GP I b/IX	2	4.35
GP II b/III a+GP I a/II a+GP IV	3	6.52
GP II b/III a+GP I b/IX+GP IV	1	2.17
GP I a/II a+GP I b/IX+GP IV	2	4.35
GP II b/III a+GP I a/II a+GP I b/IX+GP IV	5	10.87

**表 4 血小板输注次数与血小板抗体阳性的关系**

输注次数	阳性例数	阳性率 (%)
$\leq 3$	9	7.83
4-7	37	32.17
$\geq 8$	69	60.00

**3 讨论**

血小板输注对血液病等是不可缺少的支持疗法<sup>[2]</sup>, 可以降低或减少患者的严重并发症及死亡率。但 PTR 是血小板支持治疗中 1 个非常棘手的问题, 研究和解决 PTR 问题已成为临床输血的 1 项重要课题。引起血小板输注无效的主要为免疫因素和非免疫因素。非免疫性因素很多, 包括血小板质量、发热及败血症、DIC、脾脏肿大、造血干细胞移植等; 免疫因素是指患者本身存在异常免疫状态或者接受免疫刺激产生同种免疫性抗体, 包括 ABO 抗体、血小板相关抗体(抗-HLA) 以及血小板特异性抗体(抗-HPA)。免疫性抗体能和表达相应抗原的血小板结合成为致敏血小板, 从而加速血小板抗体在体内被血液循环系统清除, 导致血小板输注无效<sup>[1]</sup>。引起 PTR 的大多为 HLA-I 类抗体, 有报道该抗体占所有免疫因素的 80% 和所有病因的 11.7%<sup>[3]</sup>, 其次为 HPA 抗体, 其引起的 PTR 约占所有病因 1.7%<sup>[4]</sup>, 约 10% 的 PTR 患者合并 HLA 和 HPA 抗体。

我们采用固相凝集法, 共筛选出 115 例血小板抗体筛检阳性标本, 进一步采用包被了 GP II b/III a、GP I a/II a、GP I b/IX、GP IV、HLA-I 类抗原的试剂对血小板抗体进行检测, 结果显示, 单一抗-HLA-I 类抗体 69 例, 占比 60.00%; 抗-HLA-I 类与抗-HPA 混合抗体 43 例, 占比 37.39%。115 例患者中有 112 例抗-HLA-I 类抗体阳性, 阳性率 97.39%, 高于国内文献报道的阳性率<sup>[5]</sup>。分析其原因可能为本次研究对象为免疫性血小板输注无效的血液系统疾病患者, 该类患者反复多次输注血小板, 输入的血小板中含有大量 HLA-I 类抗原, 机体容易对外源性血小板产生 HLA 抗体。文献报道输注滤除白细胞后的血小板可以有效减少 HLA 抗体的产生, 但仍然有 18.9% 的患者会产生同种免疫, 可能与输注次数呈正相关<sup>[6]</sup>。血液病, 尤其是白血病和免疫性血小板减少者,

容易产生同种免疫,引起血小板破坏加速,导致血小板输注无效。此外,目前国内输注血小板仅要求同型输注,血液病患者反复输注血小板容易刺激机体产生 ABO 以外抗体,导致再次输注不相合的血小板时,血小板遭到破坏。本文抗-HPA 抗体阳性共 46 例,阳性率 40.00%,可见抗-HPA 也是导致免疫性 PTR 的重要因素。抗-HPA 不论是单独检出还是和抗-HLA 抗体一起检出都具有临床意义<sup>[7]</sup>。目前有 33 个 HPA 抗原通过血清中相应的同种抗体而被确定,涉及的糖蛋白有 GP I a、GP I b $\alpha$ 、GP I b $\beta$  和 CD109、GP II b、III a 等,其抗原多态性多集中在 HPA-1-5 和 HPA-15<sup>[8]</sup>。本文 46 例抗-HPA 阳性标本中,单一的血小板膜糖蛋白抗体表达 22 例,占比 47.83%,分别为抗 GP I a/II a 10 例,抗 GP II b/III a 6 例,抗 GP IV 6 例;多种血小板膜糖蛋白抗体表达 24 例,占比 52.17%,其中较多的是抗 GP II b/III a+GP I a/II a 6 例,抗 GP I a/II a+GP IV 5 例,抗 GP II b/III a+GP I a/II a+GP I b/IX+GP IV 5 例,说明部分免疫性 PTR 的血液病患者其抗体是多种抗体或者自身抗体,相比单一性抗体,其寻找配合性血小板无疑更加困难。血小板特异性糖蛋白抗体产生的原因之一是因为 HPA 的基因具有单核苷酸多态性,抗体种类越多,越容易引起同种免疫反应。反复多次输注血小板可使 GP 抗原刺激受血者产生同种免疫性抗体,这是免疫性 PTR 产生的重要原因。血小板输注量和输注次数越多,患者体内免疫相关性血小板抗体的产生概率越高,也容易导致 PTR<sup>[9]</sup>,本文中输注 3 次及以下者病例数占比 7.83%,而输注 4-7 次以及 8 次及以上者占比高达 32.17%、60%。

如表 1 所示,本文选取的本中心 115 例临床上血小板输注无效且血小板抗体筛检阳性的血液病患者作为研究对象,按照疾病分类,AML、AA、MDS 排前三位,分别占比 40.9%、26.1%、14.8%,年龄多数集中在 30-50 岁,与文献报道类似<sup>[10]</sup>。这类患者往往由于大量使用细胞毒性药物,对血小板有较大毒性,造成患者体内血小板质和量的显著下降,因病情需要,大多数患者需要多次输注血小板,为易产生血小板抗体的人群。对于需要多次输血,尤其是患有 AML、AA、MDS 等疾病的血液病患者,应进行血小板抗体检测,必要时选择交叉配型相合的血小板予以输注,尽可能避免 PTR 的发生。

目前临床上绝大多数患者输注血小板时仅考虑 ABO 血型相合,而不做血小板抗体检测与交叉配型,是导致免疫性 PTR 的重要原因,对于血液病患者,往往需要多次输注血小板,其产生免疫性 PTR 的几率更高。我们建议将血小板抗体检测作为血小板输注前的常规检查,为临床血小板输注提

供依据。发生 PTR 的患者,如果血小板抗体检测阴性,应从患者自身及对血小板的保存等方面找原因,比如血小板本身的质和量、患者自身的状态、血小板的制备、保存、输注的速度等,这些因素可使患者输入的血小板被额外地消耗或破坏,以致达不到预期的输注效果<sup>[8]</sup>。如果患者血小板抗体检测为阳性,应进一步鉴定抗体类型,如为抗-HPA 抗体,应选择交叉配型相合的血小板输注,而抗-HLA- I 类抗体,除了选择交叉配型相合的血小板之外,还应尽可能的选择去白细胞血小板,条件成熟的地区可建立血小板受者和供者资料库<sup>[11]</sup>,实现对血液病患者进行个体化的血小板输注,提高血小板输注效果,避免血小板无效输注。

## 参考文献

- [1] 马金平,杨和军. 血小板输注无效的病因和对策. 中国输血杂志, 2012, 25(9): 906-910.
- [2] Panzer S, Eichelberger B, Koren D, et al. Monitoring survival and function of transfused platelets in Bernard-Soulier syndrome by flow cytometry and a cone and plate( let) analyzer ( Impact-R). Transfusion, 2007, 47(1): 103-106.
- [3] Rebullá P. Refractoriness to platelet transfusion. Curr Opin Hematol, 2002, 9(6): 516-520.
- [4] Fabris F, Soini B, Sartori R, et al. Clinical and laboratory factors that affect the post-transfusion platelet increment. Transfusion Sci, 2000, 23(1): 63-68.
- [5] 邓晶,夏文杰,叶欣. 血小板特异性糖蛋白抗体在血小板输注无效患者中分布的研究. 中国输血杂志, 2011, 24(3): 859-860.
- [6] 马光丽,方炳木,曲志刚. 血液病患者血小板输注临床疗效及相关因素分析. 中华全科医学, 2014, 12(10): 1540-1543.
- [7] 曹曰针,张琦,王苑. 影响患者血小板输注效果的原因分析. 中国输血杂志, 2014, 27(6): 578-580.
- [8] 唐利娟,周晓恒,宾琼. 人类血小板特异性抗原及其与特发性血小板减少性紫癜相关性研究进展. 中国输血杂志, 2016, 29(3): 326-329.
- [9] 杨帆,陈琳,刘铁梅. 血小板输注无效患者血小板特异性糖蛋白抗体表达的实验研究. 中国实验诊断学, 2016, 20(4): 620-622.
- [10] 董伟群,郭萍,佟力. 血液病患者血小板无效输注的免疫因素探讨. 中国输血杂志, 2009, 22(4): 304-305.
- [11] 陈涵薇,任明,张浩. 武汉地区人群血小板特异性基因(HPA-1~17)的多态性分析. 临床血液学杂志, 2014, 27(8): 634-637.

(2016-10-18 收稿,2017-04-19 修回)

本文编辑:李宜蔓



## · 论著 ·

## 血栓弹力图在创伤后大出血患者输血治疗中的作用

田艳 赖冬<sup>△</sup> 董婉妮 林妹婷 熊泳梅 姬长甫(厦门医学院附属医院 厦门市第二医院 输血科,福建 厦门 361021)

**摘要:目的** 探讨血栓弹力图(TEG)对创伤后大出血患者血液输注的指导意义。**方法** 回顾分析自 2014 年 3 月到 2016 年 3 月本院需要大量输血的创伤后大出血患者 122 例,将血栓弹力图指导下用血的患者 57 例为 A 组,只用凝血四项指导下用血的患者 65 例为 B 组。比较 2 组患者输血前后凝血 4 项和血栓弹力图各指标水平变化,创伤性凝血病的阳性率,输血后的预后情况及输血量的差异。**结果** 在输血后 A 组和 B 组患者凝血指标 APTT(s)、PT(s)、FIB(g/L)和 TT(s)的平均水平(35.82±8.58,34.82±8.58)、(12.22±2.57,13.22±2.16)、(2.82±1.33,2.56±1.25)和(15.49±4.01,14.62±3.85)都比输血前有明显改善( $P<0.01$ );A 组病人输血后好转率 66.7%高于 B 组的 47.7%( $P<0.05$ ),而手术后渗血时间(30.68±22.76)h 和病死率 15.8%低于 B 组的(39.73±25.59)h 和 32.3% ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );A 组患者 TEG 检测创伤性凝血病的阳性率 73.7%高于凝血 4 项检测的阳性率 28.1% ( $\chi^2=17.36$ ,  $P<0.01$ )。在用血方面,A 组红细胞(U)和血浆(mL)的使用量(6.93±5.16,700±604.53)明显低于 B 组(12.38±9.01,1032.86±846.56) ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );而血小板(治疗量)和冷沉淀(U)(0.89±0.80,16.31±12.80)高于 B 组(0.37±0.77,8.69±11.85) ( $P<0.01$ ),A 组用血总量低于 B 组。**结论** TEG 不仅能针对性指导创伤后大出血病人的血液输注,还能更有效地改善病人预后并节约血液资源。

**关键词:** 血栓弹力图;创伤;出血;凝血指标

**中图分类号:** R457.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1024-03

**To study the effect of the thrombelastogram to the patients after blood transfusion of traumatic hemorrhage** TIAN Yan, LAI Dong, DONG Wannan, LIN Meiting, XIONG Yongmei, JI Changfu. The affiliated Hospital of Xia men Medical College, The second Hospital of Xiamen, Fujian 361021, China

**Abstract: Objective** To study the guiding significance of thrombelastogram to the patients after blood transfusion of traumatic hemorrhage. **Methods** Totally 122 patients who were treated in my hospital after blood transfusion of traumatic hemorrhage. A group had 57 patients who were guided by the thrombelastogram results, the other 65 patients belonged to B group. Compared of every index which were detected by thrombelastogram and traditional coagulation inspection. For example: the positive rate of coagulation disorders, the prognosis evaluation before and after transfusion, the quantity of transfusion. **Results** After transfusion, the levels of the two groups' thrombin indexes about APTT(s), PT(s), FIB(g/L) and TT(s) (35.82±8.58, 34.82±8.58), (12.22±2.57, 13.22±2.16), (2.82±1.33, 2.56±1.25) and (15.49±4.01, 14.62±3.85) were better than before ( $P<0.01$ ); Compared with B group 55.4%, the improvement rate 66.7% were higher ( $P<0.05$ ), but the bleeding time (30.68±22.76)h and death rate were lower (15.8%) ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The patients about A group who detected by thrombelastogram had higher positive rate 73.7% of coagulation disorder than the patients who detected by traditional coagulation inspection 28.1% ( $\chi^2=17.36$ ,  $P<0.01$ ). The usage amount of red cell suspension (U) and plasma (ml) (6.93±5.16, 700±604.53) were less than B group (12.38±9.01, 1032.86±846.56) ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), but the cryoprecipitation (U) and blood platelet (Curative dose) (0.89±0.80, 16.31±12.80) were more than B group (0.37±0.77, 8.69±11.85) ( $P<0.01$ ), and the quantum of transfusion were less. **Conclusion** Thrombelastogram were efficient and accurate in guiding the blood products infusion, which could improve prognosis and avoid the abuse of blood products under the guarantee of the thrombelastogram.

**Key words:** thromboelastography; trauma; hemorrhage; coagulation indicator

创伤后由凝血障碍导致的大出血是引起创伤后 24 h 内死亡的重要因素,约有 16.3% 的患者发生凝血功能障碍<sup>[1]</sup>,因此监测创伤后的凝血功能并及时有效改善创伤后早期低凝状态显得尤为重要。TEG<sup>[2]</sup> 是 1 种在体外模拟人体凝血全过程的检测方法,它能在短时间内提供凝血因子水平、纤

维蛋白和血小板的聚合功能以及是否纤溶等相关信息,为及时有效的精准输血提供依据。本试验旨在比较血栓弹力图和传统凝血指标对输血的指导,分析如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2014 年 3 月到 2016 年 3 月来本院急诊科和 ICU 就诊需要大量输血的多发伤危重病例,收集损伤严重程度评分(ISS)评分 $\geq 16$ <sup>[3]</sup>的患者 122 例。将患者分为 2 组:

2015 年 4 月到 2016 年 3 月本院 TEG 指导下用血的患者 57 例为 A 组,2014 年 3 月到 2015 年 3 月未使用 TEG 而只用凝血 4 项指导用血的患者 65 例为 B 组。其中男 72 例,女 50 例。平均年龄(45.25±7.26)岁。纳入标准:1)年龄>18 岁;2)伤后 6h 内入院;3)明确外伤史;4)APACHE II 评分>6 分。排除标准:1)既往有先天性凝血功能障碍;2)存在肝功能原发性损害或有长期酗酒史;3)既往 6 个月内曾经服用过抗凝药物;4)曾经接受过抗凝血酶或活化蛋白 C 治疗者。

1.2 检测方法与参考标准

1.2.1 检测方法 A 组患者分别检测其凝血 4 项活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)和 TEG(37℃)各指标检测,并计算 2 种方法检测创伤性凝血病的阳性率;B 组患者只检测凝血 4 项。

1.2.2 正常参考值 传统凝血正常参考值 APTT:26.0-37.0 s,TT:12.0-17.0 s,PT:9.0-13.0 s,FIB:(2.0-4.0)g/L;TEG 指标正常参考值 R 值:8-10 min,MA 值:50-70 mm,α 角:53°-72°,K 值:1-3 min。

1.2.3 数据评判标准 传统凝血指标以 APTT>60 s,TT>18 s,PT>15 s 同时伴有血小板(PLT)及 FIB 下降为创伤性凝血病阳性指标。TEG 以 R 值、K 值延长,α 角度减小,MA 变窄为创伤性凝血病阳性指标<sup>[4]</sup>。

1.2 输血指征 血液输注指征依据临床输血技术规范。B 组患者血浆和冷沉淀输注指征为:APTT、PT 延长超过 1.5 倍输注血浆,FIB<0.8 输注冷沉淀;A 组患者血浆、冷沉淀和血小板的输注以 TEG 结果为主,参考凝血 4 项结果。根据 2016 年严重创伤出血处理的欧洲指南<sup>[5]</sup>,如果出血明显且 TEG 显示为功能性纤维蛋白原缺乏或血浆纤维蛋白原低于 1.5-2.0 g/L,应输注纤维蛋白原或冷沉淀,并根据 TEG 指导抗纤溶治疗。

1.3 统计学处理 所有数据应用 SPSS17.0 统计软件进行分析。计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,2 组间比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。组间率的比较,采取  $\chi^2$  检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者凝血指标比较 凝血指标 APTT、PT、FIB 和 TT 的平均水平均有明显改善,其中 APTT、PT 和 TT 均明显降低(*P*<0.01),而 FIB 则明显升高(*P*<0.01),见表 1;A 组中 57 例患者在血栓弹力图指导下 R 值和 K 值均明显降低(*P*<0.01),而 α 角和 MA 值则明显升高(*P*<0.01),凝血水平也明显提高,见表 2。

表 1 2 组凝血 4 项指标比较

	A 组(n=57)		B 组(n=57)	
	输血前	输血后	输血前	输血后
APTT(s)	59.23±25.93	35.82±8.58	54.17±22.77	34.82±8.58
PT(s)	17.58±8.11	12.22±2.57	17.19±4.20	13.22±2.16
FIB(g/L)	1.06±0.93	2.82±1.33	1.17±0.67	2.56±1.25
TT(s)	19.47±5.81	15.49±4.01	17.73±8.06	14.62±3.85

注:A 组输血前后比较,*t* 分别为:6.86,5.04,8.36,4.45,*P* 均<0.01; B 组输血前后比较,*t* 分别为:6.36,6.68,2.77,7.50,*P* 均<0.01

表 2 2 组血栓弹力图各指标比较

	R	K	α	MA
输血前	15.75±6.78*	13.58±6.13*	16.24±12.12*	24.45±18.56*
输血后	8.45±2.67	3.73±1.93	49.65±11.72	48.33±8.65

\* 与输血前相比,*t* 分别为:7.56,11.57,14.96,8.80,*P* 均<0.01

2.2 A 组患者分别用 TEG 和凝血 4 项检测创伤性凝血病的阳性率比较 TEG 检测阳性率 73.7% 高于凝血 4 项检测的阳性率 28.1%;2 种方法检测均为阳性患者例数为 11;均为阴性患者例数为 10;TEG 检查为阳性,凝血 4 项检测阴性患者例数为 31;TEG 检查为阴性,凝血 4 项检测阳性患者例数为 5;行配对四格表  $\chi^2 = 17.36, P < 0.01$ 。

表 3 A 组患者分别用 TEG 和凝血 4 项检测创伤性凝血病的阳性率比较

	凝血 4 项检测阳性	凝血 4 项检测阴性	合计
TEG 检测阳性	11(11.79)	31(30.31)	42
TEG 检测阴性	5(4.21)	10(10.79)	15
合计	16	41	57

注:A 组患者 TEG 和凝血 4 项 2 种方法检测创伤性凝血病的阳性率比较  $\chi^2 = 17.36, P < 0.01$

2.3 2 组预后情况比较 A 组共有 38 例患者输血后症状好转,好转率为 66.7%,而 B 组 65 例中有 31 例输血后好转,好转率为 47.7%,差异有统计学意义 (*P*<0.05)。A 组手术后渗血时间为(30.68±22.76)h,低于 B 组(39.73±25.59)h,差异有统计学意义(*P*<0.05)。A 组病死率为 15.8%,低于 B 组 32.3%,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

表 4 2 组预后各指标比较

	n	好转率(%)	病死率(%)	渗血时间(h)
A 组	57	38(66.7)	9(15.8)	30.68±22.76
B 组	65	31(47.7)	21(32.3)	39.73±25.59

注:率的比较用卡方检验, $\chi^2$  值分别为 4.41 和 4.46,*P* 均<0.05;渗血时间 2 组比较用 *t* 检验,*t*=2.05,*P*<0.05

2.4 2 组 24 h 用血情况比较 A 组红细胞悬液以及血浆的平均使用量明显低于 B 组 (*P*<0.01),总用量低于 B 组。而冷沉淀和血小板的平均使用量则明显高于 B 组 (*P*<0.01),见表 5。

表 5 2 组用血量比较

	A 组的用血量(n=57)		B 组的用血量(n=65)	
	平均用血量	总用量	平均用血量	总用量
红细胞(U)	6.93±5.16*	187	12.38±9.01	446
冷沉淀(U)	16.31±12.80	394	8.69±11.85	294
血浆(mL)	700±604.53**	13 100	1 032.86±846.56	36 150
血小板(治疗量)	0.89±0.80*	24	0.37±0.77	13

\* 与 B 组相比 *t* 分别为:4.02,3.65,*P* 均<0.01; \*\* 与 B 组相比 *t* 为:2.45,*P*<0.05

3 讨论

选择精准的检测方法指导用血是有效改善凝血、提高救治率的前提。指导输血的传统方法以血常规、凝血 4 项为主。近来随着 TEG 的研究和推广,临床显示其能够实时、动态、准确的反映创伤患者凝血功能的变化,临床指导效果显著。其检测标本是全血而不是血清,能在血样采集 30 min 内对血块形成及其稳定性做出分析,对凝血过程中重要因素进

行直接检测,监测的是参与凝血过程所有物质的综合功能状态,能及时准确地还原机体的真实凝血状况<sup>[6]</sup>。而传统的凝血 4 项<sup>[7]</sup>检验血清标本一般需要 40-120 min,单次检测反映的仅是某个时间点的凝血指标如:凝血因子、纤维蛋白原等的定量计数,且无法检测其功能也不能动态反映凝血指标的变化。因此对于需紧急抢救、病情易变的危重创伤患者来说,TEG 更能满足指导临床输血的需要。

凝血 4 项改善凝血的输血原则一般是 APTT、PT 延长超过 1.5 倍输注血浆, FIB<0.8 输注冷沉淀。凝血 4 项分别独立反映各种凝血因子和 FIB 的水平,且对纤维蛋白原的检测也只是某个特定阶段值,无法检测其功能,还存在一定的局限性。目前虽然采用 TEG 指导输血还没有统一的标准,但已有多项指南推荐使用 TEG 指导临床用血。严重创伤出血处理的欧洲指南显示 TEG 在判断纤维蛋白水平和聚合功能方面以及指导抗纤溶治疗方面有较大的提示作用<sup>[5]</sup>。在 TEG 检测中 R 值反映凝血过程中所有凝血因子的综合作用,有许多研究认为 R 值和 APTT、PT 等指标呈正相关的关系<sup>[8]</sup>。一般来说 R 值延长时有 2 种可能,第 1 种是凝血因子缺乏,第 2 种是纤维蛋白原分解生成纤维蛋白的能力下降。其中,第 1 种当凝血因子缺乏时,表现为 APTT、PT 都延长,而如果  $\alpha$  角和 K 值正常或接近正常时,R 值延长可能是凝血酶不足分解纤维蛋白原能力下降所致,这种情况下补充血浆效果更好;第 2 种情况 APTT、PT 都延长,当 FIB 水平低于 0.8 时,提示补充冷沉淀;可是当 FIB 的水平在正常或大于 1.5 时,依照传统的输血指征(FIB<0.8 输注冷沉淀)可能不会及时补充冷沉淀,而体现在 TEG 检测上可能出现  $\alpha$  角下降而 K 值延长的结果,提示低凝的原因是纤维蛋白聚合能力下降需要及时补充冷沉淀,这种情况仅仅依靠 APTT 和 PT 结果延长判断补充血浆时,可能会出现纤维蛋白原被凝血酶过度分解而加重低凝的后果。这也是目前传统凝血 4 项检测手段的不足之处。不仅如此,在判断纤溶方面 TEG 也有及时提供直观依据的优势,TEG 的血滴图曲线走势能清楚反映是否纤溶。

我们发现输血后 2 组患者凝血指标较前均有明显改善,在输血后好转率方面,A 组比 B 组明显增高( $P<0.05$ );在手术后渗血时间和病死率方面 A 组低于 B 组( $P<0.01$ );在用量方面 A 组远低于 B 组,其中红细胞和血浆使用量显著低

于 B 组( $P<0.01$ ),而冷沉淀和血小板则明显高于 B 组( $P<0.01$ )。另外既往研究发现创伤早期最常发生的以凝血和纤溶异常为主的凝血功能紊乱即创伤性凝血病,能使创伤造成的死亡率增加 4 倍<sup>[4]</sup>。本研究中发现 A 组创伤性凝血病的阳性率也明显高于 B 组( $P<0.01$ ),这也说明 TEG 能更及时地判断创伤患者的凝血障碍的发生。因此,TEG 在指导创伤后大出血患者输血方面优于传统凝血方法。

综上所述,TEG 是个时效性强,有一定预判性的实验,由于它能及时辅助判断低凝的原因和是否伴有纤溶,由此针对性输注成分血不仅能有效改善低凝、避免血液浪费,且对于凝血药物的合理使用方面也有重要的指导意义。

## 参考文献

- [1] MacLeod JB, Winkler AM, McCoy CC, et al. Early trauma induced coagulopathy (ETIC): prevalence across the injury spectrum. *Injury*, 2014, 45(5): 910-915.
- [2] Da Luz LT, Nascimento B, Shankarakutty AK, et al. Effect of thromboelastography (TEG<sup>®</sup>) and rotational thromboelastometry (ROTEM<sup>®</sup>) on diagnosis of coagulopathy, transfusion guidance and mortality in trauma: descriptive systematic review. *Crit Care*, 2014, 18(5): 518.
- [3] 刘红升,王曼,苏琴,等.急性重症创伤患者凝血功能异常的临床意义. *创伤外科杂志*, 2014; 16(5): 399-402.
- [4] 支少敏,谢建刚,王玉同,等.血栓弹力图在重型多发伤患者创伤性凝血病早期诊断中的意义. *临床急诊杂志*, 2015; 16(12): 917-919.
- [5] Rolf R, Bertil B, Vladimir C, et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care*, 2016, 20(1): 100.
- [6] Da Luz LT, Nascimento B, Rizoli S. Thromboelastography (TEG<sup>®</sup>): practical considerations on its clinical use in trauma resuscitation. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2013, 21(1): 29.
- [7] Müller MC, Meijers JC, Vroom MB, et al. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Crit Care*, 2014, 18(1): R30.
- [8] 侯涛,赵广超,邵小宝,等.血栓弹力图与常规凝血试验指导临床输血的对比. *临床检验杂志*, 2016, 34(10): 739-741.

(2017-03-01 收稿, 07-20 修回)

本文编辑:李宜蔓

欢迎登录《中国输血杂志》网站与采编平台

www. cjbt. cn

bloo. cbpt. cnki. net

## 本院储存式自体输血的临床应用及问题分析

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

**摘要:目的** 自体输血的应用可减少异体输血和输血传播疾病,且能有效避免同种免疫反应,应受到重视。**方法** 2013-2015 年本院储存式自体输血情况进行统计,并初步分析 2015 年 4 个外科科室储存式自体血的应用,同时统计自体血报废率。选取 2015 年 1-12 月择期手术患者 216 例符合储存式自体输血指征作为研究对象,随机分成 2 组,术前储备自体血,手术过程中或术后仅输注自体血患者 135 例为观察组;术前未进行自体血储存,手术过程中或术后输注异体血患者 81 例为对照组。对比 2 组患者的输血不良反应发生率、平均住院日等资料,并做统计学分析。**结果** 2013-2015 年储存式自体输血共采集 756 例,采集自体血 1 385 U,主要分布在普通外科(340/756,45.0%)、血液科(176/756,23.3%)、泌尿外科(122/756,16.1%)及妇产科(46/756,6.1%),占 90.5%(684/756)。3 年储存式自体血报废率约为 6.6%(91.5 U / 1385 U)。与对照组相比,观察组患者平均住院日显著降低(20.38±8.868 vs 23.23±11.718,  $P<0.05$ )。其中泌尿外科患者平均住院日显著降低(17.28±5.575 vs 24.16±14.546,  $P<0.05$ )。**结论** 对于手术出血量较少( $\leq 800$  mL)的择期手术患者而言,储存式自体输血是一种安全有效的备血方案,可缓解血液紧张对手术的影响,利于患者术后恢复,缩短患者平均住院时间。因此,应加大储存式自体输血的宣传与推广,另需重视其报废情况。

**关键词:** 储存式自体输血;异体输血;择期手术

**中图分类号:** R457.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1027-04

**Clinical application and problem analysis of stored autologous transfusion in our hospital** LI Xiaowei, FAN Xiu, LIU Juan, LI Cuiying. Department of Transfusion, the Air Force General Hospital of PLA, Beijing 100142, China. Corresponding author: LI Cuiying

**Abstract: Objective** The application of autologous blood donation can decrease allogeneic blood transfusion and transmitted disease, and can effectively avoid the homoimmune reaction, should be taken seriously. **Methods** Statistical analysis of the clinical use of autologous blood in our hospital during 2013-2015, and summarized the unused rate about storage of autologous blood transfusion. Meanwhile, the application of stored autologous blood in 4 surgical departments in 2015 was analyzed. The patients ( $n=216$ ) received surgical operation from January to December 2015, were collected and divided into two groups. The control group ( $n=81$ ) consisted of patients who did not donate autologous blood, and transfused allogeneic blood during surgery or surgery. 135 cases who donated autologous blood, and transfused autologous blood during operation or after operation were observation group. The incidence of adverse effects of blood transfusion and average hospital stay were compared between the two groups, and statistical analysis was performed. **Results** Stored autologous blood collected 756 cases (1 385 U), mainly distributed in the general surgery (340/756, 45.0%), hematology (176/756, 23.3%), urinary surgery (122/756, 16.1%), and gynecology obstetric (46/756, 6.1%), accounting for 90.5% (684/756). The storage of autologous blood transfusion in 2013-2015 unused rate is about 6.6% (91.5 U/1 385 U). Compared with the allogeneic blood transfusion group, the average hospital stay and of autologous transfusion were significantly lower (20.38±8.868 vs 23.23±11.718,  $P<0.05$ ). Average hospital stay in urinary surgery was remarkably decreased (17.28±5.575 vs 24.16±14.546,  $P<0.05$ ). **Conclusion** Autologous blood transfusion is a safe and effective blood transfusion regimen for elective surgery patients with less operative bleeding ( $\leq 800$  mL). It can relieve the influence of blood tension, reduce the amount of intraoperative blood loss, facilitate postoperative recovery, and lessen the patient's medical expenses. Therefore, storage of autologous blood transfusion should vigorously propaganda and promotion, but the discard rates should be attention.

**Key words:** preoperative autologous blood donation; allogeneic blood transfusion; elective surgical procedures

输血作为 1 种特殊的治疗手段应用于临床已有数百年历史,对于挽救大出血患者生命具有不可取代的作用。随着

医疗事业的不断发展,医疗机构逐渐壮大,输血技术也日趋成熟,输血有关的血液紧缺及输血引起传染病的问题越来越凸显。因而必须正确科学、合理规范并依法使用血液资源,达到安全输血的目的<sup>[1]</sup>。自体输血是指采集患者自身的血液或血液成分,或回收手术或创伤区无污染的血液,经保存和(或)处理后当自身手术或紧急情况需要时回输给患者的

一种输血疗法<sup>[2]</sup>。它不仅部分缓解血液紧张,而且还可以避免输血不良反应和经输血传染疾病的风险,患者的输血治疗成本降低,输血治疗安全感倍增,因此自体输血应受到重视<sup>[3-4]</sup>。为了进一步节约血液资源、提升合理用水水平、减少输血引起的传染病,现将本院 2013-2015 年储存式自体输血应用及报废情况进行统计,并分析 2015 年择期手术患者储存式自体输血的应用。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日输血科信息管理系统统计资料。2015 年 1-12 月来本院进行手术,符合储存式自体输血指征的患者随机分成 2 组,术中出血量较少( $\leq 800$  mL)实施储存式自体血 135 例作为观察组,未进行储存式自体输血,术中或术后仅输注异体血患者 81 例作为对照组。观察组中男 63 例,女 72 例,年龄 27-78 岁,平均年龄(55.4 $\pm$ 10.1)岁;对照组中男 30 例,女 51 例,年龄 28-85 岁,平均年龄(56.9 $\pm$ 14.6)。2 组患者性别和年龄上未见显著差异( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 采集方法** 患者纳入标准:根据《临床输血技术规范》要求,患者心、肝、肾、肺功能正常,男性血红蛋白 $>120$  g/L,女性 $>110$  g/L,血细胞比容 $>0.33$ ,无感染性疾病及不适应并发症。采血前准备:临床医师根据患者估计术中出血量制定采血方案,嘱咐患者采血前补充铁剂及叶酸,采血当天早餐应清淡,适当饮水。医护人员测定患者血压和脉搏,并耐心与患者交谈,询问患者过敏史等,告知其采血过程及注意事项,消除患者紧张、焦虑情绪。采血标准:医护人员严格消毒,选择患者前臂清晰可见的静脉穿刺。1 次采集血液 200-400 mL,2 次采血间隔不少于 3 d,通常术前 1-7 d 完成采血。采血后嘱咐患者多休息,多喝水。血袋应立即密闭封口,核对患者申请单,并登记患者姓名、科室、住院号及血型等,信息无误后将血袋置于 4℃ 冰箱保存,术中或术后回输。

**1.3 统计单位及换算方法** 所有用水量均以单位(U)计算,全血每 200 mL 为 1 个单位(U);成分血 200 mL 全血分离制备为 1 个单位(U);血浆每 100 mL 为 1 个单位(U);浓缩血小板每 10 个单位为 1 个单位(U);机采血小板每 1 个治疗量为 1 个单位(U);自体血每 200 mL 为 1 个单位(U)。

**1.4 统计方法** 运用 SPSS 16.0 进行统计学处理及分析,计数资料以例数表示,组间比较采用 $\chi^2$  检验,计量资料用 $\chi^2$  检验,计量资料用 $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用 T 检验或非参数 Mann-Whitney U 检验, $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 2013-2015 年储存式自体血基本情况** 3 年间,756 例患者在本科室进行储存式自体采血,共采集 1 385 U,其中男性 462 例(462/756,61.1%),女性 294 例(294/756,38.9%);年龄分布多集中在 30-55 周岁之间(428/756,56.6%),55 周岁以上患者 273 例(273/756,36.1%)(表 1)。

**2.2 2013-2015 年储存式自体血科室分布情况** 756 例采集自体血患者主要分布在普通外科 340 例(340/756,45.0%,615 U)、血液科 176 例(176/756,23.3%,326 U)、泌尿外科

122 例(122/756,16.1%,221.5 U)和妇产科 46 例(46/756,6.1%,90 U),其他用水量较大科室,比如骨科、心外科、胸外科等比例不到 10%(表 2)。

表 1 储存式自体血基本情况

	2013 年	2014 年	2015 年	总数(例)	总量(U)
<i>n</i>	245	213	298	756	1 385
性别 男	144	135	183	462	861
女	101	78	115	294	524
年龄 <30	21	17	17	55	94
30-55	141	114	173	428	783
>55	83	82	108	273	508

表 2 储存式自体血临床科室分布情况

	2013 年	2014 年	2015 年	总数(例)	总量(U)
<i>n</i>	245	213	298	756	1 385
普通外科	116	113	111	340	615
血液科	59	54	63	176	326
泌尿外科	36	25	61	122	221.5
妇产科	12	2	32	46	90
耳鼻喉科	6	8	12	26	50
肝胆外科	8	5	11	24	42.5
消化内科	4	4	3	11	21
骨科	1	1	2	4	7
空勤科	0	0	2	2	4
涉外科	0	0	1	1	2
肿瘤内科	0	1	0	1	2
干部病房	1	0	0	1	2
神经外科	1	0	0	1	1
胸外科	1	0	0	1	1

**2.3 择期手术自体输血患者统计分析** 2015 年 1-12 月择期手术患者共采集储存式自体血 407.5 U,90% 以上分布在普通外科、泌尿外科、妇产科及肝胆外科。因此选择普通外科、泌尿外科、妇产科和肝胆外科储存式自体输血患者作为观察组,同一病种输注异体血患者作为对照组。2 组患者基本情况见表 3-5,统计分析未见性别、年龄上存在显著差异( $P>0.05$ )(表 3)。术中出血量 $\leq 800$  mL 时,与对照组相比,观察组患者平均住院日和术中出血量均显著降低( $P<0.05$ )(表 4-5)。泌尿外科患者平均住院日和术中出血量显著降低( $P<0.05$ ),普通外科、妇产科和肝胆外科患者平均住院日亦有降低趋势;普通外科和妇产科术中出血量显著降低( $P<0.05$ )。

表 3 2 组外科择期手术患者分布情况统计

	对照组		观察组	
	性别(男/女)	平均年龄	性别(男/女)	平均年龄
普通外科	19/15	59.6 $\pm$ 15.0	37/33	56.3 $\pm$ 10.2
泌尿外科	9/10	63.6 $\pm$ 17.0	24/16	57.6 $\pm$ 10.5
妇产科	~/23	47.1 $\pm$ 6.7	~/20	49.0 $\pm$ 6.3
肝胆外科	2/3	58.2 $\pm$ 3.0	2/3	51.2 $\pm$ 6.8
合计	30/51	56.9 $\pm$ 14.6	63/72	56.9 $\pm$ 14.6

表 4 2 组患者平均住院日结果比较

	对照组	观察组
普通外科	27.15 $\pm$ 9.758	24.61 $\pm$ 9.167
泌尿外科	24.16 $\pm$ 14.546	17.28 $\pm$ 5.575
妇产科	17.09 $\pm$ 9.830	14.35 $\pm$ 5.613
肝胆外科	21.40 $\pm$ 11.014	10.00 $\pm$ 2.345
合计	23.23 $\pm$ 11.718	20.38 $\pm$ 8.868

注:2 组患者总体平均住院日比较, $t=2.027, P<0.05$ ;普通外科比较, $t=1.294, P>0.05$ ;泌尿外科比较, $Z=-2.202, P<0.05$ ;妇产科

比较,  $t=1.098$ ,  $P>0.05$ ; 肝胆外科比较,  $Z=-1.792$ ,  $P>0.05$

表 5 2 组患者术中出血量结果比较

科室	对照组	观察组
普通外科	210.31±191.808	129.09±98.648
泌尿外科	313.33±274.165	73.69±95.660
妇产科	489.11±328.891	266.00±245.880
肝胆外科	40.00±14.142	83.33±28.868
合计	303.19±277.167	145.42±149.436

注:2 组患者总体术中出血量比较,  $Z=-3.407$ ,  $P<0.05$ ; 普通外科比较,  $Z=-2.244$ ,  $P<0.05$ ; 泌尿外科比较,  $Z=-4.589$ ,  $P<0.05$ ; 妇产科比较,  $Z=-2.023$ ,  $P<0.05$ ; 肝胆外科比较,  $Z=-0.904$ ,  $P>0.05$

2.4 储存式自体输血报废情况 2013-2015 年, 累积报废自体血 91.5 U, 平均报废率约为 6.6% (91.5 U/1 385 U)。其中泌尿外科报废 47.5 U, 报废率 21.4% (47.5 U/221.5 U); 耳鼻喉科报废 8 U, 报废率 16.0% (8 U/50 U) 等(表 6)。

表 6 储存式自体输血报废统计

	2013 年 (U)	2014 年 (U)	2015 年 (U)	报废总量 (U)	报废率 (%)
泌尿外科	11	6	30.5	47.5	21.4
耳鼻喉科	4	0	4	8	16.0
骨科	0	0	1	1	14.3
血液科	10	4	7	21	6.4
消化内科	1	0	0	1	4.8
肝胆外科	1	0	0	1	2.4
普通外科	4	6	2	12	2.0
合计	31	16	44.5	91.5	6.6

注: 报废率为报废总量与储存式自体血总量(表 2)之比

### 3 讨论

储存式自体输血已有近百年历史, 国外应用较早, 我国目前仍处于起步阶段。美国要求择期手术患者自体输血量占总输血量的 80%-90%; 20 世纪末, 日本要求术前自体备血 2-3 U 的病例达 80%-90%; 澳大利亚与欧美等发达国家择期手术患者采用储存式自体血患者 >60%<sup>[5]</sup>。2000 年, 卫生部颁发《临床输血技术规范》附件 2《自体输血指南》要求三甲医院自体输血率 >20%。为进一步保障自体输血的推广, 2012 年卫生部颁布《医疗机构临床用血管理办法》, 要求医疗机构应动员符合自体输血指征的患者进行自体备血, 提高输血疗效和安全性; 输血科及血库有义务推动自体输血等血液保护措施及输血新技术。大量研究报道, 储存式自体血应用于普外科、心外科、骨科及妇产科等手术中的安全性和实用性已被医学界广泛认可<sup>[6-8]</sup>。尽管如此, 在我国自体输血率仍很低, 与发达国家相比差距较大。因此我们总结了本院储存式自体输血的应用情况, 发现骨科、心外科和胸外科等用血量较大的科室储存式自体输血例数较低, 应积极与临床医生沟通, 加大储存式自体血的宣传; 同时分析发现 4 个外科科室储存式自体输血患者平均住院日和术中出血量显著低于输注异体血患者。

储存式自体输血是患者术前将自己的血液预存在输血科 4℃ 专门储血冰箱, 术中或术后回输以满足输血需求的一种输血疗法<sup>[9]</sup>。有文献报道, 相比异体输血, 自体输血在择期手术患者中未见显著免疫功能抑制作用, 且可以增加患者术后抗感染能力<sup>[10]</sup>。此外, 自体输血可以降低关节置换患

者术后血栓发生率, 减少妇产科患者大出血时异体血的用量, 符合自体血采集指征的心外科患者和老年人患者亦可减少异体血用量、节约血液资源等等<sup>[11-12]</sup>。自体输血除了具有上述优点外, 还可以避免发生同种异体免疫反应及传播疾病的风险, 刺激骨髓细胞增生加速, 输血不良反应发生率降低, 利于患者术后恢复, 且治疗成本相对较低<sup>[3]</sup>。最后对于稀有血型患者, 为了保证手术按期顺利进行, 更应大力提倡自体输血<sup>[13]</sup>。

储存式自体输血可以减少患者术中出血量及平均住院日<sup>[4,8,12]</sup>, 本研究中输注自体血组相比输注异体血组患者平均住院日及术中出血量均显著降低 ( $P<0.05$ ), 两组输血过程中均未发生发热、过敏等不良反应。常莹等<sup>[8]</sup>推测采血后患者处于轻度血液稀释状态, 可以降低血液黏滞度, 改善微循环, 减少血液破坏和术中失血量, 且轻度血液稀释不会对红细胞携氧能力, 血液凝血功能及心、脑、肾等带来过多不利影响。统计分析发现, 泌尿外科输注自体血患者平均住院日和术中出血量显著降低 ( $P<0.05$ ), 普通外科、妇产科和肝胆外科患者平均住院日和术中出血量亦有降低趋势。

与此同时, 有报道称储存式自体输血浪费情况较严重, 甚至超过 50%<sup>[14]</sup>。本院储存式自体血也存在报废现象, 报废率约为 6.6%。本研究中部分患者虽然出血较少, 一般术后血红蛋白浓度低于采集前, 为了促进患者术后恢复, 建议回输给患者, 减少血液浪费。另有研究分析患者出血量不同时, 储存式自体输血组和异体输血组的输血率: 当患者术中出血量 <400 mL 时, 自体输血增加了患者输血的可能性, 没有根本节约异体血; 出血量在 400-800 mL (血红蛋白 <125 g/L) 之间时, 实施自体输血不但减少了异体血的输注率, 还相对降低了异体血的输注量; 当出血量 >800 mL 时, 自体输血可以在一定程度上节约异体血<sup>[15]</sup>。因此, 临床医生需要根据患者术中出血量和自身实际情况严格掌控患者储存式自体血采集标准, 降低血液浪费, 减少患者不必要的医疗负担。

综上, 本文研究结果充分证实临床择期手术患者实施储存式自体输血, 不仅可以缓解临床用血紧张等问题, 更利于患者术后恢复, 减少平均住院日, 从经济和安全性等各个方面均有无可取代的优势。血源紧张、稀有血型、特殊病例等情况往往导致临床手术不能如期进行, 耽误患者的最佳治疗时机, 增加医疗纠纷的可能。因此, 临床医生在预计择期手术中出血量大, 需要输血治疗, 且术前自身健康状况良好的患者中应大力推广储存式自体输血。

### 参考文献

- [1] 杨春立. 浅谈自身输血的临床意义. 中国中医药现代远程教育, 2011, 09(8): 136.
- [2] 周俊, 张艳春. 自体输血的应用探索与创新. 中国输血杂志, 2016, 29(3): 231-234.
- [3] 吴靖辉, 祁京, 欧阳锡林. 储存式自体输血在外科手术中的应用. 河北医药, 2011, 33(3): 376-377.
- [4] 戴萍, 车辑, 张卫梅, 等. 优化贮存式自体输血采血方案在心脏外科择期手术中的应用. 中国输血杂志, 2014, 27(2): 171-174.
- [5] 赖福才, 王梁平, 汪传喜. 试论自体输血在我国的应用与推广策略. 中国输血杂志, 2013, 26(8): 687-689.

## HNA-3 在中国 3 个民族中的分布\*

欧国进<sup>1</sup> 王珏<sup>1△</sup> 纪欣<sup>1</sup> 李晓娟<sup>2</sup> 王胜蓝<sup>3</sup> 刘忠<sup>1△</sup>

(1. 中国医学科学院输血研究所 临床输血研究中心, 成都 四川, 610052; 2. 西藏自治区血液中心; 3. 凉山州中心血站)

**摘要:**目的 研究四川汉族, 西藏藏族和凉山彝族中 HNA-3 的分布频率, 并比较产生抗-HNA-3a 的理论风险。  
**方法** 收集 600 例无偿献血员外周血标本, 包括四川汉族献血者 232 例, 西藏藏族献血者 224 例, 凉山彝族献血者 144 例, 采用 PCR-SBT 测序法对 HNA-3 进行分型。直接计数法计算基因型和等位基因频率。**结果** HNA-3a 和 HNA-3b 等位基因的频率分别在四川汉族人群为 0.65 和 0.35, 西藏藏族人群为 0.66 和 0.34, 凉山州彝族人群为 0.60/0.40, 3 组之间没有统计学差异。基因型 HNA-3a 携带者 (HNA-3a/a 及 HNA-3a/b) 和 HNA-3b/b 分别在四川汉族人群为 0.89 和 0.11, 西藏藏族人群为 0.88 和 0.12, 凉山州彝族人群为 0.81 和 0.19, 汉族 HNA-3b/b 携带者显著低于彝族 ( $P < 0.05$ )。**结论** 彝族产生抗-HNA-3a 的可能性比汉族和藏族大, 汉族和藏族产生抗-HNA-3a 的可能性相当, 该数据为不同地区产生抗-HNA-3a 的可能性提供一定数据支持。

**关键词:** 人类粒细胞抗原; 测序; 输血相关急性肺损伤

**中图分类号:** R446.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1030-04

**HNA-3 gene frequencies in three Chinese population** OU Guojin<sup>1</sup>, WANG Jue<sup>1</sup>, JI Xin<sup>1</sup>, LI Xiaojuan<sup>2</sup>, WANG Shenglan<sup>3</sup>, LIU Zhong<sup>1</sup>. 1. Clinical Blood Transfusion Research Center, Institute of Blood Transfusion, CAMS & PUMC, Chengdu 610052, China. 2. Blood Center of the Tibet Autonomous Region. 3. Blood Center of The Liangshan Autonomous Region. Co-corresponding author: WANG Jue, LIU Zhong

**Abstract: Objective** To investigate the distribution of HNA-3 system was unknown in Chinese Sichuan Han individuals and Tibetan and Xichang Yi population. and calculate the risk of TRALI in theory. **Methods** A total of 600 blood donors, including 232 Chinese Si Chuan Han individuals, 224 Chinese Tibetans and 144 Chinese XiChang Yi population, had their DNA extracted, which were then genotyped for rs2288904 by a polymerase chain reaction (PCR) - sequence based typing (SBT). **Results** The results showed that the frequencies of the HNA-3a/HNA-3b alleles were 0.65/0.35 in Sichuan Han individuals, 0.66/0.34 in Tibets, 0.60/0.40 in Xichang Yi population; the allele of HNA-3b were similar with Japanese, and significant different with other population. The genotype with HNA-3b/b in Chinese Han population was significant differ with Yi population. **Conclusion** The frequencies of HNA-3 genotypes in Sichuan han individuals is similar to that described

in Tibets and Xichang Yi population; however, Xichang Yi population have a significantly higher HNA-3b/b genotype than Sichuan Han population, suggesting that they may be at risk for developing anti-HNA-3a alloantibodies.

**Key words:** HNA-3; PCR-SBT; TRALI

HNA-3a 系统抗原于 1964 年 Moritz 等<sup>[1]</sup> 用血清学方法

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.019

\* 基金项目: 四川省科技厅项目资助 (2017RZ0047); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程资助 (2016-I2M-3-024); 共同通信作者: △通信作者: 刘忠 (1969.01-) 男, 主任技师, 博士研究生导师, 主要从事临床输血、血液安全方面研究, Email: liuz@ibt.pumc.cn, 电话: 028-68169108; 王珏, (1976.05-) 男, 副研究员, 主要从事临床输血, HLA 与造血干细胞移植研究, Email: wjue007@qq.com, 电话: 028-61648514

[6] 周俊, 晋晶, 武广隆, 等. 成分单采技术在预存式自体输血中的应用研究. 中国输血杂志, 2016, 29(3): 239-242.

[7] 宋雪冬, 杨文丽, 王英, 等. 三种自体输血方法在剖宫产手术中应用的适宜性分析. 现代生物医学进展, 2016, 16(25): 4973-4975.

[8] 常莹, 车辑, 朱红岩, 等. 术前 1 日自体贮血在择期心脏瓣膜手术患者中的应用. 北京医学, 2016, 38(6): 603-605.

[9] 孙桂香, 席朝运, 李卉, 等. 储存式单采自体红细胞在腹膜后肿瘤择期手术中的应用. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(4): 275-277.

[10] 亢亚娟. 自体输血与异体输血对择期手术患者免疫功能的影响. 河北医药, 2014, 36(18): 2781-2783.

[11] 王秀娣, 邓辉. 贮存式自体输血在外科择期手术中的应用. 国

际检验医学杂志, 2016, 37(12): 1733-1734.

[12] 陈永丰, 李行勇. 预存式自体输血在老年择期手术患者中的应用. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1314-1315.

[13] 张俊平. Rh(D) 阴性手术患者输血方案的临床价值分析. 中国实用医药, 2016, 11(9): 132-133.

[14] Goodnough LT. Autologous blood procurement-acute normovolemic hemodilution vs. preoperative autologous blood donation. Zentralbl Chir, 2003, 128(6): 462-467.

[15] 魏玉平, 高海燕, 王浩, 等. 贮存式自体血利用率影响因素分析. 中国输血杂志, 2016, 29(2): 156-158.

(2017-02-06 收稿, 07-10 修回)

本文编辑: 李宜蔓

鉴定出来,由于针对 HNA-3a 的抗体具有引起严重的甚至致死性的输血相关急性肺损伤 (TRALI) [2-4] 的输血不良反应,临床上备受关注。2010 年 Curtis 等[5] 鉴定出 HNA-3a/b 抗原是位于胆碱转运体样蛋白 2 (SLC44A2) 基因上的 Rs2288904 多态性位点上 C→T 的突变引起的抗原不同,从而使 HNA-3 抗原的基因分型成为可能。近年来,陆续有报道部分地区的 HNA-3a 系统抗原的分布频率。本研究将分析西藏藏族,四川西昌彝族和四川汉族的 HNA-3a 的频率,为这 3 个地区人群可能产生抗-HNA-3a 从而引起 TRALI 的可能性提供数据支持。

1 对象与方法

1.1 实验对象 一共收集 600 例献血者全血样本,其中 232 例四川汉族献血者,224 例西藏藏族献血者,114 例凉山州彝族献血者。

1.2 DNA 提取 北京天根生化科技有限公司的血液基因组 DNA 提取试剂盒提取样本 DNA,DNA 浓度都调整为 20-50 ng/μL。

1.3 HNA-3a/b 多态性分型方法 用 PCR 扩增测序 (PCR-SBT) 方法分型。PCR 扩增正向引物 F: 5'-GGGCAGTGGCAGTGACTACTA-3', 反向引物 R: 5'-CATGCCCATCTCATAGCTCG-3'。正反向测序引物与 PCR 扩增引物一致,PCR 反应体系为:10 μL,其中 DNA 1 μL,正反向引物浓度为 10 μm/L 各取 0.5 μL, GoTaq Green Master Mix (美国 Promega 公司)5 μL,ddH<sub>2</sub>O 补齐 10 μL 体系。反应条件为: 96°C 预变性 5 min;96°C 变性 30 s,60°C 退火 30 s,72°C 延伸 30 s, 35 个循环;72°C 延伸 2 min。PCR 产物用 2% 的琼脂糖凝胶 150V 电泳 20 min, 观察电泳条带是否清楚可辨,将 PCR 产物用 EXO I 酶 (Thermofisher 公司,美国) 和 FAST AP 酶 (Thermofisher 公司,美国) 进行纯化,1 μL 纯化产物用于测序反应,测序产物经乙醇纯化后于 ABI3730 测序仪上测序, Chromas 软件分析测序结果。

表 1 HNA-3 在四川汉族,西藏藏族和西昌彝族中的分布

	基因型 (n, %)			HNA-3 不相容率 (%)	抗-HNA-3a 产生风险 (%)	等位基因型		Hardy-Weinberg 平衡	
	HNA-3a/a	HNA-3a/b	HNA-3b/b			HNA-3a	HNA-3b	χ <sup>2</sup>	P
四川汉族 (n=232)	94(41)	113(49)	25(11)	35.4	9.61	0.65	0.35	1.09	0.35
西藏藏族 (n=224)	98(44)	100(45)	26(12)	35.2	10.56	0.66	0.34	0.004	0.95
西昌彝族 (n=144)	57(40)	59(41)	28(19)*	45.22	15.66	0.60	0.40	3.39	0.07

\* 四川汉族和西昌彝族中 HNA-3b/b, 检验值 4.82, P<0.05

2.3 HNA-3 在不同地区的分布情况 HNA-3 在四川汉族,西藏藏族和西昌彝族与不同地区和民族之间的比较,由表 2 可见,HNA-3a 和 HNA-3b 在四川汉族,西藏藏族和西昌彝族中与中国浙江汉族没有显著差异,但是与广州汉族具有显著差异,且与日本人群,泰国人群,印度人群,印第安人群,非美人群,高加索人群,德国人群,土耳其人群和巴西人群都具有显著性差异。本研究中 3 个民族中 HNA-3a 频率偏低。

3 讨论

TRALI 指发生于输血过程中或输血后 6 h 内出现的缺氧

1.4 统计方法 不同组别不同基因型和等位基因频率采用直接计数法,不同组别相同基因型和等位基因型频率比较采用 SPSS16.0 统计软件进行卡方检验, P < 0.05 具有统计学差异。

2 结果

2.1 HNA-3 多态性分析 HNA-3 多态性为 G>A 突变,G 等位基因型为 HNA-3a,A 等位基因型为 HNA-3b,下图为反向测序结果,如测序图 1 所示,A 图为 HNA-3a/a,B 图为 HNA-3a/b,C 图为 HNA-3b/b,所有测序结果均清晰可辨。

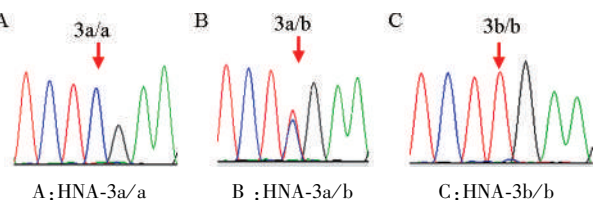


图 1 HNA-3 测序图

2.2 HNA-3 多态性中各基因型和等位基因在 3 组人群中的分布特征 HNA-3 基因型和等位基因分布在 3 组人群中符合 Hardy - Weinberg 平衡。如表 1 所示。其中 HNA-3a/a 基因型在四川汉族,西藏藏族和西昌彝族献血者中的频率分别为 41%, 44%, 40%,HNA-3a/b 基因型在 3 个民族中频率分别为 49%, 45%, 41%,HNA-3b/b 基因型在 3 个民族中频率分别为 11%, 12%, 20%,HNA-3 不相容率在 3 个民族中分别为 35.4%, 35.2%, 45.22%, 产生抗-HNA-3a 的风险在 3 个民族中分别为:9.61%, 10.56%, 15.66%。经统计学分析发现,HNA-3a/a 和 HNA-3a/b 基因型频率在四川汉族和西藏藏族中没有显著性差异,西昌彝族中 HNA-3b/b 基因型明显高于四川汉族人群 (P<0.05)。HNA-3 各基因型在西藏藏族和西昌彝族中没有显著性差异,HNA-3a 等位基因频率在四川汉族,西藏藏族和西昌彝族中的频率分别为 65%, 66%, 60%, HNA-3b 在 3 组人群中频率分别为 35%, 34%, 40%, 各等位基因型在 3 组人群中没有显著性差异。

和双侧肺水肿为主要症状的严重输血不良反应,目前认为 TRALI 的发病机制为供者血浆含有白细胞抗体,包括 HLA-I、HLA-II 或中 HNA 抗体,而抗体主要存在于血浆中,以往实验证实 TRALI 主要与血浆成分有关,因此抗体是引起 TRALI 的重要因素之一,但报道有 15% 的 TRALI 病例血浆中检测不到相应的抗体,因此研究人员推测,TRALI 的发生机制并不完全由抗体而引起。目前认为 TRALI 的主要发病机制除了以上免疫性抗体学说以外,可能有以下非免疫性的四种学说: 细胞因子学说,血小板活化因子学说,生物活性脂质学说和二次打击学说,但是目前尚无统一观点。



表 2 HNA-3 在不同地区人群中的分布

	基因型(n,%)			HNA-3 不相容率 HNA-3a/b(%)	抗-HNA-3a 产生风险 HNA-3b/b(%)	等位基因型		参考 文献
	HNA-3a/a	HNA-3a/b	HNA-3b/b			HNA-3a	HNA-3b	
四川汉族(n=232)	94(41)	113(49)	25(11)	33.98	10.89	0.65	0.35	
西藏藏族(n=224)	98(44)	100(45)	26(12)	35.2	10.56	0.66	0.34	
西昌彝族(n=144)	57(40)	59(41)	28(19)	39.39	15.39	0.60	0.40	
广州汉族(n=195)	104(53)	80(50)	11(6)	31.96	5.64	0.74	0.26 <sup>#*</sup>	[7]
浙江汉族(n=400)	176(44)	171(43)	53(13)	35.95	11.31	0.65	0.35	[8]
汉族(n=119)	47(39)	53(45)	19(16)	37.23	13.44	0.64	0.36	[9]
日本(n=74)	31(42)	31(42)	12(16)	37.8	13.44	0.63	0.37	[10]
日本(n=570)	238(42)	269(47)	63(11)	34.15	9.79	0.65	0.35	[11]
泰国(n=300)	14(5)	268(89)	18(6)	10.21	5.64	0.49	0.51 <sup>#*</sup>	[12]
泰国中部地区(n=500)	264(52.8)	190(38)	46(9.2)	33.36	8.45	0.72	0.28 <sup>#*</sup>	[13]
泰国北部地区(n=300)	180(60)	105(35)	15(5)	28.75	4.75	0.78	0.22 <sup>#*</sup>	[13]
亚洲印度(n=91)	52(57)	34(37)	5(5)	29.26	4.75	0.76	0.24 <sup>#*</sup>	[9]
印第安人(n=93)	83(89)	10(11)	0	9.79	0	0.95	0.05 <sup>#*</sup>	[9]
非洲美国人(n=161)	138(86)	23(14)	0	12.84	0	0.93	0.07 <sup>#*</sup>	[9]
非洲美国人(n=241)	209(87)	31(13)	1(0)	11.31	0	0.93	0.07 <sup>#*</sup>	[14]
印第安人(n=120)	120(100)	0	0	0	0	1	0 <sup>#*</sup>	[10]
高加索人(n=93)	64(69)	27(29)	2(2)	23.35	1.96	0.83	0.17 <sup>#*</sup>	[14]
高加索人(n=186)	110(59)	64(34)	12(6)	29.83	5.64	0.76	0.24 <sup>#*</sup>	[9]
英国高加索人(n=140)	79(56)	57(41)	4(3)	27.55	2.91	0.77	0.23 <sup>#*</sup>	[15]
德国人(n=119)	66(55)	45(38)	8(7%)	31.26	6.51	0.74	0.26 <sup>#*</sup>	[16]
土耳其人(n=118)	66(56)	42(36)	10(8)	32	7.36	0.74	0.26 <sup>#*</sup>	[16]
非洲巴西人(n=124)	90(73)	32(26)	2(2)	21.67	1.96	0.85	0.15 <sup>#*</sup>	[10]
巴西人(n=500)	331(66)	151(30)	180(36)	25.08	23.04	0.81	0.19 <sup>#*</sup>	[10]

# 该频率与四川汉族人群有显著性差异(P<0.05); \$ 该频率与西藏藏族人群有显著性差异(P<0.05); \* 该频率与西昌彝人群有显著性差异(P<0.05)

80%的 TRALI 病例中都有同种白细胞抗体,包括 HLA 抗体和 HNA 抗体,以往的报道显示<sup>[3]</sup>,36 例发生 TRALI 的患者中,有 12 例由 HNA 抗体引起,其中 10 例为抗-HNA-3a,另有 2 例为抗-HNA-1a 和抗-HNA-2a,可见 HNA-3a 在 TRALI 发生中的重要性,从 1964 年发现 HNA-3 系统抗原,直至 2010 年才阐明 HNA-3 系统的分子基础,至此,HNA-3 可用分子生物学方法进行基因分型。以往研究显示,不同的人群或民族具有遗传多样性,HNA-3a 分布也有差异。

本研究报道了四川汉族人群,西藏藏族和西昌彝族这 3 个民族中的 HNA-3 多态性分布,其中四川汉族属首次报道,西藏藏族和西昌彝族曾报道<sup>[6]</sup>过 HNA-3 抗原多态性分布频率,但本文增加了样本量,得出更为客观的结果。由本研究可见,HNA-3a 等位基因频率分布在 3 组人群中没有显著性差异,然而西昌彝族 HNA-3b/b 基因型显著高于四川汉族,经计算四川汉族和彝族之间的 HNA-3 不配合率分别为 35.4%和 45.22%,产生抗-HNA-3a 的风险在 2 个人群中分别为 9.61%和 15.66%,意味着西昌彝族可能产生抗-HNA-3a 的风险高于四川汉族。

HNA-3a 等位基因型在四川汉族,西藏藏族和西昌彝族中没有显著性差异,与中国其他地区报道的 HNA-3a 也没有显著差异,但广州地区 HNA-3a 明显高于中国其他地区人群,广州地区产生抗-HNA-3a 风险为 5.6%,也相对其他汉族人群较低,从全世界其他人群 HNA-3a 等位基因的分布情况看,中国相比其他国家,HNA-3b 频率显著较高为 0.26-0.4,携带 HNA-3b 献血者血液输给 HNA-3a 的可能性也较大,可能发生由抗-HNA-3a 介导的 TRALI 风险也相对较高为 5.64%-15.39%。

目前中国仅少部分地区报道了 HNA-3a 等位基因分布频率,多地区多民族的 HNA-3a 等位基因频率尚待研究报道,同时中国人群中,因输注血液制品发生 TRALI 的患者较少,可能由于 TRALI 的症状与急性呼吸窘迫综合症相似,有时候忽略了对 TRALI 的鉴别和诊断,同时我国医疗技术水平在各地参差不齐,临床医生与输血科医生沟通缺乏,认识不足,也可能导致 TRALI 的漏检和漏报,因此我国发生 TRALI 的报道较少。而临床即使有零星 TRALI 的报道,相关输血科因缺乏科研条件和科研意识,我国 TRALI 发生人群中是否存在 HLA 和 HNA 抗体也极少得知。因此,在临床工作中,应加强对 TRALI 的输血管理和相应科研合作,以便发现我国发生 TRALI 的具体原因,是否 HNA-3 在我国 TRALI 发生人群中具有重要作用,是否 HNA-3 抗原差异与 TRALI 发生风险之间存在相应的关系。

综上所述,TRALI 是输血医学中尚不完全明确病因的严重致死性疾病,HNA-3 具有重要意义,本研究对将来 TRALI 的研究提供一定的数据支持。

参考文献

[1] Van Leeuwen A, Eernisse JG, Van Rood JJ. A New Leucocyte Group with Two Alleles: Leucocyte Group Five. Vox Sang, 1964, 9: 431-446.

[2] Kopko PM, Marshall CS, MacKenzie MR, et al. Transfusion-related acute lung injury: report of a clinical look-back investigation. Jama, 2002, 287(15): 1968-1971.

[3] Reil A, Keller-Stanislawski B, Gunay S, et al. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion-related acute lung injury and results of leucocyte antibody screening of blood donors. Vox Sang,

- 2008, 95(4): 313-317.
- [4] Greinacher A, Wesche J, Hammer E, et al. Characterization of the human neutrophil alloantigen-3a. *Nat Med*, 2010, 16(1): 45-48.
- [5] Curtis BR, Cox NJ, Sullivan MJ, et al. The neutrophil alloantigen HNA-3a (5b) is located on choline transporter-like protein 2 and appears to be encoded by an R>Q154 amino acid substitution. *Blood*, 2010, 115(10): 2073-2076.
- [6] Chen Q, Srivastava K, Liu Z, et al. Genotype frequency of human neutrophil antigen-3 polymorphisms in the Yi, Han, and Tibetan populations of China. *Transfusion*, 2016, 56(3): 737-742.
- [7] Xia W, Bayat B, Sachs U, et al. The frequencies of human neutrophil alloantigens in the Chinese Han population of Guangzhou. *Transfusion*, 2011, 51(6): 1271-1277.
- [8] He J, Zhang W, Wang W, et al. Genotyping of human neutrophil antigens by polymerase chain reaction sequence-based typing. *Blood Transfus*, 2014, 12(Suppl 1): s292-298.
- [9] Bowns KL, Sullivan MJ, Curtis BR. Determination of neutrophil antigen HNA-3a and HNA-3b genotype frequencies in six racial groups by high-throughput 5' exonuclease assay. *Transfusion*, 2012, 52(11): 2368-2374.
- [10] Lopes LB, Baleotti W, Suzuki RB, et al. HNA-3 gene frequencies in Brazilians and a new polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for HNA-3a/3b genotyping. *Transfusion*, 2014, 54(6): 1619-1621.
- [11] Matsuhashi M, Tsuno NH, Kawabata M, et al. The frequencies of human neutrophil alloantigens among the Japanese population. *Tissue Antigens*, 2012, 80(4): 336-340.
- [12] Changsri K, Tobunluepop P, Songthammawat D, et al. Human neutrophil alloantigen genotype frequencies in Thai blood donors. *Blood Transfus*, 2014, 12(Suppl 1): s286-291.
- [13] Nathalang O, Intharanut K, Siriphanthong K, et al. Risk estimation of HNA-3 incompatibility and alloimmunization in Thai populations. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116905.
- [14] Huvard MJ, Schmid P, Stroncek DF, et al. Frequencies of SLC44A2 alleles encoding human neutrophil antigen-3 variants in the African American population. *Transfusion*, 2012, 52(5): 1106-1111.
- [15] Cardoso SP, Chong W, Lucas G, et al. Determination of human neutrophil antigen-1, -3, -4 and -5 allele frequencies in English Caucasoid blood donors using a multiplex fluorescent DNA-based assay. *Vox Sang*, 2013, 105(1): 65-72.
- [16] Hauck B, Philipp A, Eckstein R, et al. Human neutrophil alloantigen genotype frequencies among blood donors with Turkish and German descent. *Tissue Antigens*, 2011, 78(6): 416-420.
- [17] Norcia AM, Sugano EY, Chiba AK, et al. Human neutrophil alloantigen-1a, -1b, -2, -3a and -4a frequencies in Brazilians. *Tissue Antigens*, 2009, 74(5): 404-407.

(2016-09-23 收稿, 2017-07-11 修回)

本文编辑:李宜蔓

## 《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!

特此申明,敬请相互转告!

《中国输血杂志》编辑部

## · 论著 ·

## 实施核酸检测后重新评估献血者 ALT 的检测功效

王瑞 黄力勤 张婧 贾俊杰 冷婵 高楠 葛红卫<sup>△</sup>(北京市红十字血液中心,北京 10088)

**摘要:目的** 引入核酸检测后,重新评估 ALT 对血液安全的功效,为优化血液筛查策略提供依据。**方法** 对 2010 年 11 月-2015 年 12 月近 5 年时间北京市红十字血液中心 1 495 863 例无偿献血者进行 ALT 与乙肝标志物(HBsAg、HBV-DNA)、丙肝标志物(抗-HCV、HCV-RNA)检测结果分析,评估 ALT 在肝炎方面对于血液安全的功效。**结果** 1) ALT 不合格献血者的乙肝检出率(5.950%)略高于 ALT 正常献血者(3.720%),ALT 不合格献血者的丙肝检出率(1.386%)略低于 ALT 正常献血者(4.428%),差异有统计学意义( $\chi^2$ 值分别为 10.60、156.04,  $P < 0.01$ )。2) ALT 不合格献血者的 HBV-DNA 单阳性检出率、HCV-RNA 单阳性检出率与 ALT 正常献血者均无显著差异( $\chi^2$ 值分别为 0.017、0.086,  $P > 0.01$ )。3) 使用百分位数法计算 3 642 例献血者 ALT95%界限为 59 U/L。4) 采用不同 ALT 判定界值(40 U/L、50 U/L、59 U/L),692 例 HBV-DNA 单阳性献血者检出率无统计学差异( $\chi^2 = 4.502$ ,  $P > 0.01$ )、16 例 HCV-RNA 单阳性献血者均不能检出。5) ALT 判定界值从 40 U/L 调整为 50 U/L 时,平均每年增加 2.19%血液资源;如 ALT 判定界值从 50 U/L 提升至 59 U/L,至少可节约 74.11%单纯因 ALT 不合格的血液。**结论** 开展核酸检测以来显著提升了血液安全,ALT 对降低输血传播风险的功效已极其有限,研究支持取消 ALT 检测。在目前政策下,可适当将 ALT 判定界值调整为 59 U/L,在确保血液安全的前提下获得更多的资源。

**关键词:**丙氨酸氨基转移酶;核酸检测;判定界值;献血者;肝炎**中图分类号:**R446.11<sup>+2</sup> **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1034-05

**Reevaluation the effect of ALT on blood safety in nucleic acid era** WANG Rui, HUANG Liqin, ZHANG Jing, JIA Junjie, LENG Chan, GAO Nan, GE Hongwei. Beijing Red Cross Blood Center, Beijing 100088, China. Corresponding author: GE Hongwei

**Abstract: Objective** The study was aimed to reevaluate the effect of alanine aminotransferase (ALT) in volunteer blood donors under the condition of performing nucleic acid test, then to provide support for optimizing blood screening strategy. **Methods** 1 495 863 cases of blood donors who donated blood during Nov. 2010 to Dec.2015 in Beijing Red Cross Blood Center weredetected ALT, HBV markers (HBV-DNA, HBsAg) and HCV markers (HCV-RNA, anti-HCV) to evaluate the effect of ALT on blood safety. **Results** 1) The rate of positive HBV markers among ALT unqualified blood donors (5.950%) was slightly higher than the ALT qualified blood donors (3.720%), and the rate of positive HCV markers among ALT unqualified blood donors (1.386%) was lower than the ALT qualified blood donors (4.428%). The difference was statistically significant ( $\chi^2 = 10.60, 156.04, P < 0.01$ ). 2) There were no significant differences in ALT unqualified blood donors with single HBV-DNA positive rate, single HCV-RNA positive rate and ALT qualified blood donors ( $\chi^2 = 0.017, 0.086, P > 0.01$ ). 3) The threshold value of ALT was 59 U/L (3 642 cases of blood donors) by the method of percentile. 4) Even using the different threshold value of ALT(40 U/L, 50 U/L, 59 U/L), the rate of single HBV-DNA positive ( $n = 692$ ) showed no significant difference ( $\chi^2 = 4.502, P > 0.01$ ) and 16 cases of single HCV-RNA positive were still not detected. 5) The threshold value of ALT was adjusted from 40U/L to 50U/L, which increased blood resource in average rate of 2.19% annually. If the threshold value of ALT could be adjusted from 50U/L to 59U/L, it will be possible to save at least 74.11% blood resource deemed unqualified by ALT. **Conclusion** In nucleic acid era, the effect of ALT has been extremely limited to reduce the risk of transfusion transmission disease, so ALT screening in blood donor should be considered eliminated. Under current blood screening strategy, it is suggested that the threshold value of ALT could be adjusted to 59 U/L to get more blood resources without sacrificing blood safety.

**Key Words:** alanine aminotransferase (ALT), nucleic acid test, threshold value, blood donor, hepatitis

丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)是上世纪 80 年代初期引入输血服务机构,作为非甲非乙型肝炎替代性试验的非特异性检测指标,当时对于防止输血后肝炎起

到了一定作用。随着临床诊断技术的发展,针对乙型肝炎、丙型肝炎病毒的特异性检测方法引入到输血医学领域,国际同行在逐渐弱化 ALT 对血液安全的作用,包括提高 ALT 临界值,甚至取消献血者 ALT 检测项目。但我国始终将 ALT 作为强制血液筛查检测项目之一,并采用正常参考值作为判断其血液合格与否的标准。随着肝炎特异性诊断试剂的完

善与优化,尤其是核酸检测技术在血站的广泛开展,ALT 在血液筛查中的检测功效再次成为输血服务机构的焦点<sup>[1-2]</sup>。本研究选择开展核酸检测后近 5 年期间 1 495 863 例献血者的筛查结果,详细分析 ALT 与乙型肝炎标志物(HBsAg、HBV-DNA)、丙型肝炎标志物(抗-HCV、HCV-RNA)检测结果关系,旨在重新评估引入核酸检测后 ALT 在防止肝炎传播方面对血液安全的功效;再者,结合 ALT 在肝炎方面对血液安全的价值,使用百分位数法测算献血者 ALT 判定界值,探讨采用不同 ALT 判定界值对血液检测的影响,为进一步优化血液筛查策略提供基线数据和依据。现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 标本来源** 2010 年 11 月-2015 年 12 月本中心无偿献血者标本 1 495 863 例,其中男性 1 035 375 例、女性 460 488 例,年龄 18-60(中位数 28)岁。

**1.2 标本采集及处理** 每位献血者捐献血液的同时留取两份标本,肝素钠抗凝的血清学标本、EDTA-K2 抗凝带分离胶的核酸标本。两份标本均 4-6 h 内完成离心、72 h 内完成检测。

### 1.3 仪器与试剂

**1.3.1 检测试剂** 乙肝表面抗原(HBsAg)检测试剂(上海生物梅里埃、厦门新创)、丙肝特异性抗体(抗-HCV)检测试剂(强生傲拓、北京万泰)、核酸(HBV/HIV/HCV)检测试剂(诺华诊断公司)、ALT 检测试剂(罗氏诊断公司)。

**1.3.2 仪器** HBsAg、抗-HCV 检测使用全自动标本处理系统 STAR 8CH、全自动酶免分析系统 FAME24/30(哈美尔顿公司);NAT 联检试验(HBV/HIV/HCV)和 HBV-DNA、HCV-RNA 鉴别试验使用全自动核酸检测分析系统 Tigris(诺华诊断公司);ALT 检测使用日立 7180 全自动生化分析仪(日立公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 献血者检测策略及判定方案概述** 献血者血清学标本进行 ALT、ABO 血型(正、反定型)、RhD 血型、HBsAg(2 遍)、抗-HCV(2 遍)、抗 HIV 或 HIV-AgAb(2 遍)和抗 TP(2 遍)检测;同时核酸标本进行 NAT 联检检测。以上任一项目检测不合格(>判定界值或阳性)则判定为血液不合格,所有项目检测均合格(≤判定界值或阴性)方可判定为血液合格。实验室对 NAT 联检结果为不合格的标本做进一步鉴别试验来确定具体病毒种类(HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA)。HBsAg 检测阴性且 HBV-DNA 检测阳性为乙肝核酸单阳性(HBV-DNA 单阳性)、抗 HCV 检测阴性且 HCV-RNA 检测阳性为丙肝核酸单阳性(HCV-RNA 单阳性),其对应献血者判定为肝炎窗口期或隐匿性感染。

**1.4.2 ALT 在肝炎筛查中的功效**<sup>[3]</sup> 1) ALT 不合格献血者肝炎标志物的检测情况:比较 2010 年 11 月-2015 年 12 月 ALT 不合格献血者与 ALT 合格献血者在乙肝标志物(HBsAg、HBV-DNA)、丙肝标志物(抗 HCV、HCV-RNA)的筛检情况。2) 肝炎窗口期或隐匿性感染献血者 ALT 的检测情况:比较 2010 年 11 月-2015 年 12 月 ALT 不合格献血者与 ALT 合格献血者在 HBV-DNA 单阳性、HCV-RNA 单阳性的筛检

情况。

### 1.4.3 ALT 判定界值设定

1) 献血者 ALT 判定界值<sup>[4-5]</sup>: ① 回顾性统计 2010-2014 年 ALT 检测情况:献血前 11.78% 献血者因 ALT 检测不合格无法献血;献血后实验室对血液再次进行 ALT 检测,99.53% 献血者 ALT 检测合格、0.47% 献血者 ALT 检测不合格。② 依据上述数据结构,选取献血者样本 3 642 例(HBsAg、抗 HIV、抗-HCV、抗-TP 和 NAT 检测结果均为合格)使用百分位数法建立献血者 ALT 参考范围,以 95% 作为 ALT 判定界值。样本来源:使用分层抽样法抽取 2014 年 7 月 1 日-12 月 31 日献血后 ALT 检测合格 3 198 例、献血后 ALT 检测不合格 15 例;2010-2014 年献血前未进行 ALT 初筛检测、献血后经实验室检测 ALT 不合格 429 例。2) 采用不同 ALT 判定界值对血液检测的影响。① 不同 ALT 判定界值对肝炎窗口期或隐匿性感染献血者的检出情况:比较采用国家规定 ALT 判定界值(40 U/L、50 U/L)、本研究制定 ALT 判定界值时,HBV-DNA 单阳性、HCV-RNA 单阳性的筛检情况。② 依据卫生部血液专业标准委员会《血液筛查丙氨酸氨基转移酶(ALT)临界值变更专题研讨会纪要》<sup>[6]</sup>,2013 年 6 月 3 日起本中心 ALT 判定界值由 40 U/L 提升至 50 U/L,比较 ALT 判定界值改变后对血液资源的影响。并预估使用本研究制定 ALT 判定界值对血液资源的影响。

**1.5 数据处理** 使用 SPSS19.0 对数据进行处理。采用 95% 百分位数法确定 ALT 判定界值。两组检出率比较采用卡方检验,以  $P < 0.01$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 ALT 对乙肝、丙肝筛查中的功效** 2010 年 11 月-2015 年 12 月本中心 1 495 863 例血液标本共检出 ALT 不合格 8 120 例、乙肝阳性 5 562 例、丙肝阳性 6 662 例。如图 1 所示,8 120 例 ALT 不合格中绝大部分为单纯 ALT 不合格(97.36%)、ALT 不合格且肝炎标志物检测为阳性为 159 例(1.96%)。

表 1 近 5 年 ALT 不合格情况分析 ( $n=8 120$ )

ALT 不合格分类	数量	比例(%)
乙肝阳性	48	0.59
丙肝阳性	111	1.37
其他传染病阳性	55	0.68
单纯 ALT 不合格	7 906	97.36

**2.1.1 ALT 不合格献血者肝炎标志物的检测情况** 如表 2 所示,ALT 不合格献血者的乙肝阳性率高于 ALT 合格献血者,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );ALT 不合格献血者的丙肝阳性率低于 ALT 合格献血者,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表 2 ALT 与肝炎阳性检出情况比较

	乙肝检测			丙肝检测		
	乙肝阳性	乙肝阴性	乙肝阳性检出率(%)	丙肝阳性	丙肝阴性	丙肝阳性检出率(%)
ALT 合格	5 514	1 482 229	3.720	6 559	1 481 184	4.428
ALT 不合格	48	8 072	5.950*	111	8 009	1.386**

\*  $\chi^2 = 10.60, P < 0.01$ , \*\*  $\chi^2 = 156.04, P < 0.01$

**2.1.2 肝炎窗口期或隐匿性感染献血者的 ALT 检测情况** 2011 年 11 月-2015 年 12 月本中心 1495863 例献血者检出 HBV-DNA 单阳性 692 例、HCV-RNA 单阳性 16 例。如表 3 所

示,ALT 不合格献血者的 HBV-DNA 单阳性检出率、HCV-RNA 单阳性检出率与 ALT 正常献血者均无显著差异 ( $P>0.01$ )。

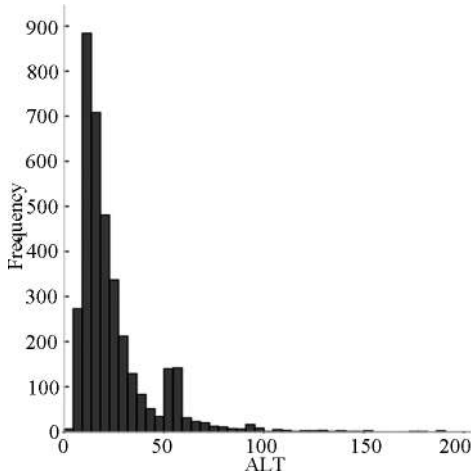
**表 3** ALT 与肝炎核酸单阳性检出情况比较

	乙肝检测			丙肝检测		
	HBV-DNA 单阳性	乙肝 阴性	HBV-DNA 单阳性 检出率(%)	HCV-RNA 单阳性	丙肝 阴性	HCV-RNA 单阳性 检出率(%)
ALT 合格	688	1 482	917 4.364	16	1 482	678 0.001
ALT 不合格	4	8 076	5.965*	0	8 009	0**

注: \*  $\chi^2=0.017, P>0.01$ , \*\*  $\chi^2=0.086, P>0.01$

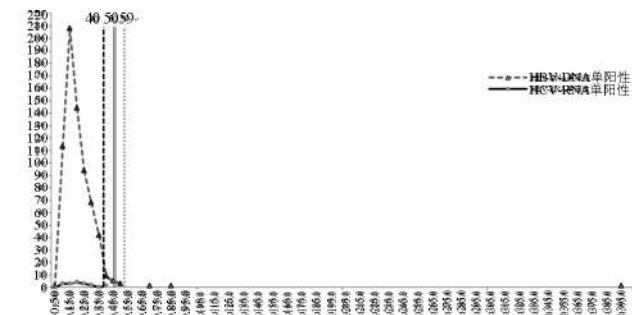
**2.1 ALT 判定界值设定**

**2.2.1 献血者 ALT 正常参考范围** 统计 3 642 例献血者 ALT 检测结果,如图 1 所示。使用百分位数法计算 95%分布范围,上限为 59 U/L。



**图 1** 献血者 ALT 检测值分布图 ( $n=3\ 642$ )

**2.1.2 采用不同 ALT 判定界值对血液检测的影响** 1) 不同 ALT 判定界值对肝炎窗口期或隐性感染献血者的检出情况:如图 2 所示,肝炎核酸单阳性献血者 ALT 检测值大多分布在 40 U/L 以下。采用国家规定 ALT 判定界值(40 U/L、50 U/L)、本研究制定 ALT 判定界值(59 U/L),16 例 HCV-RNA 单阳性献血者 (ALT 检测值为 5.5-39.0 U/L)均不能检出;692 例 HBV-DNA 单阳性献血者 (ALT 检测值为 5.0-392.0 U/L)检出情况如表 4 所示,经分析 3 种 ALT 判定界值对 HBV 窗口期检出率无显著差异( $\chi^2=4.502, P>0.01$ )。2) 调整 ALT 判定界值对血液资源的影响:自 2013 年 6 月 3 日起使用 50 U/L 作为 ALT 判定界值,较使用 ALT 判定界值为 40 U/L 平均每年可增加 2.19%血液资源,如表 5 所示。



**图 2** 肝炎窗口期或隐性感染献血者 ALT 检测值分布示意图

**表 4** 设定不同 ALT 判定界值对 692 例 HBV-DNA 单阳性献血者检出情况的比较

	ALT 不合格	ALT 合格	HBV-DNA 单阳性 检出率
ALT 判定界值(U/L) 40	11	681	1.59%
50	8	684	1.16%
59	3	689	0.43%

**表 5** 将 ALT 判定界值从 40 U/L 调整为 50 U/L 节约血液资源比较

	ALT 不合格		节约血液 标本数量
	ALT 不合格 标本数量 (判定界值 40 U/L)	ALT 不合格 标本数量 (判定界值 50 U/L)	
2013. 6. 3-2013. 12. 31	159 938	4 761	746 4 015(2.52%)
2014 年	291 670	6 265	873 5 392(1.85%)
2015 年	317 902	8 625	1 216 7 409(2.33%)
合计	767 510	19 651	2 835 16 816(2.19%)

如进一步将 ALT 判定界值从现用 50U/L 提升至本研究 59U/L,则至少可节约 74.11%单纯因 ALT 不合格报废的血液资源,如表 6 所示。

**表 6** 将 ALT 判定界值从 50U/L 调整为 59 U/L 节约血液资源估计

采血时间	ALT 不合格 标本数量 (判定界值 50 U/L)	ALT 不合格 标本数量 (判定界值 59 U/L)	节约血液 标本数量
	2013. 6. 3-2013. 12. 31	746	111
2014 年	873	232	641(73.42%)
2015 年	1 216	391	825(67.84%)
合计	2 835	734	2 101(74.11%)

**3 讨论**

丙氨酸氨基转移酶(ALT)富含于肝脏细胞中,是用于衡量肝脏损害的最常见指标之一。20 世纪 80 年代末,由于乙肝病毒诊断试剂盒效能所限及丙肝病毒检测方法的缺如,1986 年美国首次将 ALT 项目作为非特异性检测肝炎的替代试验引入献血者筛查,用于降低经输血传播肝炎的风险。研究显示<sup>[7]</sup>,ALT 对于遏制输血后肝炎的发生确实发挥过重要作用。但是 ALT 作为非特异性指标,引起其异常增高的因素很多,除肝脏疾病、心血管疾病、肾脏疾病等病例因素外,很多非病理因素如年龄、饮酒、剧烈运动、肥胖等均可导致 ALT 异常,ALT 对于肝炎的预期值仅为 31%,因此实施 ALT 筛查同时意味着血液资源报废、献血者流失等。随着乙肝、丙肝诊断试剂的发展,尤其是 1992 年抗 HCV 被引入输血服务机构的血液筛查后,ALT 的功效越来越受到业内质疑。1995 年美国国立卫生研究院得出结论:在 HCV 特异性检测方法建立以后,ALT 已经失去了其对防止输血后肝炎的意义;2009 年 WHO《输血相关感染血液筛查推荐性建议》<sup>[8]</sup>指出 ALT 作为替代性检测指标,其应用价值已经不大,建议将 ALT 从血液筛查策略中取消。1999 年美国率先取消了献血者 ALT 检测项目,英国、欧盟、以及香港和澳门等国家和地区纷纷效尤。但我国始终将 ALT 作为强制血液筛查检测项目之一,并采用正常参考值上限作为判断血液合格与否的标准。随着 ELISA 试剂盒的特异性与灵敏度的不断提高,血液检测能力

较上世纪 80 年代有了大幅度提升;尤其是 2010 年核酸技术引入输血服务机构并在全中国范围内推广实施<sup>[9-10]</sup>,血液检测能力迈向新纪元,在此背景下,重新评估 ALT 在血液筛查中的功效显得尤为迫切和必要。

本研究显示,我中心开展核酸检测近 5 年来(2010 年 11 月-2015 年 12 月),1 495 863 例献血者共检出 ALT 不合格 8 120 例,其中单纯因 ALT 不合格为 7 906 例(97.36%),是血液报废的首位原因;ALT 不合格且肝炎检测阳性仅为 159 例(1.96%)。对乙肝而言,ALT 不合格献血者中乙肝检出率(5.95%)略高于 ALT 正常献血者(3.72%),ALT 不合格在排除乙肝献血者的筛查率为 5.91%;5 562 例乙肝献血者中 5 514 例(99.14%)均为 ALT 正常、意味着绝大部分乙肝献血者必须依靠特异性乙肝诊断试剂方能达到筛查目的。对丙肝而言,ALT 不合格献血者中丙肝检出率(1.386%)反而低于 ALT 正常献血者(4.428%),提示 ALT 不合格在排除丙肝献血者无任何意义。我中心引入核酸检测后,共检出肝炎核酸单阳性献血者 708 例(HBV-DNA 单阳性 692 例、HCV-RNA 单阳性 16 例),其中 ALT 不合格仅为 4 例(0.56%),分析发现 ALT 不合格献血者的 HBV-DNA 单阳性检出率、HCV-RNA 单阳性检出率与 ALT 正常献血者无差异,提示 ALT 不合格在排除肝炎窗口期和隐匿性感染献血者功效甚微(筛检率仅为 0.49%,4/8 120)。如上所述,ALT 作为评估肝功能受损的非特异性筛查试验,对降低肝炎输血传播风险的功效已极其有限,研究结果支持取消 ALT 项目。

长期以来,针对 ALT 在输血服务领域的另一关注热点是 ALT 判定界值的研究。对于输血服务机构而言,ALT 判定界值直接决定献血者是否能够献血、其血液是否能够用于临床。我国始终采用 ALT 正常参考区间上限作为献血者血液检验的判定界值,如 GB18467(2001)《献血者健康检查要求》<sup>[11]</sup>规定 ALT 检验要求 $\leq 40$  U/L(速率法)或 25 U/L(赖氏法);2012 年 12 月 25 日卫生部发布 WS/T404.1-2012《临床常用生化检验项目参考区间第一部分:血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶和  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶》<sup>[12]</sup>,其规定 ALT 正常参考区间为男性:9-50 U/L、女性 7-40 U/L,2013 年 1 月国家卫生部血液专业标准委员会遂将献血者 ALT 判定界值调整为 50U/L,最终 ALT $\leq 50$  U/L 纳入《血站技术操作规程》(2015 版)<sup>[13]</sup>“4.12.1 血液检测合格判定标准”。WS/T 404.1-2012 要求参考个体在“采血前三天保持正常生活习惯,不做剧烈运动和重劳力劳动。采血前一天晚餐后至第二天上午采血前禁食,禁食时间 8 h-14 h”。但对于输血服务机构来说,血液主要来自街头无偿献血者,也就意味着相应献血者不能严格按照 WS/T404.1 的规定进行准备;同时由于采血过程需要在短时间内从体内采集 200 或 400 mL 血液,为防止出现献血不良反应,献血者不能空腹进行献血。换言之,献血者在采血前初筛检测和采血后 ALT 检测与 WS/T 404.1 中的要求不尽相符,献血者 ALT 判定界值是否适宜直接采用正常参考区间上限有待商榷。再者,献血者标本保存条件、离体后标本检测时间等均对 ALT 检测值有所影响。研究表明献血者标本离体后 $>24$  h,即使在 4℃ 恒温条件下,ALT 活性也有所改变<sup>[14-15]</sup>;尽管

ALT 在空腹和餐后检测值无统计学意义,但 ALT 餐后均值略高于其空腹水平<sup>[16-17]</sup>。由此可见,依据输血服务机构的行业特殊性、具体业务运行情况建立献血者 ALT 正常参考范围很有必要。

确定正常值范围<sup>[18]</sup>的一般原则是:①抽取足够例数正常人样本,②对选定的正常人进行准确而统一的测定,③决定取单侧范围值还是双侧范围值,④选定适当的百分范围,⑤估计界值。本研究依据实际情况、针对献血者这一特殊群体,将正常人界定为自我排查无异常且特定传染病项目为阴性者。由于目前临床尚未发现低 ALT 活力因某种疾病所致,疾病时其测定值主要表现为增高,因此确定 ALT 活性的参考区间只需定出上限,在确定第 95%分布范围上限时只考虑单侧的 95%即可。本研究采用百分位数法确定献血者正常参考范围,通过分析近 5 年来献血者 ALT 检测结果的数据构成(合格与不合格比率),采用分层抽样法抽取相应数值,确定 ALT 95%参考值上限为 59U/L。该数值与东莞地区(56.5U/L)<sup>[19]</sup>、北海地区(58.2U/L)<sup>[18]</sup>和开封地区(63.6U/L)<sup>[20]</sup>献血者 ALT95%参考值上限相近;与日本现行 ALT 参考值上限 60U/L 接近<sup>[21]</sup>。纵观其他仍将 ALT 作为献血者检测项目的国家发现,其 ALT 判定界值大多高于正常参考范围上限<sup>[22]</sup>,如日本 ALT 判定界值 60U/L 高于其正常参考上限(5-45) U/L、德国将献血者 ALT 判定界值设为正常参考值上限 2.5-3.0 倍(2010 年取消 ALT 项目)、澳大利亚将献血者 ALT 判定界值设为正常参考值上限 2 倍。由此可见,上述国家将献血者作为有别于传统意义上的正常人群专门制定其 ALT 参考值上限,在确保血液安全的前提下节约宝贵的血液资源。如日本 ALT 判定界值的确定基于献血者戊型肝炎感染情况、德国则依据 IFCC 参考程序计算献血者 ALT 判定界值。ALT 作为敏感反映肝脏损伤的指标,不同种类肝脏疾病 ALT 医学决定水平亦有不同,但均远高于正常人群 ALT 参考值上限。因此,应依据我国献血者中肝炎流行情况,结合实验室检测能力对献血者 ALT 判定界值做进一步的研究。

合理设置 ALT 判定界值对于血液资源具有重要影响。本研究探讨了采用不同 ALT 判定界值在早期发现肝炎的功效,结果显示采用早期 ALT 界值(40 U/L)、目前执行的界值(50 U/L)以及本研究制定的界值(59 U/L)对筛查肝炎窗口期或隐匿性感染献血者无显著性差异,因为绝大多数(98.41%、681/692)乙肝核酸单阳性献血者的 ALT 检测值分布在 40 U/L 以下,16 例丙肝核酸单阳性献血者 ALT 检测值最高仅为 39 U/L。因此,ALT 作为早期发现肝脏损伤以遏制经血感染肝炎的功效微乎其微,引进有效缩短窗口期的核酸检测技术才是解决问题的根本方法。另一方面,提高 ALT 界限值可节约血液资源,在一定程度上缓解目前的“血荒”。依据卫生部血液专业标准委员会《血液筛查丙氨酸氨基转移酶(ALT)临界值变更专题研讨会纪要》,2013 年 6 月 3 日起本中心将 ALT 判定界值由 40 U/L 提升至 50 U/L,此举平均每年可增加 2.19%血液资源(5 605 袋、约为 9 500 U 血液);如进一步将 ALT 判定界值从 50 U/L 提升至本研究 59 U/L,现阶段单纯因 ALT 报废的血液资源中约有 74.11%可为临床所用,加之献血前 ALT 检测值为(50-59) U/L 而被暂时延迟的

献血者,平均每年至少可在现有基础上再增加 2% 血液资源(约为 8 700 U 血液)。

综上所述,多年来输血服务领域对 ALT 在血液筛查的功效不断研究、探讨,主要因为对血液安全性的审慎和顾虑。本研究使用开展核酸检测后 5 年的数据,结果显示绝大多数肝炎献血者检出需要依靠特异性诊断试剂,早期发现肝炎窗口期及隐匿性感染者需要依靠灵敏度更高的核酸技术,加之 2015 年底核酸检测基本覆盖全国血站实验室,ALT 对降低输血传播肝炎风险的功效已极其有限,研究支持取消 ALT 检测。另一方面,考虑到我国血液检测水平还存在较大差异的现实情况,至少可适当将 ALT 判定界值上调,确保在血液安全的前提下获得更多的资源。

### 参 考 文 献

- [1] 陈锦艳,黄伯全,黎世杰,等.开展 HBV 和 HCV 核酸检测条件下献血者 ALT 筛查的意义探讨.中国输血杂志,2015,28(6):669-671.
- [2] 郭燕,蔡斌,段勇,等.结合核酸检测技术探讨 ALT 在献血者筛查中的意义.临床输血与检验,2016,18(4):326-328.
- [3] Delle Monache M, Miceli M, Santolamazza M, Mannella E, et al. Elevated alanine aminotransferase in blood donors; role of different factors and multiple viral infections. The journal of international medical research, 1999,27(3):137-142.
- [4] 李伟华,刘玉振,李伍升.郑州地区合格无偿献血者的 ALT 参考值范围调查.中国输血杂志,2005,18(5):417-418.
- [5] 王丽梅,林洪铿,葛红卫.福州地区健康献血者丙氨酸氨基转移酶参考值调查.中国输血杂志,2009,22(7):530-531.
- [6] 卫生部血液标准专业委员会.血液筛查丙氨酸氨基转移酶(ALT)临界值变更专题研讨会纪要.2013.
- [7] 郭永建,王鸿捷,葛红卫.新千年的血液安全,上海:上海科学技术出版社,2005.
- [8] World Health Organization. Screening donated blood for transfusion transmissible infections recommendation, 2009;28.
- [9] 关于开展 2010 年血站核酸检测试点工作的通知.卫办医政函[2010]226 号.
- [10] 关于印发全面推进血站核酸检测工作实施方案(2013-2015 年)的通知.卫计生发[2013]22 号.
- [11] 献血者健康检查要求.GB 18467-2001
- [12] 临床常用生化检验项目参考区间第一部分:血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶和  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶.WS/T 404.1-2012.
- [13] 国家卫生和计划生育委员会.血站技术操作规程(2015 版).2015.
- [14] 虞巧丽.恒温下血液标本放置时间对 ALT 的影响.吉林医学,2013,34(3):506.
- [15] 刘正敏,高新谱,李健.血标本存放温度和时间对 ALT 检测结果的影响.中国输血杂志,2005,18(2):123-125.
- [16] 张理华,周殿友,庄一义,等.餐后对 21 项常规生化指标的影响.临床检验杂志,1996,14(4):187-188.
- [17] 李宁生,孟运运.空腹与餐后 5 中血清酶学指标的比对分析.东南国防医药,2010,12(3):235-236.
- [18] 孙家志,黄聪,陈辉莲,等.北海市无偿献血者丙氨酸氨基转移酶检测结果分析.现代检验医学杂志,2012,27(4):161-162.
- [19] 刘仁强,王德文,刘赴平,等.结合核酸检测探讨东莞市献血者 ALT 的参考范围.中国输血杂志,2010,23(1):14-15.
- [20] 刘玉强,张军,学亮,等.开封地区健康献血者丙氨酸氨基转移酶参考值调查.中外健康文摘,2011,8(24):287.
- [21] S Fukuda, J Sunaga, N Saito, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among Japanese blood donors; identification of three blood donors infected with a genotype 3 hepatitis E virus. Journal of Medical Virology, 2004, 73(4):554-561.
- [22] 武丽萍,王智红,王洪.献血者丙氨酸转氨酶筛查的历程.医学综述,2015,21(12):2229-2231.

(2017-03-02 收稿,07-06 修回)

本文编辑:李弘武

## 《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二段龙潭总部经济城华彩路 26 号《中国输血杂志》编辑部(请在汇款附言中注明您购书的册数、联系电话、是否需要发票等)。

## 昆明地区体检人群输血传播病毒分子流行病学研究\*

和芳 马莎 俞娟 林俊 张虹 郑红梅 王静 李芹

(昆明理工大学附属昆华医院 云南省第一人民医院 风湿免疫科, 云南 昆明 650000)

**摘要:目的** 通过对体检人群输血传播指标的检测,探究云南昆明地区第 4、5 组群输血传播病毒分子流行病学的特点。**方法** 本次研究材料取于 2016 年 4 月在云南省第一人民医院体检科 223 份体检人群的血液标本,充分离心后提取血清,在零下 80℃ 保存。利用聚合酶链式反应对血清输血传播病毒进行检测,阳性样品测序以后,对其同源性与系统进化予以分析。**结果** 本研究对 223 份血清予以检测,并根据序列的测定与比对,明确了 150 份阳性标本,其病毒感染率为 64.38%,第 4 组群检测出 47 份,其输血传播病毒的感染率 21.08%;第 5 组群检测出 77 份,其输血传播病毒的感染率 34.53%;混合感染 9 份,感染率 4.04%。**结论** 获取了本地区第 4、5 组群输血传播病毒流行病学的有关数据,对输血传播病毒具有预防作用。

**关键词:** 体检人群;输血传播病毒;分子流行病学**中图分类号:** R457.1 R446.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1039-03

**Study on the molecular epidemiology of transfusion transmitted virus in physical examination population** HE Fang, MA Sha, YU Juan LIN Jun, ZHANG Hong, ZHENG Hongmei, WANG Jing, LI Qing. Department of Rheumatology, the First People's Hospital of Yunan Province Kunming 650000, China

**Abstract: Objective** To explore the characteristics of transfusion transmitted virus molecular epidemiology in the fourth and five groups in Kunming District of Yunnan through the examination of blood transfusion transmission. **Methods** the detection of serum transfusion transmitted virus by polymerase chain was analyzed, and the homology and phylogenetic analysis were analyzed after the positive samples were sequenced. **Results** the study of 223 sera to be detected, and according to the sequence determination and comparison, the clear 150 positive samples, the HIV infection rate of 64.38%, the fourth group detection out of 47, the transfusion transmitted virus infection rate of 21.08%; the fifth group detection out of 77, the transfusion transmitted virus infection rate of 34.53%; mixed infection of nine infection rate of 4.04%. **Conclusion** the data about the epidemiology of transfusion transmitted virus in fourth and five groups were obtained, which could prevent the transmission of transfusion transmitted virus.

**Key words:** physical examination population; transfusion transmitted virus; molecular epidemiology

输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)是 1 种新型的输血传播 DNA 病毒,此病毒可使人与较多动物受到感染的威胁,它有高度异质性和多样性的基因组,且在人群中的感染几率更高<sup>[1]</sup>。本研究通过对病毒 UTR 区引物的检测,对本地区体检人群血清样品输血传播病毒进行鉴定,并对第 4、5 组群巢式引物予以鉴定,通过 N22 区引物的鉴定,以此对输血传播病毒在本地区的分子流行病学特征提供有利支持。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 来源于 2016 年 4 月在云南省第一人民医院体检科 223 份体检人群的血液标本,充分离心后提取血清,在零下 80℃ 保存。DNA 胶回收试剂盒(ZPV202-1)以及质粒提取试剂盒(ZP106A)都由庄萌生物公司提供;PCR 有关试剂(RR001Q)、T4 连接酶(D2011A)等由宝生物工程(大连)有限公司提供。PCR 引物序列参考文献,具体引物序列如下表 1,均由上海捷瑞生物公司合成提供。

表 1 PCR 引物表

名称	序列
NG147	GCCAGTCCCGAGCCCGAATTGCC
NG537	CTACGTA-CACTTCTCTGGGGYGTG
NG538	CCGCGGWCTCCACGRCAT
NG541	TCCACCATCCCATGCCATG
NG133	GTAAGTGCACTTCCGAATGGCTGAG
NG542	CTGTTTGTGGYGTGGGGAT
NG134	AGTTTTCCACGCCCGTCCGCAGC
NG147	GCCAGTCCCGAGCCCGAATTGCC
NG132	AGCCCGAATTGCCCTTGAC
NG543	TCCCATGCCATGGCAGGGC
NG539	CGAGARC GCGAGCRAAGCCGAG

**1.2 病毒基因组样品制备** 血清样品保存于-80℃超低温冰箱中,取 50 μL 血清样品,放于 1.5 mL 的 EP 管中,加入 15 μL 病毒裂解液,沸水浴 10 min,4℃ 5 000 r/min 离心 5 min,取上清液以作备用。

**1.3 巢式 PCR** 取 10 μL 的病毒基因组样品为巢式 PCR 模板,NG134、132 作为检测引物,PCR 反应体系为 25 μL,反应程序为 94℃ 5 min,94℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,72℃ 10



min; 35 个循环, 2% 琼脂糖凝胶电泳, 用于基因分析。

1.4 TTV 变异情况的具体分析 取第 4, 5 组群作为分群引物, 并根据巢式 PCR 对体检人群的血清阳性样品基因组群进行鉴定。分别选择 10 μL 基因组样品作为模板, 并选择 NG537, 538, 540, 541 作为第 4 组群与第 5 组群外循环扩增的引物, PCR 体系以及反应条件都与上述一致。选择 PCR 产物 10 μL, 选择 NG539, 538, 542, 543 作为第 4 组群和第 5 组群内循环扩增引物, 反应体系与条件均和上述保持一致。产物应用 2% 琼脂糖凝胶电泳予以有效分析, 利用琼脂糖凝胶回收试剂盒予以纯化后, 酶连接 Pmd-18T 载体, 采用 DH5α 扩大克隆, 对质粒测定序列, 并将其导入 NCBI 中予以比对。

1.5 分析 TTV 分群片段具有的同源性 随机选择第 4 组群分群实验组: KM120830, 120746, 120521, 120728, 120, 319, 120932, 113003, 113004, 选择 CT23F 与 JT41F 当作对照株; 选择第 5 组群分群实验组: KM113005, 113007, 120742, 120701, 120733, 120734, 120606, 120703, 选择 CT39F 与 JT33F 当作对照株, 对本地区 TTV 和其他地区毒株的进化联系, 选择 DNASTAR 软件初步分析分群片段序列的同源性 与系统进化。

## 2 结果

2.1 本地区 group 4 和 group 5 的 TTV 感染率情况 选择本地区 223 份体检人群的血清病毒 DNA, 采用巢式 PCR 扩增, 选择 2% 的琼脂糖凝胶电泳对产物分析, 如下图 1, 目标片段与理论大小 110 bp 统一。利用酶连接 pMD18-T 测定 PCR 产物序列, 并把结果导入 NCBI 中比对序列, 结果表明是 TTV。体检人群 223 份血清检出阳性 150 份, 基本确定本地区 group 4 和 group 5 的 TTV 感染率为 64.38% (150/223)。

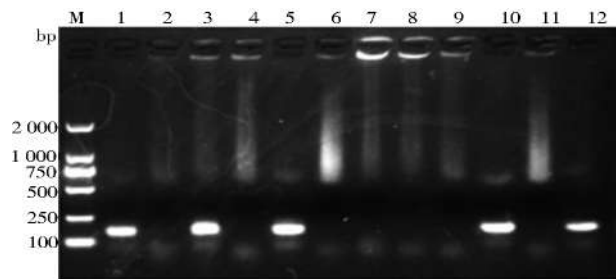


图 1 利用巢式 PCR 检测部分体检人群血清标本 UTR

2.2 各类基因型群组 TTV 的感染率情况 本研究通过 TTV 第 4, 5 基因群组的特征, 选择巢式 PCR 对病毒的基因群组进行鉴定, 以此对本地区人群中 TTV 分子变异情况有所了解。如下图 2 显示, 第 4 组群扩增显示出和理论值 182 bp 靠近的条带, 总计得出 47 份阳性标本, 测序序列实施 NCBI 的比对显示, 第 4 组群为输血传播病毒, 且其感染率为 21.08% (47/223)。

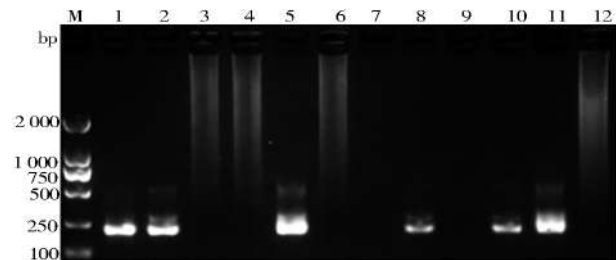


图 2 利用巢式 PCR 检测部分体检人群血清标本第 4 组群引物

第 5 组群扩增结果情况如下图 3; 显示第 5 组群扩增显示出和理论值 202 bp 靠近的条带, 总计得出 77 份阳性标本, 测序序列实施 NCBI 的比对显示, 第 5 组群为 TTV, 初步认为其感染率为 34.53% (77/223), 确定第 4, 5 组群输血传播病毒 9 份混合感染, 其感染率为 4.04% (9/223)。

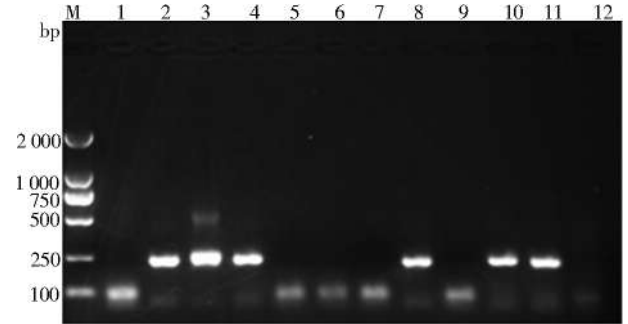


图 3 利用巢式 PCR 检测部分体检人群血清标本第 5 组群引物

2.3 第 4, 5 组群分群片段 TTV 同源性的分析 第 4 组群 TTV 的参考序列为 JT41F 与 CT23F, 并根据 DNASTAR 软件对其同源性予以分析, 具体情况如下图 4(a) 显示, 和 CT23F 的同源性对比, 其范围为 85.4%–90.1%, 最高与最低分别为实验组 KM113002, 120746; 和 JT41F 的同源性对比, 其范围为 85.4%–91.4%, 最高与最低分别为 KM120932, 120830。

第 5 组群 TTV 的参考序列为 JT33F 和 CT39F, 具体结果如图 4(b) 显示, KM120734 和 JT33F, KM113005 和 CT39F 的同源性均较高, 分别为 92.6%, 95.9%; KM120734 和 CT39F, KM120701 和 JT33F 的同源性均较低, 分别为 73.4%, 69.5%。

		Percent Identity										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Divergence	1	84.8	90.1	88.7	87.3	88.7	89.4	85.4	86.1	88.7	1	CT23F
	2	17.1	90.1	90.7	88.7	86.8	88.1	87.4	85.4	91.4	2	JT41F
	3	10.7	10.7	93.4	92.0	90.1	90.1	88.7	88.1	96.0	3	KM113002
	4	12.2	9.9	6.9	91.3	93.4	94.0	94.0	92.1	96.0	4	KM113004
	5	13.9	12.3	8.5	9.2	90.0	88.0	89.3	88.7	94.7	5	KM120319
	6	12.2	14.6	10.7	6.9	10.7	89.4	89.4	90.7	92.7	6	KM120521
	7	11.4	13.0	10.7	6.2	13.2	11.5	94.0	92.7	92.7	7	KM120728
	8	16.2	13.8	12.2	6.2	11.5	11.5	6.2	92.7	92.7	8	KM120746
	9	15.4	16.2	13.0	8.4	12.3	9.9	7.7	7.7	92.1	9	KM120830
	10	12.2	9.1	4.1	4.1	5.5	7.7	7.7	7.7	8.4	10	KM120932

(a) 第 4 组群

		Percent Identity										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Divergence	1	73.9	95.9	86.0	87.6	85.5	86.1	96.4	73.4	73.9	1	CT39F
	2	32.0	74.3	70.1	69.7	69.5	70.2	74.3	92.6	92.0	2	JT33F
	3	4.2	31.4	87.0	88.6	86.5	87.0	94.9	73.8	74.3	3	KM113005
	4	15.6	38.5	14.3	93.8	99.5	100.0	87.0	69.0	70.6	4	KM113007
	5	13.6	39.1	12.4	6.5	93.3	93.8	87.0	68.6	69.7	5	KM120606
	6	16.2	39.4	15.0	0.5	7.1	99.5	86.5	68.4	70.1	6	KM120701
	7	15.5	38.3	14.3	0.0	6.5	0.5	86.5	69.1	70.7	7	KM120703
	8	3.7	31.4	5.3	14.4	14.3	15.0	14.9	74.3	74.9	8	KM120733
	9	32.9	7.8	32.3	40.3	41.1	41.2	40.0	31.5	97.3	9	KM120734
	10	32.1	8.5	31.5	37.5	39.2	38.4	37.3	30.7	2.7	10	KM120742

(b) 第 5 组群

图 4 TTV 第 4, 5 组群分群序列同源性的具体分析 (%)

2.4 第 4, 5 组群分群片段输血传播病毒系统进化的分析 第 4 组群实验组选择 CT23F 与 JT41F 作为参考株, 并选择 Megalign 软件构建分子进化树, 具体情况如下图 5, KM120728, 120521, 113004, 120830, 120746, 120932 和 JT41F 具有较近的进化关系; KM120319, 113002 和 CT23F 具有较近

的进化关系;均是 TTV 第 4 组群,结果和图 4(a)同源性的分析结果一致。第 5 组群实验组选择 CT39F 与 JT33F 作为参考株,结果如下图 6 显示, KM120733、120703、113007、120606、113005、120701 和 CT39F 具有较近的进化关系, KM120734、120742 和 JT33F 也有较近的进化关系,均是 TTV 第 4 组群,结果和图 4(b)同源性的分析结果一致。

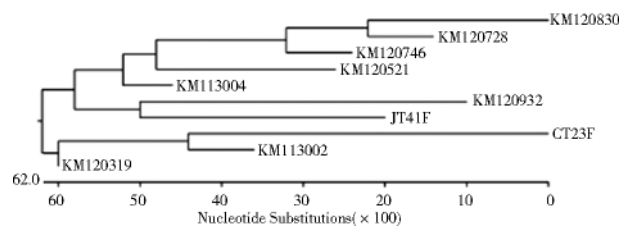


图 5 TTV 第 4 组群分型片段基因系统进化的分析

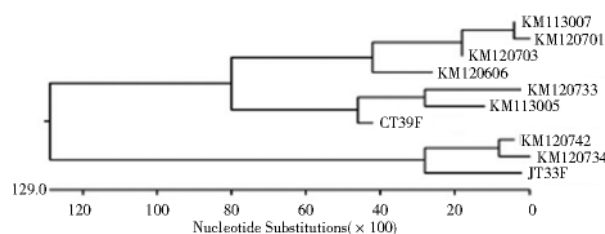


图 6 TTV 第 5 组群分型片段基因系统进化的分析

### 3 讨论

我国 TTV 分布较广泛,极易出现肝损伤及免疫系统等相关疾病,它的基因组在人与动物中具有较强的变异性<sup>[2-3]</sup>。通常认为 TTV 是 1 种有限的致病病毒,根据有关研究显示<sup>[4-5]</sup>,TTV 和一些疾病的出现与进展均存在联系。

对各类基因型人群 TTV 全场序列的分析显示,病毒中含有 ORF1、ORF2、ORF3,前者的主要编码为核衣壳蛋白,其中具有滚环复制的 Rep 结构;中间存在较为保守的结构域;后者编码的凋亡诱导蛋白和 CAV 编码中蛋白较靠近<sup>[6]</sup>。基因组的两端均属于非翻译区,核心部分富集超过九成的鸟嘌呤以及胞嘧啶,认为其在病毒复制方面具有显著影响<sup>[7]</sup>。

TTV 属于变异率较高的 DNA 病毒,现阶段,已经确定了超过 23 个基因型,本研究选择少量血清标本,通过煮沸裂解的方式,对本地区健康体检人群的血清 TTV 给予分析,成本相对较低,同时,可以使标本处理效率明显提升,防止标本经过多次冻融对病毒基因组产生破坏影响。本研究对 223 份血清予以检测,并根据序列的测定与比对,明确了 150 份阳性标本,其病毒感染率为 64.38%,第 4 组群检测出 47 份,其 TTV 的感染率为 21.08%;第 5 组群检测出 77 份,其感染率为 34.53%;混合感染 9 份,感染率为 4.04%。在深入研究的过程中,我们检测了 TTV N22 区以及相关基因组群,保证不同基因组群的感染率;得到 TTV 全基因组的序列,以此对本地区 TTV 毒株和其他地区毒株间进化关系同源性与异同性的分析,以此对 TTV 在本地区的分子流行病学特征的了解提

供有利条件。

TTV 是否能引起肝脏的损伤现在还不能下定论 (Nobili et al., 2005),项目矛盾的结论都比较多,然而现在越来越相信的是 TTV 和人是共进化的关系,不会造成肝损伤。甚至有些 TTV 的基因型在 HIV 感染者中比健康人群有较高的流行率,而且 TTV 的载量也较高 (Shibayama et al., 2001),但是没有造成相应的疾病。

### 参考文献

- [1] 张洪兵. 昆明市体检人群输血传播病毒分子流行病学研究. 生命科学与技术学院, 2014.
- [2] 李攀, 张成, 崔成成, 等. 昆明地区人输血传播病毒分子流行病学研究. 中国微生态学杂志, 2014, 26(10):1127-1130.
- [3] 方昌志. 南昌地区输血 HBV 残余风险评估及献血者中 HBV 基因分型. 南昌大学医学院南昌大学, 2014.
- [4] 时丽丽, 赵琦, 蒋岩, 等. 一起疑似输血传播 HIV 的分子流行病学研究. 中华预防医学杂志, 2013, 47(5):427-430.
- [5] 方昌志. 南昌地区输血 HBV 残余风险评估及献血者中 HBV 基因分型. 南昌大学医学院南昌大学, 2014.
- [6] 刘玉萍, 沈太敏, 帅平, 等. 成都市健康体检妇女乳头状瘤病毒感染及基因亚型分析. 实用医院临床杂志, 2015(6):52-54.
- [7] 陈嘉, 何永成, 栾韶东. 维持性血液透析患者丙型肝炎病毒感染基因型及同源性分子流行病学研究. 中国血液净化, 2013, 12(8):425-431.
- [8] Qiu J, Kakkola L, Cheng F, et al. Human circovirus TT virus genotype 6 expresses six proteins following transfection of a full-length clone. J Virol, 2005, 79(10):6505-6510.
- [9] Thom K, Morrison C, Lewis J C, et al. Distribution of TT virus (TTV), TTV-like minivirus, and related viruses in humans and nonhuman primates. Virology, 2003, 306(2):324-333.
- [10] Hirata D, Kaneko N, Iwamoto M, et al. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with non-A to G hepatitis in patients with rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol, 1998, 37(12):1361-1362.
- [11] Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. Biochemical & Biophysical Research Communications, 1997, 241(1):92.
- [12] Tawara A, Akahane Y, Takahashi M, et al. Transmission of human TT virus of genotype 1a to chimpanzees with fecal supernatant or serum from patients with acute TTV infection. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2000, 278(2):470-476.
- [13] Maggi F, Pifferi M, Fornai C, et al. TT virus in the nasal secretions of children with acute respiratory diseases; relations to viremia and disease severity. J Virol, 2003, 77(4):2418-2425.

(2017-01-17 收稿, 08-20 修回)

本文编辑:夏玲

## · 论著 ·

## 成都市获国家无偿献血奉献奖献血者流失原因分析

赵玉伟 涂丽梅 傅雪梅<sup>△</sup>(成都市血液中心,四川 成都 610041)

**摘要:目的** 针对获得国家无偿献血奉献奖献血者的流失情况及原因进行分析,探讨有效减少献血者流失的对策。**方法** 查询获国家无偿献血奉献奖各奖项献血者的基本信息,对流失原因以问卷形式进行电话回访,对获取的信息进行统计分析。**结果** 成都市 2012-2013 年度获奖献血者流失率为 24.4%,流失献血者的性别及奖项分布差异无统计学意义;男性 40 岁以下年龄段流失 44 人,占男性总流失人数的 75.9%,女性 40-50 岁和 30 岁以下年龄段均流失 7 人,分别占各自年龄段流失人数的 30.4%和 35%;献血者“离开本市”22 人,“血液检测不合格”16 人,“献血前体检不合格”13 人,“身体原因”8 人,分别占总流失人数的 28.6%、20.8%、16.9%和 10.4%,是导致获奖献血者流失的主要原因。**结论** 成都市获奖献血者流失比例较高,应针对不同流失原因制定相应的招募保留策略以减少献血者流失,对建立稳定的固定献血者队伍具有重要的意义。

**关键词:** 国家奉献奖;献血者;流失原因;分析

**中图分类号:** R457.1 R193.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1042-04

**Condition and reason analysis on loss of awarded blood donors in Chengdu** ZHAO Yuwei, TU Limei, FU Xuemei. Chengdu Blood Center, Chengdu 610041, China. Corresponding author: FU Xuemei

**Abstract: Objective** To understand the condition of blood donor population lost after awarded with National Unpaid Blood Donation Contribution Reward and figure out the reasons to improve the strategy for reducing the loss of awarded population. **Methods** Information on lost awarded donors were collected and evaluated by making telephone survey on the reasons for terminating blood donation. **Results** The loss rate of awarded blood donors in Chengdu was 24.4%. There was no statistical difference among gender and awards ( $P>0.05$ ). The male donors <40 years old group lost 44 persons, comprising 75.9% of the total male lost donors and the majority of lost donors. Female donors in <30 group and 40-50 group lost 7 persons respectively. There was no statistical difference between different age groups ( $P>0.05$ ). 'Leave Chengdu' was the first reason for donor loss (28.6%), followed by 'Not pass the blood test' (20.8%), 'Not pass the pre-donation physical examination' (16.9%), 'Unfit physical condition' (10.4%) and so on. **Conclusion** The loss rate of awarded blood donors in Chengdu is large. More attention needs to be paid to the lost awarded donor population. It is very necessary to make different strategies to different population for decreasing the loss rate of repeated donors and constructing a steady repeated blood donation population.

**Key words:** national unpaid blood donation contribution reward; blood donor; lost reason; analysis

国家无偿献血奉献奖获得者是固定献血者队伍的重要组成部分,同时该群体也是世界卫生组织(WHO)血液安全策略推荐的低危献血者的核心群体<sup>[1]</sup>,该献血者群体长期规律地参加无偿献血,对无偿献血知识有较全面的了解,对提高血液安全和保障血液供应至关重要。因此,无偿献血奉献奖获得者献血人群的流失,对于稳定固定献血者队伍具有较大影响。为此,本文针对成都市获得 2012-2013 年度国家无偿献血奉献奖后流失的献血者进行统计分析,以期对固定献血者队伍的建设与发展提供科学的参考依据,现将分析情况报告如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 调查对象** 成都市血液信息管理系统中获得 2012-2013 年度全国无偿献血奉献奖各奖项的献血者,共计 315

名,男性 250 名,女性 65 名。

**1.2 调查方法** 从血液信息管理系统中查询获奖献血者的基本信息,获得 2012-2013 年度无偿献血奉献奖后停止献血的献血者定义为流失献血者,针对该群献血者的流失原因,以问卷形式进行电话回访,获取的信息进行统计分析。

**1.3 统计学分析** 文中涉及的统计学分析采用 SPSS20.0 软件进行 $\chi^2$ 检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 获奖献血者流失概况** 成都市 2012-2013 年度国家无偿献血奉献奖获得者共计 315 人,获奖后流失 77 人,总流失率为 24.4%,其中男性流失 58 人,女性流失 19 人,分别占各自性别获奖人数的 23.2%和 29.2%(图 1A),性别间流失率的差异无统计学意义( $\chi^2=1.02, P>0.05$ );按获奖等级分类,金奖流失 42 人,银奖流失 20 人,铜奖流失 15 人,分别占各自总获奖人数的 21.2%、33.9%和 25.9%(图 1B),各奖项间流失率的差异无统计学意义( $\chi^2=2.35, P>0.05$ )。

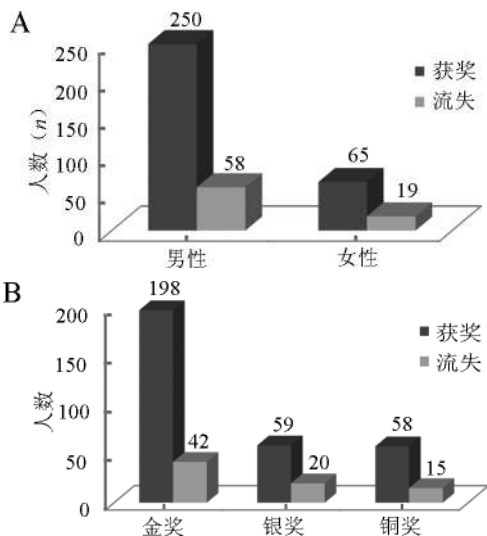
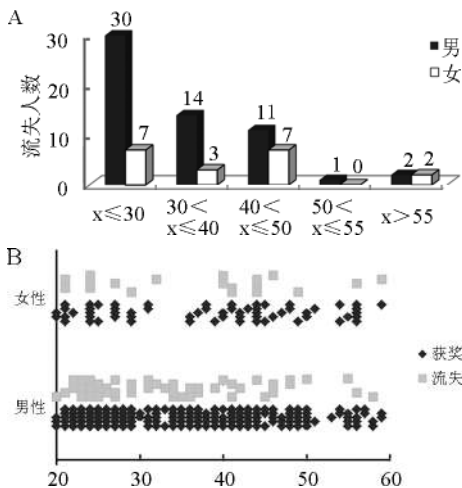


图 1 获奖献血者流失概况

**2.2 获奖后流失献血者年龄分布特征** 从总流失状况来看,30-40 岁和 30 岁以下年龄段获奖人群流失比例较大,分别为 28.8% 和 26.1% (图 2B)。不同性别流失人群分布不同,男性流失人群年龄段分布与总体流失分布情况类似,30-40 岁和 30 岁以下年龄段流失人数较多,分别为 14 人和 30 人(图 2A),流失率分别是 28.6% 和 25.2% (图 2B),50-55 岁年龄段流失 1 人,流失率为 12.5%。女性流失最多的年龄段为 40-50 岁和 30 岁以下年龄段,均为 7 人,但流失率最大的年龄段为 40-50 岁,流失率为 35%,其次是 30 岁以下,为 30.4%。50 岁以下各年龄段流失率,女性均高于男性和总体水平,但无统计学差异 ( $P>0.05$ )。



注:年龄段  $x \leq 30, 30 < x \leq 40, 40 < x \leq 50, 50 < x \leq 55, x > 55$  的女性,男性流失率分别为:30.4%、25.2%、30.0%、28.6%、35.0%、17.5%、0、12.5%、25.0%、18.2%,总流失率分别为 26.1%、28.8%、21.7%、8.3%、21.1%

图 2 获奖后流失献血者年龄分布

**2.3 获奖后流失献血者人口社会学分布特征** 见表 1。

**2.4 获奖后献血者流失原因** 见表 2。

体,该群体在无偿献血者队伍中的比重不仅体现着该地区无偿献血者队伍的稳定性,同时对保障血液安全和血液供应具有重要影响。一方面,获奖者凭借自身的献血经历和对无偿献血知识的了解,可以很好的发挥无偿献血宣传动员和表率作用;另一方面,获奖者作为固定献血者所捐献的血液更安全<sup>[2, 3]</sup>。分析并关注获奖献血者人群的状况对固定献血者队伍的建设与发展具有重要意义。

表 1 获奖后流失献血者人口社会学分布

项目	不同人群流失人数(n)		
民族分布	汉	72	
	满	2	
	彝	1	
	苗	1	
	土家	1	
学历分布	研究生	3	
	本科	26	
	专科	14	
	高中	11	
	中职	3	
	初中	15	
	小学	3	
	其他	2	
职业分布	工人	9	
	农民	8	
	教师	3	
	学生	13	
	军人	2	
	职员	13	
	医务人员	2	
	其他	27	
	户籍状况	本市	30
		市外	27
省外		20	
婚姻状况	已婚	42	
	未婚	35	

注:1 职业分布中:学生均为非成都户籍,省外 9 人,省内 4 人;2 户籍状况中:市内 30 人含血液检测不合格 10 人,体检不合格 4 人,有不愉快献血经历 2 人

成都市获 2012-2013 年度国家无偿献血奉献奖的献血者 315 人,流失 77 人,流失率为 24.4%,虽然低于我国在册献血者 1/3 的流失水平<sup>[4]</sup>,但对于固定献血者队伍来说流失率较高。统计结果显示,流失人群在性别、奖项和年龄段的分布上虽无统计学差异,但对于获奖后流失人群的特征和流失原因分析仍然具有重要意义。

年龄分布上,流失的男性获奖献血者以 40 岁以下年龄段为主,而女性获奖者主要流失年龄跨度更大(50 岁以下),且 40-50 岁年龄段流失率最高。已有研究显示<sup>[5]</sup>,40 岁以下男性承受着更多的社会和家庭压力,工作和身体等多种因素更容易造成献血终止;而 35 岁以上的女性更易因身体健康原因停止献血。文中 40-50 岁年龄段女性获奖者的流失率最高也印证了这一情况。

3 讨论

国家无偿献血奉献奖获得者是固定献血者中的优秀群

表 2 获奖后献血者流失原因

原因	项目	n	备注	说明
血液检测不合格	HBsAg	6(男=6)	2 单阳,4 灰区	共 16 名,男性多于女性(12:4),检测结果灰区居多
	抗-HCV	6(男=3 女=3)	3 单阳,3 灰区	
	抗-HIV	3(男=2 女=1)	2 位男性为 NAT 联检反应性,鉴别阴性;1 位女性为 ELISA 灰区	
	抗-TP	1(男性)	双阳	
献血前体检不合格	ALT	4(男性)	>50 IU/L	共 13 名,男性以 ALT 不合格为主;女性为红细胞指标不合格为主;回访中均表示继续参加无偿献血
	Hct	7(女性)	3 人合并 Plt 计数不够;3 人合并 Hb 不合格。	
	血压、脉搏	2(男性)	1 人超龄(56 岁)	
离开本市	学生	8(川籍=2,非川籍=6)	1 人存在体检不合格情况	共 22 名,均为非本市户籍(川籍=8 名,非川籍=14 名),学生比例最高,其次为职员
	职员	6(川籍=1,非川籍=5)		
	农民	3(川籍)		
	教师	2(非川籍)		
	其他	3(川籍=2,非川籍=1)		
身体原因	因病因伤服药	3(男=1 女=2)	共 8 名(男=4 女=4)	
	身体素质变差	3(男=1 女=2)		
	不方便说	2(男性)		
工作原因	工作忙	2(男性)	共 5 名,均为男性,年龄 35 岁以下	
	不常驻成都	3(男性)		
年龄超过 55 周岁		5(男=3 女=2)	1 名抗-HCV 单阳;1 名体检不合格后停止献血,1 人为全血献血者	
有不愉快献血经历		3(男=2 女=1)		对血站工作人员服务态度不满意,对无偿献血表彰不满意
全血献血者		2(男性)		

注:6 名献血者无法联系

获奖后流失献血者,以汉族为主,这与获奖者以汉族献血者为主有关;本科学历最多,初中和高中学历次之;具有明确职业的流失献血者分布集中,以学生和职员最多;非本市户籍献血者居多,占总流失人群的 61%,明显提示外地户籍献血人群的比例对于固定献血者队伍的稳定有较大影响。

导致获奖献血者流失的主要原因有“离开本市”、“血液检测不合格”和“献血前体检不合格”,分别为 22 人、16 人和 13 人,占总流失人数的 28.6%、20.8% 和 16.9%。结果显示,“离开本市”的获奖献血者均不是本市户籍,其中有学生 8 人,职员 6 人,均属流动性强的人员,提示献血招募若过多地依赖高校团体献血将不利于固定献血者队伍的稳定与发展,而加强本地常住人口的动员与招募对于构建稳定的献血者队伍至关重要;此外,虽然电话回访中有 3 名“离开本市”的献血者仍在当地参加无偿献血,但面对我国无偿献血“属地化”管理的现状,“离开本市”的固定献血者依旧是当地献血者队伍稳定性建设的影响因素。16 名“血液检测不合格”的获奖者中,6 名男性为 HBsAg 不合格,除了 HBV 免疫应答的性别差异原因外<sup>[6,7]</sup>,在中国这样的乙肝大国<sup>[8]</sup>,男性较女性更高的社交频率和受创伤几率也是造成男性 HBV 感染率高的重要原因;此外,16 人中有 15 人血液标本检测结果为单试剂阳性、灰区或核酸检测鉴别阴性。已有研究证实,单试剂阳性或灰区的标本尤其是 S/Co 值低的标本确认阳性率很低<sup>[9-11]</sup>,提示进一步提高血液检测水平并统一标准建立完善的献血者屏蔽制度,对于固定献血者队伍的建

设也至关重要。13 名“献血前体检不合格”获奖者中,7 名女性全部是红细胞指标(Hct、Hb)或合并 Plt 计数不合格,4 位 ALT 不合格者均为男性。女性由于自身的生理因素、性别特征以及减肥风气盛行等因素容易出现血细胞指标的波动<sup>[12,13]</sup>,而男性更容易因为饮酒、运动、熬夜、饮食等方面的原因导致 ALT 出现异常<sup>[12,14]</sup>。献血档案分析显示,13 位流失获奖者在出现一次或多次体检不合格后停止献血,电话回访后均表示会继续参加无偿献血,这也提示血站工作人员对体检不合格献血者建立回访档案,定期进行电话或短信回访,能够有效的降低献血者流失。

同时,“身体原因”和“有不愉快献血经历”也是造成获奖献血者流失的因素,本研究中共有 11 人因此停止献血,占流失总人数的 14.3%。研究发现,因病服药停止献血的献血者再次参加献血比例较高<sup>[15]</sup>,在电话回访中,11 位流失献血者在经过关怀问候与耐心解释后,均主动表示会继续参加无偿献血,说明获奖献血者群体对无偿献血有更加成熟的认识,更容易被招募到无偿献血中;而定期分析献血者状况并对献血频率明显降低的献血者进行电话回访,进行人文关怀或献血提醒将有利于固定献血者队伍的维护和发展;同时血站工作人员良好的言行与态度、优质的服务对减少献血者不愉快事件的发生同样重要。作者在电话回访和日常工作中多次了解到献血者对无偿献血表彰方式和力度存在不满的情绪,认为无偿献血没有得到充分的认可,因此一定程度上影响到继续参与无偿献血的积极性,提示无偿献血表彰工作

仍需加强,通过争取当地政府的政策支持,尽可能在公共交通、游览、医疗等方面为获奖者提供更多的便利与奖励,才能对固定献血者队伍的稳定以及普通公民献血积极性的提高具有较大推动作用。此外,5 人因“工作原因”停止献血,占流失总人数的 6.5%,且全部为 35 岁以下男性,与男性流失获奖者年龄分布吻合,也再次说明当下 35 岁以下男性承担着更多的社会和家庭压力<sup>[5]</sup>,同时也提示在固定献血者队伍建设和维护中,对于 35 岁以下这一无偿献血主要群体<sup>[16]</sup>的献血者,应该制定针对性的措施来减少该群体的献血者流失。

综上所述,固定献血者队伍的建设与稳定是保障无偿献血稳步发展的基础<sup>[17]</sup>,及时分析获国家奖项献血者队伍的流失原因,针对性地采取有效的招募与管理对策,减少献血者流失,不断壮大固定献血者队伍,才能为更好地解决区域性、季节性、结构性血液供应紧张等问题奠定坚实的基础,从而推动无偿献血事业健康持续发展。

### 参 考 文 献

[1] 陈璞,红兵.无偿献血次数的影响因素及应对策略分析.中国卫生事业管理,2008,14(6):421-422.

[2] 刘彬伢,张春荣.招募固定献血者降低输血风险.中国医药指南,2012,10(10):373-374.

[3] 岑宪铭,刘明,梁立飞,等.重复献血对血液安全的影响.临床输血与检验,2012,14(1):62-64.

[4] 李雅杰,安万新,梁晓华,等.全国各地血液供应紧张原因分析及对策.中国输血杂志,2012,25(12):1236-1238.

[5] 吴敬林,罗保红,周素,等.柳州市多次无偿献血者流失情况及原因调查.中国输血杂志,2014,27(6):631-634.

[6] Cook IF. Sexual dimorphism of humoral immunity with human vac-

cines. Vaccine, 2008, 26(29-30):3551-3555.

[7] Fang JW, Lai CL, Chung HT, et al. Female children respond to recombinant hepatitis B vaccine with a higher titre than male. J Tropical Ped, 1994, 40(2):104-107.

[8] 梁晓峰,陈园生,王晓军,等.中国 3 岁以上人群乙型肝炎血清流行病学研究.中华流行病学杂志,2005,26(9):35-38.

[9] 宋美兰,任芙蓉,龚晓燕,等.献血者 HBsAg 及抗-HCV ELISA 筛查不合格标本的假阳性分析.北京医学,2013,35(5):391-395.

[10] 张秀慧,余加宏,钟政荣,等.ELISA 法检测 HBsAg 灰区和单试剂反应性样本的确认结果分析.临床输血与检验,2015,17(3):224-226.

[11] 李雪梅,杨春茂,杨春晴,等.献血者 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TPELISA 检测阳性与确证试验的对比研究.中国输血杂志,2013,26(6):541-543.

[12] 王志红,任诚诚,李慧晓.无偿献血员街头初筛淘汰人群分布特征分析.临床血液学杂志(输血与检验版),2013,26(2):259-261.

[13] 肖莉,王琼,刘志刚,等.2008 年祁东县居民贫血状况及影响因素分析.实用预防医学,2010,17(7):1272-1275.

[14] 赖建秀,王松云,刘福发,等.ALT 初筛在不同职业无偿献血者中的选择应用.临床输血与检验,2009,11(1):74.

[15] 陈承益.桂中地区暂缓献血者调查分析.中国输血杂志,2012,25(10):963-964.

[16] 吴敬林.不同群体参与无偿献血差异程度及无偿献血宣传招募策略.心理医生(下半月版),2012,18(5):431-432.

[17] 李新建,武丽娟.表彰奖励方法对招募献血者影响的分析.当代医学,2011,17(17):75-76.

(2016-09-27 收稿,2017-05-18 修回)

本文编辑:夏玲

## 严 正 声 明

近期不断地有各地编委老师,投稿作者反应,有冒《中国输血杂志》之名的“钓鱼网站”以各种方式非法收取所谓“定稿费”、“录用证明费”、“发表费”等各种名目的费用,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!

《中国输血杂志》编辑部

## · 论著 ·

## 青岛地区 2006-2015 年不同年龄段献血者血液检测不合格情况分析

赵会霞 韩丽 王倩倩(青岛市中心血站,山东 青岛 266071)

**摘要:目的** 了解青岛地区不同年龄段无偿献血者血液检测不合格分布情况,为无偿献血招募和筛查策略提供科学依据,从而减少血液报废,保护血液资源,提高血液安全性。**方法** 收集近 10 年青岛地区不同年龄段无偿献血者相关数据。相关检测指标有:HBsAg、抗-HIV、抗-HCV、抗-TP、ALT 及核酸检测。按不同年龄段分组,进行统计学分析。**结果** 无偿献血者共 985 790 人次,总不合格率 2.98%。不同年龄段献血者检验阳性率有统计学差异( $P < 0.01$ ),且 55-60 岁献血者阳性率最低(0.92%),而 25-34 岁献血者阳性率最高(3.87%)。在男性各年龄组中,25-34 岁组 ALT 阳性率最高(3.77%),最低的为 55-60 岁组(0.15%),有统计学差异( $P < 0.01$ )。女性抗-TP 阳性率显著高于男性,且 25-34 岁女性抗-TP 阳性率最高(0.64%)。55-60 岁献血者 HBsAg 阳性率显著低于其他年龄组。各年龄组 HIV 的阳性率的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。对于不同年份的比较,不合格率在 2009 年最高,出现了先升高后下降并趋于稳定的趋势。**结论** 为了减少血液报废,可以选择性地针对 25-34 岁女性献血者进行献血前的抗-TP 快速检测。定向加大对 55-60 岁献血者的招募力度,使其成为无偿献血的有力补充。应加大对 25-34 岁献血者的健康教育和献血前筛查的力度以减少血液报废,加大对 18-24 岁献血者的招募和宣教力度以增加其在献血人群中的比例。

**关键词:** 血液检测;无偿献血者;不合格率;招募

**中图分类号:** R446.1 R193.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1046-03

**Serological detection of blood from different age groups in blood donors and analysis of unqualified reason in Qingdao from 2006 to 2015** ZHAO Huixia, HAN Li, WANG Qianqian. Qingdao Blood Station, Qingdao 266071, China

**Abstract: Objective** To understand the situation of serological detection of blood from different age group of blood donors in Qingdao area in recent ten years, so as to provide a scientific basis for the blood donation recruitment methods and the recruitment strategies, to reach the goal for decreasing the blood disposal rate, protecting the blood resources and improving blood safety.**Methods** The volunteer blood donors with established electronic archives in the past ten years in Qingdao blood center were taken as the research object. Detection data on ALT, HBsAg, anti-HCV, anti-TP, anti-HIV were collected. A statistical analysis was made according to different age groups.**Results** There were 985 790 cases of volunteer blood donors in Qingdao, and the unqualified rate was 2.98%. Positive blood donors showed significant difference in all age groups ( $P < 0.01$ ). The unqualified rate of 55 to 60 years old donors was the lowest. The highest was found in 25 to 34 years old donors. For men, ALT unqualified rate was the highest (3.77%) in 25 to 34 years old group, and the lowest for 55 to 60 years old group (0.15%). The difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). The anti-TP unqualified rate was significantly higher than men, and women who were 25 to 34 years old were the highest (0.64%). The 55 to 60 years old donors' HBsAg unqualified rate was significantly lower than other age groups. There was no statistically significant difference in unqualified rates of HIV among all age groups ( $P > 0.05$ ). From comparison of the unqualified rates during recent ten years, the rates increased before 2009 and decreased after 2009.**Conclusion** In order to reduce blood disposal, preliminary screening detection of anti-TP before donation can be improved for 25 to 34 year-old women donors selectively. Recruitment of blood donation for people 55 to 60 years old can be strengthened in order to make them a powerful addition to blood donation. In order to decrease unqualified rate, consultation and preliminary screening detection should be improved for blood donors 25 to 34 years old. Increased effort should be paid to recruit more donors of 18 to 24 years old.

**Key words:** WTserological detection; volunteer blood donors; unqualified rate; recruitment

血液安全是采供血机构工作的重中之重。采集后血液检测的不合格原因有丙氨酸氨基转移酶(ALT)升高或乙肝表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)、梅毒螺旋体抗体(抗-TP)、艾滋病病毒抗体(抗-HIV)及核酸检测有反应性(本站 2010 年 6 月 1 日开始全面开展核酸检测)。为了

了解不同年龄段献血者血液检测不合格的原因分布,为制定合理化的招募和筛查策略提供理论支持和依据,我们分析了青岛地区近 10 年不同年龄段献血者检验不合格分布情况,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2006 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日年青

岛地区自愿无偿献血者的血液标本共 985 790 人次,符合《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)和《全血及成分血质量要求》(GB18469-2012)相关规定。按照年龄段分组:A组:18-24岁;B组:25-34岁;C组:35-44岁;D组:45-54岁;E组:55-60岁。

**1.2 仪器与试剂** 献血前健康检测内容:所有献血者均严格按《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)进行初筛,内容包括体重、血压、血型、ALT快速检测、HBsAg快速检测,合格方可献血。血清学检测系统:TECAN全自动加样仪(瑞士TECAN);Hamilton Microlab FAME(瑞士Hamilton);HBsAg ELISA检测试剂:(上海科华,批号:201206031,201012021;美国雅培,批号:D107810,D102210);抗-HCV ELISA检测试剂(上海科华,批号:201207021,201101011;北京万泰,批号:C20120508,C20101001);抗HIV-1/2 ELISA检测试剂(珠海丽珠,批号:2012061108,2010080308);HIV抗原/抗体 ELISA(北京万泰,批号:H20120704,H20120302)。核酸检测系统:Procleix TIGRIS核酸检测系统(美国诺华)及其检测试剂Procleix Ultrio(批号:593226,598605,593226);罗氏Cobas 201核酸检测系统(美国罗氏)及Cobas MPX检测试剂(N03426,N12813)。采用罗氏和诺华检测系统交替使用、

个实验室相互备份的策略,在重新启用前须对检测系统的主要性能、参数等进行验证。

**1.3 检测方法及判定标准** ALT检测采用速率法,自2013年4月起,以 $ALT \leq 50 U$ (之前为 $ALT \leq 40 U$ )判为合格标准。HBsAg、抗-HCV、抗-TP和抗-HIV均采用ELISA检测。对献血者血样进行初复检,初复检结果均为阳性者判为阳性,1种试剂阳性者用相同试剂进行双孔复检,复检结果1孔以上阳性者判阳性。核酸检测:诺华检测系统采用单人份检测(IDT)模式,初次检测无反应性的标本为阴性,初次检测有反应性的标本进行项目鉴别试验;罗氏检测系统采用6人份混样检测(MP6)模式,混样在经初次检测无反应性的标本为阴性,初次检测有反应性的混样进行拆分试验,即对构成该反应性混样的每个标本进行单标本的检测。判定规则严格按照试剂说明书要求。所有试验均严格按试剂说明书操作。

**1.4 统计学处理** 采用SPSS21.0软件进行分析,建立数据库,计数资料以率表示,组间比较用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。分性别对各组进行率的差异的统计学分析。

## 2 结果(表1、2,图1)

表1 2006-2015年青岛地区各年龄段献血者检测指标结果

年龄(岁)	献血人次(n)		性别	不合格原因						合计(%)	
	男	女		ALT(n)	HBsAg(n)	抗-HCV(n)	抗-TP(n)	抗-HIV(n)	核酸阳性(n)		
A组	18-	234 053	174 082	男	4 906	820	546	358	202	117	6 949(2.97)
				女	1 035	589	389	494	169	82	2 758(1.58)
B组	25-	189 684	79 613	男	7 153	575	262	576	145	167	8 878(4.68)
				女	599	197	151	510	63	35	1 555(1.95)
C组	35-	139 955	65 913	男	3 978	430	227	626	91	188	5 540(3.96)
				女	457	153	105	415	46	42	1 218(1.85)
D组	45-	65 339	32 280	男	973	201	86	317	49	119	1 745(2.67)
				女	308	82	61	185	20	39	695(2.15)
E组	55-60	3 443	1 428	男	5	3	4	11	2	6	31(0.90)
				女	6	1	1	5	0	1	14(0.98)
合计		632 474	353 316		194 200	3 051	1 832	3 497	787	796	29 383(2.98)

注:男、女各年龄组复检淘汰率比较:男性 $\chi^2 = 81925, P < 0.01$ ;女性 $\chi^2 = 66210, P < 0.01$ ;男性中各年龄组ALT阳性率比较: $\chi^2 = 125, P < 0.01$ ,女性则无差异;不同性别抗-TP阳性率比较: $\chi^2 = 158, P < 0.01$ ;男性总不合格率为3.66%,女性总不合格率为1.77%;男性和女性献血者的不合格率比较: $\chi^2 = 2809, P < 0.01$

## 3 讨论

本地区2006-2015年无偿献血者血液检测不合格率为2.88%,低于相关文献报道<sup>[1-3]</sup>,且在2012-2015年不合格率稳定在2%左右。与黄爽等<sup>[3]</sup>报道一致,ALT高为检验不合格的主要原因,ALT(1.97%)>抗-TP(0.35%)>HBsAg(0.31%)>抗-HCV(0.19%)>抗-HIV(0.08%)。

本文结果表明,对于不同性别的献血者,女性血液检测不合格率低于男性,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),这点与文献报道一致<sup>[4]</sup>。但女性的抗-TP阳性率高于男性,且25-34岁女性抗-TP阳性率最高,为0.64%。为了减少血液报废,可以选择性地针对这一年龄段的女性献血者进行献血前的抗-TP快速检测。目前同时检测HBsAg和抗-TP的联合检测金标试纸条已经推出,因此我们认为,以HBsAg/抗-TP联合检测金标试纸条的方式在前端检测增加抗-TP的快速筛查,

既不会增加人力和时间成本,也有利于提高输血安全<sup>[5]</sup>。目前本站已购进HBsAg/抗-TP联合检测金标试纸条,我们也将对后续检测淘汰的变化进行跟踪。

不同年龄段献血者检验阳性率的差异有统计学意义,且55-60岁献血者的阳性率最低,为0.77%。2012年7月根据《献血者健康检查要求GB18467-2011》一些既往多次献血且身体健康无献血反应的献血者再次加入到无偿献血的队伍。李雪群等<sup>[6]</sup>回顾性分析了501人次55-60岁的献血者资料,认为他们适合继续献血。青岛市是我国第一批进入老龄化的城市,截至2015年的数据显示,人口老龄化进程明显快于人口增长速度。随着人口老龄化的出现,美国、加拿大、德国等在自1986年起的近30年间,不断修改献血年龄的上限。有的国家甚至在执业医师的许可下,不设献血年龄上限<sup>[5]</sup>。55-60岁的献血者为既往多次献血者,他们熟悉献血知识,注重自身健康与社会奉献的有机结合,由于献血动机单纯,



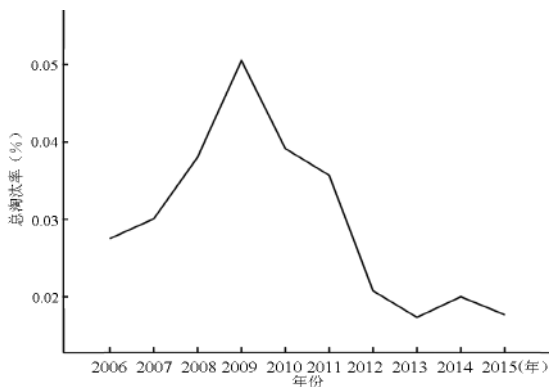
生活阅历丰富,心理承受力较好,所以献血不良反应率和不合格率明显低于其他年龄层的献血者<sup>[6]</sup>。虽然这一年龄段

的献血者不是无偿献血的主要力量,但从血液安全的角度出发可以进行定向的宣教和招募,使其成为有力的补充。

表 2 本血站不同年份献血者检测阳性统计

	献血人次(n)		性别	不合格原因						合计(%)
	男性	女性		ALT(n)	HBsAg(n)	抗-HCV(n)	抗-TP(n)	抗-HIV(n)	核酸阳性(n)	
2006 年	51 914	32 675	男	1 232	354	75	139	18	0	1 818(3.50)
			女	158	179	59	98	17	0	
2007 年	56 718	35 982	男	1 627	264	131	145	29	0	2 196(3.87)
			女	216	142	82	132	21	0	
2008 年	57 647	37 828	男	2412	215	135	221	37	0	3 020(5.24)
			女	280	90	71	153	20	0	
2009 年	62 379	38 747	男	3 755	179	109	138	110	0	4 291(6.88)
			女	442	85	92	128	75	0	
2010 年	64 187	38 912	男	2669	167	170	159	45	31	3 241(5.05)
			女	390	76	110	163	42	18	
2011 年	69 122	39 976	男	2 333	188	149	222	62	72	3 026(4.38)
			女	420	83	88	214	43	27	
2012 年	64 935	32 567	男	975	160	99	196	58	51	1 539(2.37)
			女	118	85	69	170	23	22	
2013 年	66 269	32 241	男	636	135	77	217	56	111	1 232(1.86)
			女	104	92	49	181	24	30	
2014 年	69 836	31 606	男	793	168	86	243	35	150	1 475(2.11)
			女	159	92	35	196	21	55	
2015 年	69 467	32 782	男	585	199	94	206	39	182	1 305(1.88)
			女	116	98	52	176	12	47	
合计	632 474	353 316		19 420	3 051	1 832	3 497	787	796	29 383(2.98)

注:各年份献血者复检淘汰原因构成不同:男性 $\chi^2 = 3315, P < 0.01$ ;女性 $\chi^2 = 859, P < 0.01$ ;各年份献血者复检淘汰率不同:男性 $\chi^2 = 4917, P < 0.01$ ;女性 $\chi^2 = 145, P < 0.01$



注:开展核酸后(2010年6月1日后)HIV阳性率为0.075%,而2006-2009年HIV阳性率为0.087% ( $\chi^2 = 4.35, P < 0.05$ )

图 1 本血站不同年份献血者淘汰率折线图

18-24岁献血者是无偿献血的主力军,占全部献血人次的41.4%,且不合格率较低。但从本次数据发现这一年龄段的献血者呈逐年下降的趋势,已由2006年的51.27%下降到2015年的32.25%。应创新招募策略,尽快制定针对这一年轻群体的宣传招募方法,吸引他们加入到无偿献血的行列。

25-34岁献血者检验不合格率最高,男性献血者(4.68%)明显高于女性献血者(1.95%),且男性不合格原因中ALT为首要原因(3.77%),均高于其他年龄组。开展献血前献血者ALT筛检时,应针对25-34岁男性献血者作为重点筛检对象。而同年龄女性献血者ALT异常率明显较低,可通过询问等方式选择性进行血液ALT筛查。这对于减少ALT异常导致的血液报废以及降低血液检测成本具有积极意义。

本次研究发现,开展核酸检测后献血者HIV的检出率较开展核酸检测前降低,且差异有统计学意义,但两者之间是否有相关性,还需要进一步的研究。有研究<sup>[7]</sup>认为2010年血液核酸检测的引入是我国血液筛查策略的重大改变,极大提升了血液安全性,血液核酸检测对于预防输血相关艾滋病具有重要的现实意义。本次分析发现各年龄组HIV的阳性率的差异无统计学意义,针对各年龄段的献血者都应加强艾滋知识的宣传,增强献血者的自我排查能力,消除不良献血动机,以增强血液的安全性。

参考文献

- [1] 侯建华,陈林琴.2005-2010年高邮市无偿献血者血液检测结果分析.中国输血杂志,2011,24(11):971-972.
- [2] 任锡良,杨秋艳.2010~2014年靖江市无偿献血者血液5项检测的结果分析.国际检验医学杂志,2015,36(20):3060-3061.
- [3] 黄爽,张伟东,安胜利.广州血液中心无偿献血者血液不合格原因及反馈.护理学报,2014,21(17):39-40.
- [4] 杨思佳,刘瑾红,佟雪莲,等.北京市通州区不同人群无偿献血血液检测结果分析.实用预防医学,2015,22(12):1475-1476.
- [5] 陈锦艳,黎世杰,何博,等.广州地区无偿献血者传染性标志物检测结果分析.右江民族医学院学报,2015,37(3):486-489.
- [6] 李雪群,钟展华,万晓春,等.惠州市55-60岁献血人群的结构与献血情况调查.中国输血杂志,2015,28(12):1496-1498.
- [7] 黄力勤,查祯,姚凤兰,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.

(2016-11-22 收稿,2017-06-05 修回)

本文编辑:夏玲

## 安阳市个体献血者与团体献血者感染及人群分布比较

冯娟(安阳市中心血站,河南 安阳 455000)

**摘要:目的** 分析本地区无偿献血中个体献血者与团体献血者感染及人群分布特征,为血源招募提供数据支持。**方法** 对 2015 年 66 407 人次无偿献血人群进行回顾性调查分析。**结果** 个体献血者占 92.88%,团体献血者占 7.12%;个体献血者与团体献血者比较,ALT 不合格率、女性献血者比例有统计学差异( $P<0.05$ );团体献血者平均年龄低于个体献血者 6.91 岁。**结论** 本地区团体献血者具有年龄低、学历高、女性参与率高、ALT 不合格率低等特征,是固定献血者队伍建设的重要力量,应把团体献血作为献血招募的重要发展方向。

**关键词:** 无偿献血;个体献血者;团体献血者;人群分布

**中图分类号:** R457.1 R193.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1049-02

### Comparison on the distribution of infection status in individual blood donors and group blood donors in Anyang

FENG Juan. Anyang Blood Center, Anyang 455000, China

**Abstract: Objective** To analyze the characteristics and infection statuses of individual volunteer blood donors and group blood donors in Anyang region, so as to provide evidence-based strategies for recruitment of blood donors. **Methods** A retrospective investigation and analysis were conducted on 66 407 volunteer donors in 2015. **Results** Individual blood donors were comprised of 92.88%, while group blood donors occupied 7.12%. When comparing individual and group blood donors, the ALT disqualification rate and ratio of female donors showed significant statistical difference ( $P<0.05$ ). The average age of group blood donors were younger than individual donors by 6.91 years. **Conclusion** Group blood donors in this region are characterized by young age, high education levels, high level of female participation and low disqualified ALT rate. These characteristics are integral to the construction of fixed group blood donors. Thus, group blood donation should be incorporated in the development of blood donation and recruitment strategies of blood donors.

**Key words:** voluntary blood donation; individual blood donors; group blood donors; population distribution

自 1998 年《中华人民共和国献血法》颁布以来,我国的无偿献血事业正以快速而稳健的步伐发展,基本实现了临床用血来自于无偿献血。血站多以街头采血车、固定献血屋等个体献血形式进行,这种采血形式波动性较大,在“血荒”面前缺乏主动性,难以调控。团体自愿无偿献血(以下简称“团体献血”),是指各单位(或社会团体)在充分动员宣传无偿献血的基础上,依据自愿的原则,有组织地进行预约登记的献血方式<sup>[1]</sup>,可以作为无偿献血关键、有力的补充。为促进无偿献血宣传和血源招募,我们对本地区 2015 年全年的无偿献血者进行了调查,对个体献血者与团体献血者感染及人群分布进行了比较分析,现报告如下。

## 1 材料与方

**1.1 调查对象** 本地区 2015 年全年的无偿献血者,共计 66 407 人次。按照血源招募、采集方式分为个体献血者与团体献血者,其中个体献血者 61 678 人次,团体献血者 4 729 人次。

**1.2 方法** 回顾性统计分析本地区个体献血者与团体献血者感染状况及人群分布特征,并进行比较分析。

**1.3 统计学方法** 应用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,不合格率、献血人群比例比较用 $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学

意义。

## 2 结果(表 1)

表 1 血液不合格率比较 (%)

	HBsAg	抗-HCV	抗-HIV	抗-TP	ALT*	其他	总不合格率
团体献血	0.89	0.25	0.19	0.30	1.04	0.13	2.79
个体献血	0.71	0.23	0.23	0.27	1.41	0.09	2.94

\*  $\chi^2 = 4.58, P < 0.05$

表 2 个体献血者与团体献血者献血次数比较 (n, %)

	初次献血者	重复献血者	固定献血者	合计
团体献血	3 135(66.29)	542(11.46)	1 052(22.25)	4 729
个体献血	15 327(24.85)	7 950(12.89)	38 401(62.26)	61 678
合计	18 462(27.80)	8 492(12.79)	39 453(59.41)	66 407

## 3 讨论

本次调查发现,本地区无偿献血形式个人高于团体,团体献血比例低于新乡地区<sup>[2]</sup>和乌鲁木齐市<sup>[3]</sup>。团体献血者与个体献血者 ALT 不合格率存在差异,分析为团体献血人群献血前注意事项告知工作较为完善,避免了因过度饮酒、熬夜、药物、剧烈运动等因素对 ALT 升高的影响<sup>[4]</sup>,减少了因 ALT 非特异性升高造成的血液报废。团体与个体献血者女性献血比例差异较大。传统观念中,女性由于受生理期、怀孕、哺乳等特殊时期以及胆怯心理等诸多影响因素下,献血比例低于男性<sup>[5,6]</sup>。团体献血中,女性献血者的比例显著增

加,该形式激发了女性参与无偿献血的热情。团体献血者平均年龄低于个体献血者 6.91 岁,团体献血人群以 18.35 岁,大专以上学历,学生、工人等职业为主,该人群有可能成为献血队伍的主力军。团体与个体献血者献血次数比较发现,近 70% 的初次献血者通过团体献血形式参与献血,说明团体献血在开辟新血源方面存在无法比拟的优势,为持续性发展开辟了道路。同时超过 60% 的个体献血者成为固定献血者,验证了安阳地区固定献血者队伍建设良好<sup>[8]</sup>。团体献血具有固定性、可控制性、保障性等优点,在一些紧急突发事件中,常常发挥应急作用<sup>[7]</sup>,在保障临床供血上发挥了重要的作用。团体献血也是献血知识广泛宣传的平台、载体,是固定献血者队伍建设的重要力量,同时也是血液安全保障长效机制的重要组成部分<sup>[9]</sup>。团体献血和个体献血是无偿献血的 2 个重要来源,本地区团体献血比例偏低,说明团体献血招募仍有较大发展空间,应作为血源招募的方向和重点。

表 3 个体献血者与团体献血者人群分布比较 (n,%)

	类别	团体献血	个体献血
性别	男	2 821(59.65)	44 477(72.11)
	女	1 908(40.35)	17 201(27.89)
年龄(岁)	18-	1 797(38.00)	4 839(7.85)
	26-	934(19.75)	14 176(22.98)
	36-	1 166(24.66)	23 370(37.89)
	46-	810(17.13)	17 933(29.08)
	56-60	22(0.46)	1 360(2.20)
	职业	工人	1 237(26.16)
	农民	312(6.60)	18 892(30.63)
	学生	1 609(34.02)	1 964(3.18)
	军人	23(0.49)	171(0.28)
	公务员	139(2.94)	1 031(1.67)
	教师	43(0.91)	751(1.22)
	医务人员	187(3.95)	777(1.26)
	职员	704(14.89)	4 130(6.69)
	自由职业	475(10.04)	24 681(40.02)
学历	大专以上	2 620(55.40)	9 371(15.19)
	高中/中专	898(18.99)	16 239(26.33)
	初中以下	1 211(25.61)	36 068(58.48)

注:个体与团体献血者女性献血比例比较, $\chi^2 = 332.63, P < 0.05$ ;个体献血者平均年龄为 40.00 岁,团体献血者平均年龄为 33.10 岁;个体献血者以自由职业、农民为主,团体献血者以学生、工人为主;个体献血者以初中以下学历为主,团体献血者以大专以上学历为主

应深入到学校、企业、乡镇等采血现场,配合当地负责人,做好前期宣传工作。将献血活动与企业文化或当地风俗相结合,以团体献血人群为中心向周边人群扩散,影响更多的人知晓并参与。充分发挥无偿献血志愿服务队作用,“现身说法”宣传无偿献血,赢得更多的公民加入到无偿献血队

伍。建立微信公众平台,集预约、查询、宣传、报销等多功能服务为一体,方便与献血者更直接的交流与沟通。扎实做好全国无偿献血表彰奖项的登记、申报、发放等工作,给予献血者较高规格的表彰和鼓励。根据地方献血人群特征,不断完善献血激励政策。省内无偿献血用血报偿程序联网,基本实现异地报销,应继续扩大联网范围。报销审核程序减免繁杂手续,缩短返还时间,方便献血者。这也将激励献血者再次献血,并可能成为固定献血者的原因之一。

此外,我国的献血激励政策尚有较大的提升空间,采血机制、献血激励政策的改善刻不容缓。精神奖励需要社会大环境的整体认可,奖励政策不够完善,预期效用较低<sup>[10]</sup>。无偿献血宣传不够深入,社会、地方参与较少,应促使社会行为保持高的参与状态。社会媒体应及时修正大众的认识偏差,正确引导,树立良好的献血用血观念。依托社会资源,扩宽团体招募的范围,加大团体招募的力度,动员更多民众参与献血,不断开辟血液供给渠道,保障安全和充足的血液供应满足临床用血需求。

## 参 考 文 献

- [1] 余成普.单位团体献血运作的过程与机制,以北京市 T 大学为个案.社会,2010,30(2):116-143.
- [2] 岳献荣,孟毓,聂军,等.2013 年新乡地区无偿献血者分布情况分析.中国卫生标准管理,2015,6(9):1-2.
- [3] 冯燕玲,万建华,周吉霞,等.新疆乌鲁木齐市团体无偿献血者献血行为的干预研究.新疆医科大学学报,2013,36(8):1190-1197.
- [4] 冯娟.无偿献血人群 ALT 不合格因素调查.临床输血与检验,2016,18(2):110-113.
- [5] 吴君胜,尹萍.合肥市无偿献血人群分布特征的调查.中国输血杂志,2012,25(10):965-966.
- [6] 王佩捷,杨光远,汤莉莉.台州市无偿献血人群的特征分析.浙江预防医学,2013,25(6):50-51.
- [7] 曹维娟,李少博,王明元.一起重大爆炸事故后应急献血人群分析.上海预防医学,2015,27(12):797-798.
- [8] 冯娟.安阳地区无偿献血人群 HIV 输血风险评估.中国输血杂志,2016,29(2):171-173.
- [9] 李华林.对解决无偿献血持续发展瓶颈的思考.中国输血杂志,2014,27(Z1):152-153.
- [10] 姜安琪,沈倩,施文杰,等.行为经济学应用于献血激励政策的分析.安徽卫生职业技术学院学报,2013,12(2):7-9.

(2016-04-07 收稿,2017-03-16 修回)

本文编辑:夏玲

## 医学生无偿献血现状及影响因素调查分析\*

郑亚楠<sup>1,2</sup> 龚茜<sup>1,2</sup> 刘民<sup>2</sup>

(赣南医学院 1.心理学系;2.农村医学教育研究中心,江西 赣州 341000)

**摘要:目的** 为了解医学生无偿献血情况及影响因素,为有针对性地干预医学生献血行为,制订招募策略提供依据。**方法** 于 2016 年 10 月通过自编问卷对赣南医学院 1 020 名医学生进行问卷调查,问卷内容涉及医学生对无偿献血的态度及促进和阻碍无偿献血的原因等,共发放问卷 1 020 份,实收有效问卷 971 份。**结果** 医学生献血率为 22.45%,男、女生献血率差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),不同生源地医学生献血率差异不具有统计学意义。医学生无偿献血的促进和阻碍因素为自身职业伦理意识、帮助他人等精神层面追求,或担心感染、身体不适等对自身的负面影响,以及优先用血等个人利益。影响医学生无偿献血行为的因素为:帮助他人、精神追求、在献血过程中完成相关检查、担心献血影响健康、学校缺乏宣传及缺乏无偿献血观念( $P$  均  $< 0.05$ )。**结论** 医学生无偿献血受多方面因素影响,医学院校应针对影响因素采取有效措施,提高医学生无偿献血意识。

**关键词:** 医学生;无偿献血;影响因素

**中图分类号:** R193.3 R457.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1051-03

**Investigation and analysis of current situation and influencing factors on non-remunerated blood donation in medical students** ZHENG Yanan, GONG Xi, LIU Min. Department of Psychology, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China

**Abstract: Objective** To understand current situation and influencing factors towards non-remunerated blood donation of medical students, and to provide pertinent reference for behavior intervention in medical students and development of recruitment strategies. **Methods** In October 2016, a total of 1 020 medical students in Gannan medical university were surveyed with self-compiled questionnaires on the attitude, and their reasons for promoting or hindering non-remunerated blood donation. 1 020 questionnaires were issued and 971 were collected, among which all questionnaires were valid. **Results** In this sample, 22.45% medical students had blood donation experience, and there were significant difference between different gender ( $P < 0.05$ ) and not significant from freshmen who came from rural or urban regions. The positive and negative factors of non-remunerated blood donation for medical students were spiritual pursuits, such as professional ethics consciousness, help others, personal interests about preferential blood transfusion, etc; the negative effects on the body included fear of infection, malaise. The factors of non-remunerated blood donation in medical students were as followed: help others ( $P < 0.05$ ), spiritual pursuit ( $P < 0.05$ ), complete inspection during non-remunerated blood donation ( $P < 0.05$ ), worrying about the health status after blood donation ( $P < 0.05$ ), lack of publicity on campus ( $P < 0.05$ ) and lack of awareness on voluntary blood donation ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Non-remunerated blood donation in medical students is related to multiple factors and specific measures should be taken for related factors to improve the awareness on voluntary blood donation in medical students in medical university.

**Key words:** medical students; non-remunerated blood donation; influencing factors

医务人员和大学生是无偿献血的主力军<sup>[1-2]</sup>。因文化观念、献血影响健康的错误认知,及“无偿献血、有偿用血”等负面新闻报道<sup>[3]</sup>,目前我国以无偿献血招募式方式的街头献血比例逐渐下降,而互助献血方式逐年上升<sup>[4]</sup>。医学生是未来医疗卫生事业的后备人才,他们在校期间对无偿献血的认识能够直接影响社会各界对无偿献血的态度。为了解医学生对无偿献血的态度、认识及影响因素,以期有针对性地开展无偿献血的宣传策略,并为相应的人文医学教育、医学生

职业价值观培养等教学改革提供参考,本研究于 2016 年 10 月对本校部分医学生开展问卷调查,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 于 2016 年 10 月采用方便取样,选取本校 1 020 名临床医学、预防医学、麻醉学等专业大二学生进行问卷调查,纳入标准:①完成或正在完成临床医学导论、生理学、人体解剖学等课程的学习,对献血的意义及献血对自身健康的影响有一定了解,了解我国目前存在“血荒现象”和医务人员职业道德;②自愿参与;排除标准:①在一般资料调查表中表示不符合献血标准的医学生;②在一般资料调查表中表示患有乙肝等不适宜献血的疾病的医学生;③在一般资料调查

表中表示自己或直系亲属曾因疾病需要大量献血的医学生。

**1.2 调查方法** 参考相关文献<sup>[3,5-8]</sup>,并结合针对医学生、医务人员及血站工作人员对无偿献血态度,及影响因素的半结构个别访谈编制调查问卷,在小范围内施测后,根据调查结果及有关专家评判后修正、形成正式调查问卷。调查内容包括:①一般资料,包括调查对象性别、年龄、专业、生源地、是否患有不适宜献血的疾病、体重是否符合献血标准、自己或直系亲属是否曾需要大量献血等;②献血态度;③促进医学生无偿献血的原因;④阻碍医学生无偿献血的原因。对于自愿参与的调查对象进一步完成个别访谈。

**1.3 质量控制** 在取得调查对象同意后,由经过培训的研究组成员担任主试,于班级活动、课间等适宜时间发放调查问卷,要求匿名记名,独立完成,当场回收,问卷作答时间为 10 min。在调查前向调查对象解释调查目的、意义,消除调查对象的顾虑,以保证调查结果真实、可靠。

**1.4 统计方法** 采用 Spss17.0 对取得数据进行统计分析。对问卷题目回答情况进行频率和百分比描述性统计,采用卡方检验分析各组差异;采用 Logistic 回归分析考察各因素对医学生未来 3 年无偿献血意愿的影响。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 样本的基本特征** 本研究共发放问卷 1 020 份,回收有效问卷 971 份,回收有效率为 95.20%。调查对象年龄范围 17-22 岁,平均年龄(19.44±0.87)岁。其中,男生 492 名,女生 479 名;城镇生源地医学生 383 名,农村生源地医学生 588 名。

**2.2 医学生对无偿献血的基本情况和态度** 在 971 名接受调查的医学生中,218 名(22.45%)调查对象入大学以来参与无偿献血,其中,男生 128 名,女生 90 名,不同性别医学生无偿献血情况差异具有统计学意义( $\chi^2 = 7.281, P < 0.05$ );城镇生源地医学生 81 名,农村生源地医学生 137 名,差异不具有统计学意义( $\chi^2 = 0.616, P > 0.05$ )。具体无偿献血次数方面,172 名调查对象入大学以来无偿献血 1 次,25 名 2 次,12 名 3 次,9 名 4 次及以上。598 名(61.59%)调查对象表示未来 3 年内有无无偿献血的打算。

**2.3 医学生无偿献血的影响因素** 见表 1。

**2.4 医学生无偿献血行为的影响因素多元线性回归分析** 以医学生未来 3 年有无无偿献血意愿为因变量(1=有,0=无),以是否赞同(1=是,0=否)10 个可能促进无偿献血行为和 11 个可能阻碍无偿献血行为的因素为预测变量,具体题目见表 1,以向前 Wald 法进行多因素 logistic 逐步回归分析,结果显示,共有 6 个因素影响医学生无偿献血意愿,详见表 2。

**3 讨论**

本次调查结果显示,约 20%的医学生入大学以来有无偿献血行为,低于公司职员、军人<sup>[9-10]</sup>,与其他大学生及医学生无偿献血行为调查结果差异很大<sup>[11-14]</sup>。其原因可能除地域、年级、文化背景、部分职业存在强制无偿献血的现象等方

面的差异外,可能还与调查对象医学背景有关。医学生因专业特点,虽然相对于一般大学生更了解“血荒”现象、无偿献血的重要意义及献血对健康的影响,能够更为客观地看待无偿献血,但对于教学过程中对因献血导致的传染病、无偿献血后血站的不当处理、“用血难”等少数却较为典型的案例更容易形成刻板印象,从本次调查结果显示,医学生无偿献血意愿远高于无偿献血行为也能够佐证这一观点。因社会长期对献血的误解、少数血站不良案例及输血费用高昂等因素的影响,医学生中大量的潜在献血者不能够转化为现实的献血者,部分自愿参与个别访谈的医学生甚至多次提到因无偿献血而感染乙肝或艾滋病等疾病的案例,这提示我们,绝不能因为医学生因受系统的医学教育而忽视其对无偿献血的误解,未来医学院校应有针对性地开展无偿献血相关的校园文化宣传活动,如征文、演讲、优秀无偿献血者事迹宣传等,通过校园文化的宣传,消除不切实际的宣传误区,逐步提高医学生无偿献血意愿和行为。

**表 1 971 名医学生无偿献血影响因素**

	项目	n(%)
促进因素	1.医学生职业素养与伦理要求	788(81.15)
	2.血源紧张的宣传使自己震撼	672(69.21)
	3.帮助需要的患者,实现自我价值	877(90.32)
	4.自己身为校干,班干需要具有模范带头作用	362(37.28)
	5.学校评先评优、入党等硬性要求	171(17.61)
	6.无偿献血能够获得自己喜欢的纪念品	273(28.12)
	7.献血光荣,自己更看重精神追求	794(81.77)
	8.周围同学、室友的榜样作用	557(57.36)
	9.趁献血完成体检、验血等检查	510(52.52)
	10.未来有机会优先用血	826(85.01)
阻碍因素	1.身体虚弱	850(87.54)
	2.血站、医院会高价卖出自己原本无偿献血出的血液而生气	620(63.85)
	3.担心献血影响身体健康	281(28.94)
	4.各类血站负面影响(如果血站用血液浇花)	634(65.29)
	5.担心因献血时器械问题感染传染疾病	805(82.90)
	6.献血点工作人员缺乏服务意识	628(64.68)
	7.学校缺乏相应的宣传	450(46.34)
	8.周围同学、室友没有人献血	331(34.01)
	9.学校缺乏对无偿献血的激励机制(如可优先评奖学金)	384(39.55)
	10.自己缺乏这方面意识,从来没有想过献血	259(26.67)
	11.自己学校的医生、教师也很少无偿献血,没有榜样作用	339(34.91)

**表 2 971 名医学生未来无偿献血意愿与影响因素的多元线性回归分析**

	$\beta$	Sx	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR 值	95% CI
促进 3	1.133	0.271	17.427	<0.001	3.105	1.824-5.826
促进 7	0.715	0.194	13.554	<0.001	2.045	1.397-2.992
促进 9	0.328	0.145	5.093	0.024	1.388	1.044-1.844
阻碍 3	-0.742	0.158	22.155	<0.001	0.476	0.350-0.649
阻碍 7	-0.368	0.147	6.262	0.012	0.692	0.519-0.923
阻碍 10	-0.810	0.161	25.224	<0.001	0.445	0.324-0.610
常数	-0.650	0.293	4.923	0.026	0.522	

本研究发现,男医学生无偿献血率高于女医学生,与部分研究结论相似<sup>[1]</sup>,其原因可能在于女生因性格特点、思考方式及生理周期等多方面因素的影响,在无偿献血对自身的影响思考方面更多,这也提示未来医学院校开展无偿献血宣

传应有性别的针对性。但本研究未发现不同生源地医学生无偿献血率的差异具有统计学意义,与预想“城镇生源地医学生因环境中无偿献血公益宣传更多,其无偿献血率应高于农村生源地医学生”不同,其原因可能在于相对于社会对无偿献血的公益宣传,社会各界更为关注的献血对健康的不良影响及血站负面事件的“妖魔化”对无偿献血的行为影响更为明显,这也进一步提示我们,除“献血光荣”、“一人献血,全家受益”等公益宣传外,社会各界也应考虑关于无偿献血相关知识介绍、血液保存运营成本的公开、定期向无偿献血者通报所献血液的去向,并组织各类市民参观血站,达到宣传无偿献血知识,改善社会对无偿献血的错误认识。

转变全社会无偿献血的理念、在社会完全树立“献血光荣”的观念仍需要较长的时间和不断的宣传。因此,培养在校医学生和医疗人员逐步树立无偿献血的理念是目前缓解“血荒”较为适宜的途径。本次调查结果显示,医学生赞同的无偿献血促进和阻碍的因素较为复杂,相对于班干、入党或评优评先等激励政策、硬性指标,医学生更为看重自身职业伦理意识、帮助他人等精神层面追求,或担心感染、身体不适等对自身的负面影响,以及优先用血等个人利益。这提示我们,未来医学生无偿献血相关宣传除进一步强化已有的用血政策宣传外,还应侧重于职业伦理道德、我国“血荒”的现况,并开展相应的人文医学与职业伦理意识教育,激发医学生乐于助人的职业价值观。

多因素 Logistic 分析结果表明,医学生未来无偿献血意愿受帮助他人、精神追求、在献血过程中完成验血等检查、担心献血影响健康、学校缺乏宣传及缺乏无偿献血观念等因素影响。相对于无偿献血观念的树立、医学生人文精神的培养等需要长期宣传、教育外,医学院校的无偿献血点可以提供具有医学专业特色的纪念品,如医学考研与专业书籍、医学模型等,增加相关的检查项目,以更好的吸引医学生参与无偿献血,同时提高无偿献血点工作人员服务热情、耐心解答献血与健康相关问题、定期举办师生无偿献血相关校园活

动,并通过微信、微博等新媒体宣传、普及无偿献血相关知识和意义,以促进无偿献血的事业的发展。

### 参 考 文 献

- [1] 宋春明,颜峰,王岩,等.高校学生无偿献血动机分析及招募策略.中国输血杂志,2016,29(3):300-302.
- [2] 王钰,范超,郑锴,等.吉林市无偿献血现状调查研究.吉林医药学院学报,2016,27(3):200-202.
- [3] 王梦圆,李忠,季佳,等.江苏6市无偿献血适龄人群献血认知及态度调查研究.中国输血杂志,2016,29(3):297-300.
- [4] 张艳晓.宁德市2013-2015年人群无偿献血状况分析.中国卫生标准,2016,7(17):173-175.
- [5] 卢智勇,江雪娟.对献血者满意度2种调查方式的评价.中国输血杂志,2016,29(2):197-198.
- [6] 林振平,崔康康,胡文静,等.中外探讨无偿献血意愿影响因素的比较.医学与哲学,2015,36(10A):52-55.
- [7] 陈义柱,何勇.潮州市居民无偿献血知、信、行调查分析.临床血液学杂志(输血与检验),2015,28(6):1069-1071.
- [8] 陶伟华.无偿献血若干社会问题的辨析.医学与哲学,2015,36(10A):50-51,88.
- [9] 刘晓丽,李美霖,麻静敏,等.北京地区公司职员无偿献血认知状况调查研究.中国临床研究,2016,4:575-577.
- [10] 张文学,李美霖,李天君,等.北京地区现役军人无偿献血认知状况调查.临床输血与检验,2016,18(3):265-268.
- [11] 孙雪莲.长春市某高校在校大学生无偿献血情况调查.中国校医,2015,29(3):171-173.
- [12] 陈玉萍,沈子琳,陈悦,等.南京市大学生无偿献血现状及宣传干预手段调查研究.中国输血杂志,2016,29(5):515-517.
- [13] 孙向东,周雁,陈静.吉林农业大学在校学生无偿献血情况调查.中国农村卫生事业管理,2015,25(12):1532-1533.
- [14] 曾毅,卢涛,淳洁,等.高校学生无偿献血数据分析及影响因素调查.中国输血杂志,2015,28(5):574-576.

(2016-11-08 收稿,2017-06-02 修回)

本文编辑:夏玲

## 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、下载相关讯息。

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。

## · 论著 ·

## 关于固定献血者比例概念的应用和思考

张燕 常纓 赵凤绵 李文策 崔玉兰 张颖萍(河北省血液中心,河北 石家庄 050071)

**摘要:**目的 通过对河北省血液中心近年来固定献血人群及采血量变化进行分析,探讨固定献血者比例概念的应用效果和实际意义,为发展固定献血者队伍,提高采血效能提供参考。**方法** 对 2012-2016 年河北省血液中心固定献血者人数、献血人次和献血量进行公式定义并提取数据,与对应年份献血总人数、总人次和总血量做比例测算,将有关数据做统计学分析, $P < 0.05$  为有统计学差异。**结果** 近年来,河北省血液中心采血量逐年增长,固定献血者人数比例、人次比例和血量比例均呈上升趋势,但增幅各不相同,与总量增幅呈负相关性。**结论** 单纯以固定献血者人数比例为指标不能准确评价血液有效采集能力,以固定献血者献血量比例作为考量献血者保留效果和当地血液满足程度,具有一定的指导意义。

**关键词:**固定献血者比例;献血者保留;献血者队伍

**中图分类号:**R193.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2017)9-1054-03

**Applications and considerations about the proportion concept of fixed blood donors** ZHANG Yan, CHANG Ying, ZHAO Fengmian, LI Wence, CUI Yulan, ZHANG Yingping. Blood Center of Hebei Province, Shijiazhuang 050071, China

**Abstract Objective** Analysis on fixed number of blood donors and changing volume of blood collection from Blood Center of Hebei Province in recent four years will help to explore the application effect and practical significance concept of blood donors proportion, and offer reference for developing donors team and enhancing the efficiency of blood collecting. **Methods** Extracting data from the formula definition of blood donation volume, number and person-time of donors during 2012 to 2016 to compare with the aggregation of each year to measure and calculate in proportion. In accordance with statistics,  $P < 0.05$  shows a statistically significant difference. **Results** The blood collection volume was increasing every year, and the proportion of fixed donors, person-time and blood volume had been general uptrends with different levels, which were inversely associated with the total growth. **Conclusion** The proportion of donors is inadequate to evaluate the capability of sufficient blood collecting. Instead, regarding the proportion of fixed donors number as a consideration to analyze the reservation utility and satisfaction degree of local demand would have more guiding significances.

**Key words:** proportion of fixed blood donors number; reservation utility of blood donors; blood donors team

固定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 年之内再次献血的无偿献血者<sup>[1]</sup>,通常作为评价 1 个地区献血者队伍建设的稳定程度及血液保障能力的重要指标。《全国无偿献血表彰奖励办法(2014 年修订)》将当地献血人群中固定献血者比例达到 50% 以上,作为获得无偿献血先进省(市)奖的重要条件之一<sup>[2]</sup>。基于对固定献血者人群规模或由其血液满足程度的实际考量,国内采供血机构对固定献血者比例有不同的理解和应用,有的是按固定献血者人数比例(以下简称人数比例)计算,有的是按固定献血者人次比例(简称人次比例)计算,还有的按固定献血者血量的比例(简称血量比例)计算。3 个比例定义不同,得出的比例值也截然不同。究竟哪个指标最能体现固定献血人群对当地血液保障的实际作用,我们统计并分析了河北省血液中心 2012-2016 年人数比例、人次比例和血量比例,探讨了最能够反映血液保障能力的固定献血者比例概念,报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 一般资料** 献血人数、献血人次、总献血量以及固定献血者相关数据等,来源于 2012 年 1 月 1 日-2016 年 12 月 31 日期间,河北省血液中心计算机现代血站管理信息系统。

**1.2 方法** 中心管理信息系统中以自然年为时段,以当年及以前的个人所有献血信息为追溯统计源,分别设定如下:固定献血者:参照《献血者健康检查标准(GB18467-2011)》<sup>[1]</sup>定义;重复献血者:累计达到或超过两次献血经历但不符合固定献血者定义的献血者;初次献血者:累计只有 1 次献血经历的献血者。在管理信息系统中明确相关定义和数据提取公式。1) 人数比例 = 每年固定献血者人数 ÷ 全年无偿献血者总人数 × 100%。2) 人次比例 = 每年度固定献血者人次 ÷ 全年无偿献血者总人次 × 100%。3) 血量比例 = 每年度固定献血者血量 ÷ 全年无偿献血者总血量 × 100%。

**1.3 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 软件对观察数据进行分析。对 2012-2016 年 3 个比值以平均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,3 个比值之间做配对样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 2012-2016 年固定献血者人数、固定献血者人次和固定

表 1 2012-2016 年固定献血者人数、人次和血量情况

	固定献血者 人数	献血者总人数 (%)	固定献血者 人次	献血者总人次 (%)	固定献血者 血量(U)	献血者 总血量(U)	比例(%)
2012 年	39 857	134 044(29.73)	57 989	156 871(36.97)	108 219.75	288 108.5	37.56
2013 年	44 378	142 904(31.05)	64 514	167 475(38.52)	120 897.25	312 057.5	38.74
2014 年	49 128	140 831(34.88)	72 692	169 830(42.80)	139 381.25	322 768	43.18
2015 年	50 839	140 074(36.29)	83 428	172 515(48.36)	158 707.25	324 122	48.97
2016 年	61 635	149 820(41.14)	90 604	183 133(49.47)	171 952.25	338 505.4	50.80

2.2 2012-2016 年 3 个比值统计情况 各比值之间有显著性统计学差异(表 2)。

表 2 2012-2016 年人数、人次、血量比较情况

	人数对人次	人数对血量	人次对血量
$\bar{x} \pm s$	37.76±6.23	37.57±6.24	41.04±5.45

注: *t* 值分别为 19.17、19.04、23.79, 均为 *P*<0.05

2.3 2012-2016 年固定献血者献血频次与总献血频次比较 历年固定献血者频次大于总献血者频次(表 3)。

表 3 2012-2016 年固定献血者献血频次对比

	献血者 总人数	献血者 总人次	频次	固定献血 者人数	固定献血 者人次	频次
2012 年	134 044	156 871	1.17	39 857	57 989	1.45
2013 年	142 904	167 475	1.17	44 378	64 514	1.45
2014 年	140 831	169 830	1.21	49 128	72 692	1.48
2015 年	140 074	172 515	1.23	50 839	83 428	1.64
2016 年	149 820	183 133	1.22	61 635	90 604	1.47

2.4 2012-2016 年全血采集量和机采治疗量变化情况 两者采集量均呈现逐年增加趋势(图 1)。

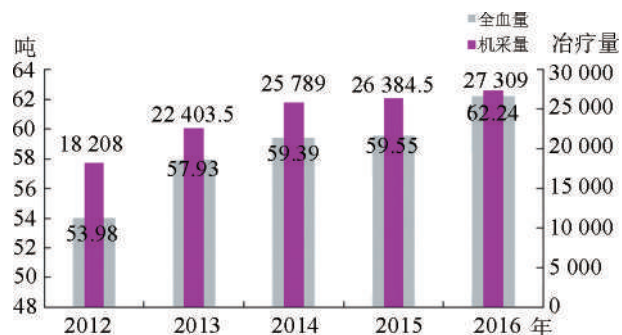


图 1 2012-2016 年采血量变化

2.5 2012-2016 年全血采集增幅率 2012-2016 年增幅率逐年下降, 2016 年开始出现回升(图 2)。

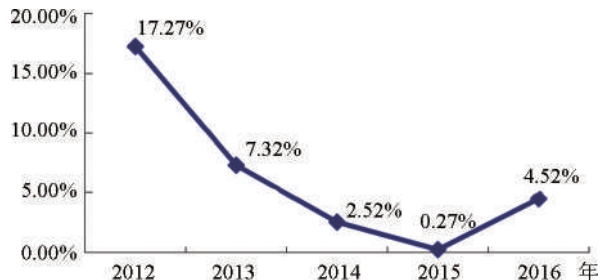


图 2 2012-2016 年采血增幅率变化(全血)

2.6 2012-2016 年机采增幅率 2012-2015 年增幅率逐年下降, 2016 年开始出现缓慢回升(图 3)。

献血者血量情况 固定献血者人数、人次和血量以及所对应的比例逐年增加, 但占比不同(表 1)。

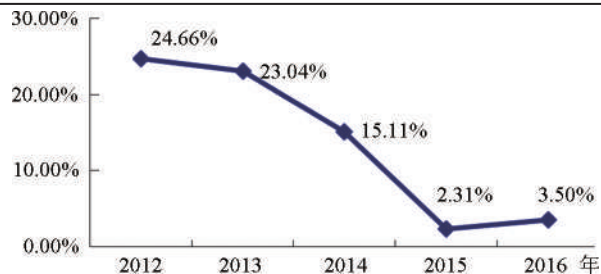


图 3 2012-2016 年采血增幅(机采)

2.7 2012-2016 年初次、重复、固定献血者发展趋势 其中初次献血者数量最多但呈下降趋势, 重复献血者最少并呈平稳水平, 固定献血者数量居中但呈上升趋势(图 4)。

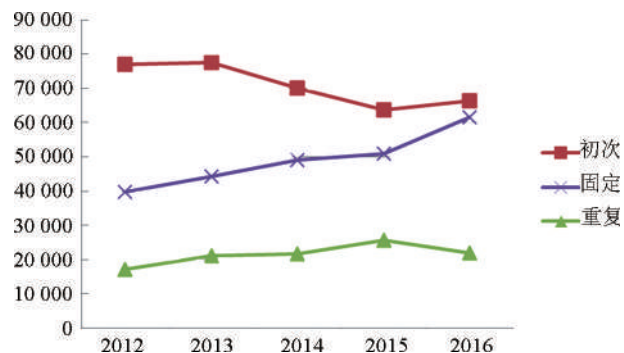


图 4 2012-2016 年初次、重复、固定献血者发展趋势

## 3 讨论

图 1、2 显示, 我中心献血量逐年增高, 自 2012 年起已经实现了采供平衡, 基本满足了临床用血, 献血量增幅在 2012 年达到最高(17.2%), 之后呈逐年下降趋势(图 3)。结合表 1 数据, 每年固定献血者的人数、人次、献血量均有增长, 但比例增幅并不均衡, 同一年的人数比例、人次比例和血量比例相比, 献血量比例最大, 由小到大的顺序是: 人数比例<人次比例<献血量比例。其中, 固定献血者人数增长缓慢, 在采血增幅高的 2012-2013 年, 比例相对较低(29.73%、31.05%), 2015-2016 年只上升到 40% 左右, 而同期固定献血者人次和献血量占比已超过 38%, 近两年已接近或达到总量的 50%。其主要原因在于: 面对增长迅速的血液需求, 由于受到采血间隔的影响, 固定献血者献血次数受限, 必须开发更多的初次献血者作为基数补充, 导致固定献血者总占比会相对下降。因此, 从总体趋势看, 采血需求增幅越大, 初次献血者占比越大, 相对固定献血者占比越小, 反之亦然, 基本呈现负相关性(图 4)。

表 2 的统计学分析则显示, 人数/人次、人数/献血量、人



次/献血量之间均具有明显的统计学差异,提示固定献血者人数比例、人次比例和献血量比例三个概念不同,所反映意义也不同,结合表 1 说明,单纯以人数比例不能有效体现总体满足程度,而人次和献血量占比则能有效体现血源的利用效果。

表 3 提示各年内固定献血者的献血频次明显高于平均频次,进一步体现出固定献血人群能够保持定期献血的习惯,为维持足够的献血量提供了支持。

发展固定献血者就是要通过加强鼓励引导、完善献血服务措施等保留手段,维持献血者良好的过程感受,进而鼓励其在符合献血间隔的条件下,定期参加献血,同时推动每次献血量由 200 mL 向 400 mL 转变。目的就是有效增加目标人群的献血频次,提升采血效能。近年来,我中心在实现血液采供平衡的基础上,通过增设献血网点、改善献血环境、建立 966016 专职服务热线平台、对献血者 100% 回访、推行血费异地报销和出院即报等亲民、惠民服务措施,不断增强献血者的信任感和粘附性,使献血人群由初次献血向固定献血转变(图 4),献血者队伍更趋于稳定,在献血量逐年增长的情况下,有效保障了临床血液需求。

发展并不断壮大固定献血者人群数量,建立稳定的献血者队伍,是满足日常临床血液供应和有效应对各类突发事件下医疗救治血液需求的根本保证。对采供血机构而言,对于固定献血者血源开发的评价,人群基数固然重要,但效能指标更应当关注其献血频次和有效献血量,即固定献血者献血人次和献血量在总体人群和总献血量中的比例变化,一方面

能够考量目标人群对血液保障的支撑效果,另一方面可以评价献血者挽留和献血服务措施改进的有效性,而其中固定献血者的献血量比例最能直接体现固定献血者队伍的实际作用。所以,在具体工作实践中,以固定献血者献血量比例作为评价一个地区采血保障能力的测量指标,更具有实际指导意义。作为卫生行政主管部门,固定献血者比例是评选全国无偿献血先进省(市)奖项的一项重要指标,在既往申报审核过程中,多地均出现过申报材料与全国采供血信息上报系统数据差异较大的现象,一方面体现出各地对该指标决定性作用的重视,另一方面也体现出为获奖项而刻意修饰数据的心态。因此,为了真正体现固定献血者比例在推动无偿献血工作方面的作用,建议卫生主管部门利用全国采供血信息上报系统,对各地既往固定献血者比例数据进行回溯性分析,必要时,可以增加上报每月固定献血人群献血量,以期得到更加客观真实的数据,为进一步完善《全国无偿献血表彰奖励办法》提供信息支持。

#### 参 考 文 献

- [1] GB18467-2011,献血者健康检查标准.中华人民共和国国家标准.2011.
- [2] 国卫医发〔2014〕30 号.全国无偿献血表彰奖励办法(2014 年修订)

(2017-03-14 收稿,07-20 修回)

本文编辑:李宜蔓

## 《中国输血杂志》编辑部邮售书(刊)目

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

## 血液成分质量控制关键指标的趋势分析

石洁 贾璐 段志倩 董瑞萍 郑建勇(南京红十字血液中心,江苏 南京 210003)

**摘要:目的** 采用趋势分析方法对血液成分质量进行评价。**方法** 收集整理 2015 年质量抽检频次规则为每月 1 次的 7 种血液成分质量控制数据,选取关键指标,采取制作折线图的方式,并设置警戒限和行动限,进行连续性趋势分析。**结果** 造成 7 种血液成分抽检结果未能 100%符合《全血及成分血质量要求》的关键指标有容量、Hb、Hct、血小板含量、pH、Ⅷ因子活性、纤维蛋白原含量、亚甲蓝残留量、血浆蛋白含量。除新鲜冰冻血浆、冷沉淀凝血因子符合率未达到每月 75%抽检结果落在质量控制范围内的要求,其余血液成分的采集和制备过程均受控。**结论** 根据趋势分析图进行连续性趋势分析的方法适用于血液成分质控项目,为血液制品稳定性评价提供了借鉴。

**关键词:**成分质量控制;关键指标;趋势分析

**中图分类号:**R457.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1004-549X(2017)9-1057-03

**Trend analysis of the key indexes for blood component quality control** SHI Jie, JIA Lu, DUAN Zhiqian, DONG Ruiping, ZHENG Jianyong. Department of Quality Management, Nanjing Red Cross Blood Center, Nanjing 210003, China

**Abstract: Objective** To evaluate the quality of blood components by trend analysis. **Methods** The quality control data of seven kinds of blood components, which were tested every month, were collected. The key indexes were selected to make the line charts. The warning limits and action limits were set up to analyze the continuous trend. **Results** There were several key indexes which could not 100% meet the "Quality requirements for whole blood and component blood," including capacity, Hb, Hct, platelet content, pH, factor VIII activity, fibrinogen content, methylene blue residue, plasma protein content. The qualification rate of fresh frozen plasma or cold precipitation coagulation factor compliance failed to meet the requirements, which were at least 75% under control per month. The collection and preparation processes of the rest products were under control. **Conclusion** The method of continuous trend analysis based on trend analysis chart is suitable for blood component quality control project. It provides reference for the evaluation of stability of blood products.

**Key words:** component quality control; key index; trend analysis

血站质量管理体系要求建立和实施血液质量控制程序,以确保血液质量符合预期要求,2015 年新版《血站技术操作规程》<sup>[1]</sup>的出台更明确了血液质量控制检查项目,并在其中再次引入趋势分析内容,要求血站应当对血液质量控制抽检结果进行趋势分析,出现异常趋势时,应当组织有关部门实施调查和回顾,并采取相应的改进措施。进行趋势分析时,应当充分考虑到献血者个体差异,对于由于献血者个体差异所引起的,而且在血液采集和制备过程中难以控制的不影响血液安全性的指标,如果有 75%的抽检结果落在质量控制指标范围内,可认为血液采集和制备过程受控。我们依据血液质量控制检查项目,并充分考虑血液成分的特点,选取关键指标制作曲线图,探索趋势分析的方法,现报告如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 趋势分析数据来源** 根据《血站技术操作规程》(2015 版)中血液质量控制检查项目,结合中心供应临床的 10 种血液成分(全血、悬浮红细胞、去白细胞悬浮红细胞、洗涤红细胞、冰冻解冻去甘油红细胞、单采血小板、新鲜冰冻血浆、冰冻血浆、病毒灭活冰冻血浆、冷沉淀凝血因子),选取中心质量抽检频次规则为每月 1 次的 7 种血液成分(去白细胞悬浮

红细胞、洗涤红细胞、单采血小板、新鲜冰冻血浆、冰冻血浆、病毒灭活冰冻血浆、冷沉淀凝血因子),9 个关键指标(表 1),记录关键指标的每月质量控制数值。

**1.2 建立警戒限和行动限** 将关键指标的合格标准设置为行动限,将其作为需进行回溯性调研,必要时采取措施的界限。将关键指标合格标准的 120%(>合格标准为符合)或 80%(<合格标准为符合)数值设置为警戒限,将其作为需引起关注的界限。

**1.3 图表绘制** 每个关键指标制作 1 份图表,以抽检例数为横坐标,以检测结果数值为纵坐标,将每袋抽检制品的检测结果以折线图的方式绘制于图上,并设置警戒限和行动限。

### 2 结 果

**2.1 因素分析** 造成 2015 年度全血及成分血抽检结果未能 100%符合 GB18469-2012《全血及成分血质量要求》<sup>[2]</sup>的关键指标有容量、Hb、Hct、血小板含量、pH、Ⅷ因子活性、纤维蛋白原含量、亚甲蓝残留量、血浆蛋白含量,统计情况分析详见表 2 和图 1。根据帕累托曲线分析,产品的容量为影响抽检合格率的主要因素(帕累托分析:0-80%为主要因素,80%-90%为次要因素,90%-100%为一般因素),新鲜冰冻血浆与冷沉淀Ⅷ因子的含量,全年合格率仅为 72.22%和 62.22%。

表 1 7 种血液成分的关键指标

	关键指标								
	容量	HB	Hct	血小板含量	pH	VIII 因子活性	纤维蛋白原含量	亚甲蓝残留量	血浆蛋白含量
去白细胞悬浮红细胞	✓	✓	✓						
洗涤红细胞(24 h)	✓	✓	✓						
单采血小板	✓			✓	✓				
病毒灭活冰冻血浆	✓							✓	✓
新鲜冰冻血浆	✓					✓			✓
冰冻血浆	✓								✓
冷沉淀	✓					✓	✓		

注：“✓”为关键指标

表 2 2015 年抽检产品关键指标的合格率

不合格原因	合格率 (%)
容量	87.86
VIII 因子	67.22
血小板含量	87.86
Hct	88.54
Hb	87.50
纤原	95.56
亚甲蓝残留量	96.67
血浆蛋白	98.89
pH	98.15

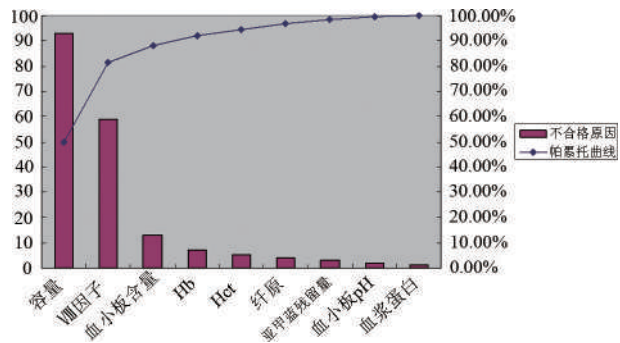


图 1 2015 年抽检的全血及成分血质量分析

2.2 趋势分析 选择与临床输注疗效相关的或能体现制备工艺的定量项目为关键指标绘制折线图进行趋势分析,如病毒灭活血浆的血浆蛋白项目数据曲线距离警戒线较远,趋势分析正常(图 2),亚甲蓝残留量项目数据曲线出现 2 次检测结果超出警戒限(图 3 的 24,28);病毒灭活血浆亚甲蓝残留量检测体系,室内质控到检测流程均无异常情况,对两例亚甲蓝残留量超标原因分析多为个体差异导致。

3 讨论

为进一步加强采供血过程质量管理工作,予血液成分质量控制及稳定性评价提供借鉴,采用选取关键指标制作折线图的方式进行连续性趋势分析,及时对偏离数据情况进行分析,指导并督促各岗位采取纠正和预防措施,有效的防止由于过程控制不当或系统偏离引起的质量不符合性<sup>[3-4]</sup>。汇总 2015 年中心质量抽检常规每月抽检 1 次的 7 种血液成分 9 项关键指标的 1 872 个数据,除新鲜冰冻血浆、冷沉淀凝血因子符合率未达到每月 75%抽检结果落在质量控制范围内的要求,其余血液成分的采集和制备过程均受控。

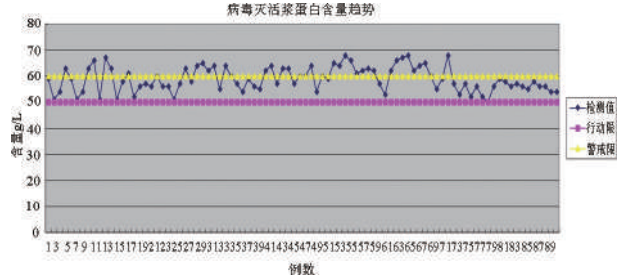


图 2 2015 年病毒灭活血浆蛋白含量项目趋势图

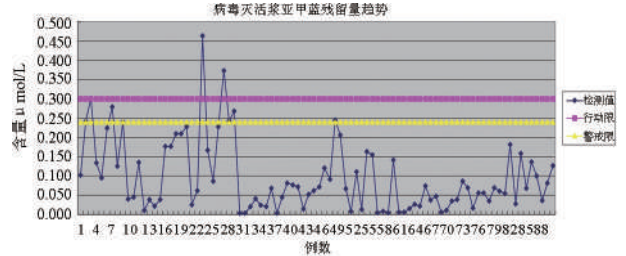


图 3 2015 年病毒灭活血浆亚甲蓝残留量项目趋势图

针对 7 种血液成分 9 项关键指标我们采用统计月达标率、3 个月为 1 个移动窗口的移动窗口达标率以及累计达标率来分析各指标变化趋势,认为连续 3 个月出现异常情况认定为该产品发生了不良趋势。除 VIII 因子指标外其他各个指标分析显示均未呈现不良趋势。9 项关键指标项目连续性趋势分析图显示本年度未出现偏离数据(连续 6-8 个检测结果朝向检测合格标准线方向有明显连续上升或下降的严重漂移)。2 例病毒灭活血浆亚甲蓝残留量超标原因分析多为个体差异导致。

回溯血液采集、保存、制备、放行、质控的各个过程,新鲜冰冻血浆与冷沉淀 VIII 因子含量检测项目结果稳定性较差,与成分制备科的制备程序密切相关,出现异常趋势后组织成分制备科实施调查和回顾,并采取了相应改进措施,通过趋势分析质控科界定 VIII 因子含量检测项目是待持续观察的关键指标。新鲜冰冻血浆与冷沉淀所含 VIII 因子是不耐热的凝血因子,受不同储存、分离制备过程中多种因素的影响而容易降低或失去活性<sup>[5]</sup>,有报道指出新鲜冰冻血浆融化后, VIII 因子活性随时间的延长而有明显的降低,其活性衰减了 41.17%<sup>[6]</sup>。时间温度控制对新鲜冰冻血浆 F VIII 活性均有较大影响,制备冷沉淀时应注意把握好原料新鲜冰冻血浆在冰箱融化时的摆放方式这个关键控制点,对提高产品质量有重要意义。

参考文献

[1] 血站技术操作规程(2015 版). 国卫医发〔2015〕95 号附件.

- 2015-12.
- [2] 全血及成分血质量要求.GB18469-2012. ICS11.020 C05.
- [3] 徐蓓,邱颖婕.趋势分析方法在血液成分质量控制中的探索和应用.临床输血与检验,2015,17(2):167-170.
- [4] 史小武,曹晓莉,叶世辉.浅析血站质量分析报告在质量管理中的作用.中国输血杂志,2016,29(3):320-322.
- [5] 石娟荣,黄金环,梁义安,等.延长时间制备的新鲜冰冻血浆的质量观察.黑龙江医学,2016,40(6):552-553.
- [6] 曹鸿霖,刘咏梅,陈秀娟,等.冷沉淀制备过程中的关键因素探讨.临床输血与检验,2015,17(2):172-173.

(2016-11-07 收稿,2017-03-11 修回)

本文编辑:闻欣

## · 短篇论著 ·

## 血栓弹力图在肺癌患者凝血功能异常中的应用

王书锋<sup>1</sup> 董晓峰<sup>2</sup> 王艳<sup>2</sup> 任磊<sup>2</sup> 兰帅奇<sup>2</sup> 曹伟娟<sup>3</sup>

(郑州大学附属肿瘤医院 河南省肿瘤医院 1.门诊办;2.输血科;3.检验科,河南 郑州 450008)

**摘要:目的** 研究血栓弹力图(TEG)在肺癌患者凝血功能异常中的意义。**方法** 对本院确诊为肺癌的 273 例患者在 2015 年 5 月-2016 年 5 月住院治疗期间,进行 TEG、凝血 4 项及静脉血管超声检查,根据有无血栓形成分为血栓组、无血栓组;正常体检人员 18 名设为对照组,并比较 3 组凝血指标的差异情况。**结果** TEG 检测显示 R 值降低,血栓组与无血栓组、对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );其他检测项目比较无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 肺癌患者的 TEG 检测中 R 值降低,显示其血液处于高凝状态,有并发血栓的风险。

**关键词:** 血栓弹力图;肺癌;凝血四项;血栓**中图分类号:** R457.1 R734.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1059-03

**Study on the application of thromboelastography in assessing coagulation status in patients with carcinoma of the lungs** WANG Shufeng<sup>1</sup>, DONG Xiaofeng<sup>2</sup>, WANG Yan<sup>2</sup>, REN Lei<sup>2</sup>, LAN Shuaiqi<sup>2</sup>, CAO Weijuan<sup>3</sup>. 1. Outpatient Office, 2. Department of Hematology, 3. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University, Henan Tumor Hospital, Zhengzhou 450008, China

**Abstract: Objective** To investigate the role of thromboelastography (TEG) in assessing coagulation status in patients with carcinoma of the lungs. **Methods** TEG, routine coagulation tests and venous Doppler ultrasound were done to detect the coagulation status in 273 patients who were diagnosed with lung cancer in Henan Tumor Hospital from May 2015 to May 2016. The patients were divided into two groups: group 1 was diagnosed with deep vein thrombosis and group 2 was not diagnosed with thrombosis, in addition to a control group consisting of non-lung cancer patients with normal lung function. The detection results were compared among the three groups. **Results** The difference of R values between group 1 and group 2, and group 1 and control demonstrated significant differences ( $P < 0.05$ ). No statistically significant difference was found in the other test parameters among the three groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The R value in TEG may indicate hypercoagulability and predict the high risk for deep vein thrombosis formation in patients with lung cancer.

**Key words:** thromboelastography; coagulation tests; lung cancer; vein thrombosis

恶性肿瘤患者的高凝状态是多种因素所致的动态变化过程,并与肿瘤本身分泌异常物质、侵袭、转移等因素有密切关系<sup>[1]</sup>。肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,《2012 中国肿瘤登记年报》显示肺癌居恶性肿瘤发病率、死亡率的第 1 位。肺癌的治疗方式主要有手术切除肿瘤、放化疗控制或延缓肿瘤的生长,从而达到延长患者生存期的目的,但是治疗过程中使用的药物及射线可以激活凝血过程,使骨髓出现造血抑制,加重了患者凝血功能的紊乱程度<sup>[2]</sup>。肺癌手术则损伤了血管内皮,使其下胶原外露,导致血液处于高凝状态;术后患者需卧床休息,活动受限,血液循环瘀滞,又加重了血液高凝<sup>[3]</sup>,以上因素导致其并发静脉血栓(deep venous thrombo-

sis, DVT) 的风险显著高于正常人群<sup>[4-5]</sup>。

常用的凝血试验指标如凝血 4 项、D-二聚体(D-dimer)、血小板计数只能反映凝血机制的局部情况,对于纤溶过程及血小板的作用则难以评估,很难了解患者凝血功能的全部状态。血栓弹力图(TEG)用图形的方式来反映凝血的动态变化,涵盖了从全血标本开始凝血、血凝块的形成、纤维蛋白溶解的全部过程<sup>[6]</sup>,是可动态监测血液凝固和纤溶全部过程的 1 项监测技术,可以对患者的凝血功能进行全面的检测和评估<sup>[7]</sup>。本文对收治的 273 例初诊肺癌患者进行研究,检测血栓弹力图(thromboelastography, TEG)和凝血 4 项,希望筛选出 DVT 有关的实验室检查指标,为临床预防性治疗提供依据,降低血栓发生的可能性,得到了预期的效果,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2015 年 5 月-2016 年 5 月期间,在本院住院的 273 例初诊肺癌患者,均已经病理学诊断确诊且未进行治疗,其中男性 206 名,女性 67 名,年龄 31-72 岁,平均 53.7 岁。为保证实验的准确性,已排除近期使用过抗凝药物、化疗药物、输注血液制品的病例。在符合条件的患者入院后 1 日内,抽取肘部静脉血检测 TEG 和凝血 4 项,根据其结果评估为凝血功能异常的患者进行静脉血管超声多普勒检查;按超声检查结果有无静脉血栓,将研究病例分为血栓组和无血栓组,其中无血栓组是从没有发现血栓的病例中,随机选出与血栓组数量相同的人员。另选 18 名健康体检人员设为对照组,排除以下因素:月经期女性、孕妇、有血栓病史或出血病史者、服用过影响凝血药物者;其中男性 13 名,女性 5 名,年龄 28-65 岁,平均 46.3 岁。3 组研究对象性别、年龄差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。参与研究的患者及体检人员均知情同意,并且报经医院伦理委员会批准。

**1.2 仪器与试剂** 凝血 4 项检测使用日本 SYSMEX CA-7000 自动凝血仪及配套试剂盒,血栓弹力图检测使用美国 Haemoscope 生产的 Model 5000 型仪器及配套试剂盒。试剂均在有效期内使用,严格按照操作说明书进行检测。

### 1.3 标本采集及检测

**1.3.1 标本采集** 所有研究对象均清晨空腹抽取肘部静脉血,经 3.2%枸橼酸钠 1:9 抗凝,30 min 内送检。实验室接到标本后,在室温条件下及时进行检测。

**1.3.2 凝血 4 项检测** 全血标本以离心半径 18 cm、相对离心力 2 000 g 离心 10 min,提取血浆,使用全自动凝血分析仪检测凝血 4 项,包括活化部分凝血活酶时间 (APTT)、凝血酶时间 (TT)、凝血酶原时间 (PT)、纤维蛋白原定量试验 (FIB)。APTT 主要反映内源性凝血系统功能状况,参考值 21-39 s;TT 反映纤维蛋白原转化为纤维蛋白的时间,参考值 6-21 s;PT 主要反映外源性凝血系统功能状况,参考值 9-15 s;FIB 是测定人血浆中纤维蛋白原含量的试验,参考值 (2-4) g/L。

**1.3.3 TEG 检测** 将抗凝的全血标本 1 mL 放入血栓弹力图描记仪,使用配套试剂进行 TEG 检测,包括以下参数:凝血反应时间 (R)、凝血形成时间 (K)、血块形成速率 (Angle 角)、血凝块最大强度 (MA)、血块稳定指数 (LY30 和 EPL)、总体凝血指数 (CI)。R 值表示从血标本开始测定到纤维蛋白开始形成的时间,参考值 5-10 min;K 值表示从开始凝血至描记图振幅达到 20 mm 所需的时间,参考值 1-3 min;Angle 角表示从凝血块形成点到描记图的最大曲线弧度作切线与水平线的夹角,参考值 53°-72°;MA 值表示凝血块的最大强度及稳定性,参考值 50-70mm;LY30 表示 MA 值稳定后 30 min 的纤维蛋白溶解率,0~8%;EPL 是估计的溶解百分数,表示在 MA 值确定后 30 min 内凝血块将要溶解的百分比,参考值 >15%;CI 值是把以上指标综合以后得到的凝血指数,反映的是患者总体的凝血状态,参考值 3-3。

**1.4 统计学处理** 所有数据应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间数据两两比较采用 Tukey 检验,总

体均数的比较使用  $F$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 形成静脉血栓的病例** 273 例患者经超声多普勒检查,发现有 18 例形成静脉血栓,占比为 6.59%。

**2.2 凝血 4 项检测** 血栓组凝血 4 项检测与无血栓组、对照组比较,PT、TT 缩短,FIB 升高,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组间凝血 4 项检测数据比较 ( $\bar{x}\pm s, n=18$ )

	血栓组	无血栓组	对照组	$F$	$P$
APTT(s)	31.72±6.41	34.28±8.17	30.57±5.43	1.42	0.25
TT(s)	13.65±3.54	15.39±4.27	14.16±3.85	0.95	0.39
PT(s)	9.31±2.47	11.53±3.18	10.64±2.59	2.94	0.06
FIB(g/L)	3.92±0.78	3.75±0.83	3.59±0.74	0.79	0.46

**2.3 TEG 检测** 血栓组 TEG 检测数据与无血栓组、对照组比较,R 值缩短,差异有统计学意义( $P<0.05$ );其余各项比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 3 组间 TEG 检测数据比较 ( $\bar{x}\pm s, n=18$ )

	血栓组	无血栓组	对照组	$F$	$P$
R(min)	2.87±0.38 <sup>a</sup>	4.52±0.79 <sup>b</sup>	5.31±0.86 <sup>c</sup>	55.50	0.00
K(min)	2.25±0.73	2.49±0.81	2.16±0.64	0.98	0.38
MA(mm)	61.37±11.62	56.94±10.35	57.92±12.47	0.73	0.48
Angle(deg)	64.72±21.53	73.28±24.17	60.83±19.25	1.54	0.22
EPL(%)	0.43±1.75	0.31±1.57	0.19±1.26	0.11	0.89
LY30(%)	0.21±1.46	0.29±1.54	0.38±1.52	0.06	0.94
CI	0.83±2.39	0.52±2.16	0.27±1.42	0.34	0.71

注:a 与 b 比较, $q=9.87, P<0.05$ ;a 与 c 比较, $q=14.60, P<0.05$ ;b 与 c 比较, $q=4.73, P>0.05$

## 3 讨论

恶性肿瘤患者 DVT 发生率较高,与肿瘤本身有相关性,还与肿瘤的各种治疗、患者的身体情况及其他合并疾病等密切相关。有研究显示远处转移患者的 DVT 发病率是局限期患者的数倍,肿瘤的恶性程度越高,其凝血指标异常程度越明显;肺癌、血液系统肿瘤、消化道肿瘤、脑瘤及妇科肿瘤发生的 DVT 的风险较高<sup>[1]</sup>。

临床医生可以通过实验室检查来评估患者的凝血功能状态,预防性的使用抗血栓药物,能降低发生血栓的机率,并且对改善肿瘤的预后有一定的应用价值<sup>[8]</sup>。TEG 检查与常规凝血试验指标相比,能全面反映患者的凝血功能状态,现在广泛用于围手术期、重症患者等凝血功能的监测及输血治疗<sup>[9-11]</sup>。

本研究显示,肺癌患者的凝血 4 项检查中各指标无统计学意义( $P>0.05$ ),血栓组 PT 降低,FIB 升高,可以作为辅助指标。TEG 结果中 R 值较正常人减小,提示凝血因子活性较高,CI 值较正常人增高,提示其处于高凝状态;其他 TEG 参数均数和正常人相近,但是标准差较大,提示个体差异较大、情况复杂,表明肺癌患者凝血功能有不同程度的异常。血栓组患者 R 值低于无血栓组、对照组,3 组间比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血栓组与对照组、无血栓组两两比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );对照组、无血栓组之间比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。其他 TEG 参数及凝血 4 项的比

较,3 组间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。恶性肿瘤对凝血和止血系统的影响非常复杂,以上数据都显示了肺癌患者的凝血功能紊乱和不统一性,对不同患者及同一患者治疗的不同时期,都应通过 TEG 检查监测患者的凝血功能情况,以便临床医生及时对症处理;出现 R 值降低时,要注意静脉血栓形成的可能性,必要时进行抗凝治疗,减轻患者的痛苦。静脉血管超声检查并不是每个肺癌患者都需要做的检查,常规凝血指标在静脉血栓形成时也不能及时反映患者凝血机制的变化,使临床的治疗滞后;而 TEG 检查具有快速、简便的优势,能全面评估患者的凝血功能,但由于价格较高影响了在临床的推广。本研究的标本数量有限,只反映出 TEG 在肺癌患者凝血功能中的部分作用,以后会增加样本量,进行其他方面的研究。

综上所述,肺癌患者在 TEG 检测中出现 R 值降低时,可辅助常规凝血功能检测及静脉血管超声检查,使临床医生能及时对患者进行抗凝治疗,降低其发生血栓的风险。

### 参 考 文 献

- [1] 王静,张霞.恶性肿瘤患者高凝状态的危险因素、发生机制及实验室检测. 检验医学与临床,2015,12(15):2284-2287.
- [2] 张晓伟,史立英,高海燕,等.肺癌患者凝血功能改变的临床意义.中国实验诊断学,2013,17(9):1720-1721.
- [3] 李广生,马淑萍.肺癌合并静脉血栓栓塞症的发病机制及治疗

进展.山东医药,2015,55(29):103-105.

- [4] Malgor RD, Bilfinger TV, Labropoulos N. A systematic review of pulmonary embolism in patients with lung cancer. Ann Thorac Surg, 2012,94(1):311-316.
- [5] 王峻,周卫华,许林,等.肺癌合并肺栓塞危险因素及预后的临床分析.中国肺癌杂志,2011,14(10):780-784.
- [6] 高晓云,曹晓明,贾军会.血栓弹力图检测对内科重症患者合理输注血液成分中的指导作用.中国输血杂志,2012,25(2):155-157.
- [7] Ganter MT, Hofer CK. Coagulation monitoring: current techniques and clinical use of viscoelastic point-of-care coagulation devices. Anesth Analg, 2008, 106(5):1366-1375.
- [8] Robert F. The potential benefits of low-molecular-weight heparins in cancer patients. J Hematol & Oncol, 2010, 3(1):1-12.
- [9] 杨军,王毅,张福江,等.血栓弹力图在骨科大手术围手术期抗凝治疗预防深静脉血栓中的动态监测作用.中华检验医学杂志,2015,38(5):333-336.
- [10] 曹兴华,张晓婷,李清.血栓弹力图指导围术期输血策略的建立与评价.中国输血杂志,2015,28(10):1254-1256.
- [11] 赵琳琳,刘风华.血栓弹力图对危重症患者临床合理用血的指导作用.临床血液学杂志,2015,28(4):273-275.

(2016-10-13 收稿,2017-05-19 修回)

本文编辑:夏玲

## · 短篇论著 ·

# 16GB 浅静脉留置针在血细胞分离患者中的应用

刘淑萍 周晔敏 (丽水市人民医院,浙江 丽水 323000)

**摘要:目的** 探讨 16GB 浅静脉留置针在血细胞分离患者中的应用价值。**方法** 2016 年 1 月—2016 年 7 月,本科接受治疗性血细胞分离的患者 76 名,随机分为实验组和对照组,实验组使用 16GB 浅静脉留置针建立静脉通路,对照组使用常规管路配置的钢针建立静脉通路。**结果** 实验组在分离过程中血流量符合要求,再次穿刺为 0 次,增加了穿刺部位的选择。对照组在分离过程中血流量符合要求,再次穿刺为 7 次,穿刺部位局限。**结论** 16GB 浅静脉留置针在血细胞分离患者中的使用效果优于常规管路配置的钢针。

**关键词:** 浅静脉留置针;血细胞分离;分离术中应用

**中图分类号:** R457.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1061-03

**Application of 16GB venous indwelling needle among patients with blood component apheresis** LIU Shuping, ZHOU Yemin. People's hospital of Lishui City, Lishui 323000, China

**Abstract: Objective** To explore the clinical value of 16GB superficial venous indwelling needle among patients with blood component apheresis. **Methods** From January 2016 to July 2016, 76 cases with blood component apheresis were randomly divided into experimental group and control group. The experimental group established venous access with 16GB superficial venous indwelling needle; the control group used conventional steel needle pipe configuration. **Results** The experimental group met the blood flow requirement during apheresis. The number of re-puncture was 0. The blood flow of the control group also met the requirement. The numbers of re-puncture were 7. The puncture sites were limited. **Conclusion** The effect of 16GB superficial venous indwelling needle is better than conventional steel needle pipe configuration among the patients with blood component apheresis.

**Key words:** superficial venous indwelling needle; blood

component apheresis; application in apheresis

血细胞分离技术在临床应用普遍<sup>[1-4]</sup>,建立良好的静脉通路,是决定采集过程是否顺畅的关键因素<sup>[4-5]</sup>,建立良好的静脉通路,除了对静脉要求极高以外,患者的配合也是重要因素之一。常规管路配置的都是钢针,选择上肢肘正中静脉、头静脉、贵要静脉作为采血部位,必要时需请麻醉科协助颈静脉置管用以采血。由于采集循环时间长,关节处容易活动导致穿刺针穿透静脉血管壁,导致血液溢出皮下,影响采集,如为多日采集,静脉破坏极大。浅静脉留置针具有无需反复穿刺、应用安全、操作简单等优势,能够最大限度减轻患者的痛苦以及医护人员的护理工作量,在临床静脉输液中已得到广泛应用<sup>[6-8]</sup>。2016 年 1 月—2016 年 7 月,我们对本科血细胞分离的患者应用 16GB 浅静脉留置针进行浅静脉穿刺行血细胞分离术,现将结果报告如下。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2016 年 1 月—2016 年 7 月,本科行治疗性血细胞分离患者 76 名,其中男性 43 名,女性 33 名,年龄 18—85 岁,平均 45 岁,其中白细胞增多 21 例,血小板增多 27 例,血浆置换 15 例,红细胞增多 10 例,自体外周血干细胞采集 3 例。随机分为 2 组,实验组:首选 16GB 浅静脉留置针进行浅静脉穿刺,2 次穿刺失败,则选择深静脉置管。对照组:首选 16GB 钢针,2 次穿刺失败,则选择深静脉置管。均告知患者并签订知情同意书。

**1.2 设备与耗材** 美国 BaxterCS3000 血细胞分离机(双针循环)及专用一次性全封闭管道,ACD 抗凝剂,BD 公司 16G 浅静脉留置针(流量 205 mL/min,1.7×45 mm)。

**1.3 方法** 选择好静脉,明确静脉走向及深浅,结扎止血带使静脉充盈,用复合碘以穿刺点为中心环形消毒皮肤直径 5 cm,待干,右手持针,针头斜面向上,左手绷紧穿刺点远端皮肤,进针角度以 15—30 度为宜,进针速度宜慢,进针后见血液回流时降低穿刺角度,将留置针继续沿血管前行 0.5—1 cm,将针芯退出 0.5—1 cm,将套管向前送入血管,松开止血带,同时以左手食指、中指按压套管尖端位置,按压程度以阻断血流为宜,右手彻底退出针芯,连接肝素帽,用输液敷贴固定留置针。同法穿刺好另一静脉,连接血细胞分离机,进行分离采集操作。

**1.4 判断标准** 在分离全过程中以使用调查问卷(图 1)内容为观察指标,统计首次穿刺部位,使用深静脉置管例数,分离过程中重新穿刺例数,进血管路低压报警次数,返血管路高压报警次数,探讨 16GB 浅静脉留置针在血细胞分离患者中的应用。

**1.5 统计学处理** 采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )、百分率描述患者一般资料 and 情况。均数比较用 *t* 检验,率的比较用  $\chi^2$  检验。采用 SPSS16.0 进行数据统计分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果(表 1,2)

床号		姓名		住院号		科室	
性别		年龄		诊断		血细胞分离术	
首次使用穿刺针	常规配置穿刺针	首次静脉穿刺部位	肘部静脉	头静脉			
	16GB 浅静脉留置针			其他外周静脉			
分离过程中重新穿刺		是否改颈内静脉置管		进血管路低压报警		返血管路高压报警	

操作者: \_\_\_\_\_ 日期: \_\_\_\_\_

图 1 血细胞分离调查表

表 1 2 组患者穿刺部位比较

n	首次静脉穿刺(n)	首次静脉穿刺部位		首次穿刺失败改颈内静脉置管*(n)	
		肘部静脉(n)	其他外周浅静脉(n)		
对照组	38	76	65	11	9
实验组	38	76	56	20	1

\*  $P < 0.01, \chi^2 = 6.8$

表 2 2 组患者分离过程中报警及重新穿刺比较

n	进血管路低压报警*(n)	返血管路高压报警(n)	分离过程中重新穿刺(n)	
对照组	76	8	2	7
实验组	76	1	1	0

\*  $P < 0.05, \chi^2 = 5.8$

3 讨论

从表 2 中我们可以看到实验组进血管路低压报警 1 次,返血管路高压报警次数 0 次。说明 16GB 浅静脉留置针的血流量 205 mL/min,完全能胜任血细胞分离机的操作要求。

从表 2 中我们可以看到对照组进血管路低压报警 8 次,其中 3 次因为患者血流不足引起,予手捏皮球及在穿刺点上方扎止血带,增加血流量,报警解除,其中 5 次是因为分离过程中穿刺针穿透血管壁,需重新穿刺。返血管路高压报警 2 次,均为分离过程中钢针穿破血管壁引起,予重新穿刺,分离过程中重新穿刺 7 次。而实验组进血管路低压报警 1 次,是因为患者血流不足引起,予手捏皮球及在穿刺点上方扎止血带,增加血流量,报警解除。返血管路高压报警次数 0 次。分离过程中重新穿刺为 0 次。这充分发挥了浅静脉留置针的优势,不易穿破血管壁,减轻患者重新穿刺的痛苦,也减轻了护士的工作量,提高工作效率和质量。

静脉穿刺部位增多,表 1 中我们首次外周静脉穿刺对照组选择肘部静脉 86%,实验组选择肘部静脉 74%,对照组选择其他静脉 14%,实验组选择其他静脉 20%,说明实验组使用 16GB 浅静脉留置针使穿刺部位增多。保证有足够的血液供应分离机,目的在于保证治疗和采集工作的顺利进行,多数情况下,首选肘部较大静脉,但并不是每个人的肘部大静脉都能达到要求,颈外静脉是颈部最大的浅静脉,管径粗,显露明显,穿刺可以在直视下进行,操作简便易行,既安全又可迅速刺入静脉,但是如果使用 16GB 钢针,患者稍活动就容

易穿破血管,引起外渗,且因颈部组织松弛,早期不易发现,特别是肥胖患者,颈部粗大不易与早期渗漏组织肿胀相鉴别,如果渗漏量多,可致颈部组织肿胀压迫气管,导致呼吸不畅而引起严重后果,所以虽然颈外静脉诸多好处,但是使用 16GB 钢针穿刺外渗风险极大,临床一般不做选择,浅静脉留置针具有良好的韧性和独特的弹性功能,对血管刺激性小,可随血管形状弯曲,不易穿破血管,弥补了钢针的不足,使颈外静脉得以利用,增加了穿刺部位的选择范围。

减轻患者的经济负担,血液病患者,多需反复治疗,患者经济负担重,从统计表中可见,实验组患者深静脉置管率明显下降,减轻了患者的额外支出。增加了患者的舒适度,大多数病人都有钢针输液的经验,知道活动后钢针容易刺破血管壁,需重新穿刺,在分离过程中,精神高度集中,使肢体僵硬、麻木不适。浅静脉留置针的特点是不易穿破血管壁,患者稍事活动,不会引起不良后果,减轻患者的思想负担,直至分离顺利完成。

综上所述,16GB 浅静脉留置针的血流量完全能胜任血细胞分离机的操作要求,增加了穿刺部位的选择,减少了重新穿刺率,减少了深静脉置管率,减轻患者的经济负担,且增加了舒适度,在血细胞分离患者中的使用效果优于常规管路

配置的钢针。

## 参 考 文 献

- [1] 吴思梦,段小晶,张晋,等.血细胞分离机在肿瘤患者生物治疗中的应用.中国输血杂志,2015,28(5):546-548.
- [2] 张美婷,赵欣欣,奚铭远,等.两种血细胞分离机采集异体外周造血干细胞效果的比较.中国输血杂志,2016,29(3):278-280.
- [3] 马金旗,傅云峰,高萌,等.血浆置换在青年慢性加急性肝衰竭患者治疗中的疗效和安全性分析.中国输血杂志,2016,29(4):391-394.
- [4] 温柏平.血细胞分离机—原理与临床应用.北京:人民卫生出版社,2007:148.
- [5] 朱燕双,郑墅婷.治疗性血细胞分离采集的护理配合.中国实用医药,2012,7(3):210-211.
- [6] 陈占玲.浅静脉留置针的应用及护理体会.基础医学论坛,2014,18(21):2861-2862.
- [7] 漆怡红,易启连,黄琳.静脉留置针在手术应用中的效果分析.基础医学论坛,2011,15(11):1012-1013.
- [8] 张丽霞.浅静脉留置针在普胸肿瘤手术及化疗病人中的应用.医学论坛与实践,2009,22(7):858-859.

(2016-11-09 收稿,2017-06-01 修回)

本文编辑:夏玲

## • 短篇论著 •

# 病毒灭活新鲜冰冻血浆二次冻融前后凝血因子的变化

宋春明<sup>1</sup> 李晓华<sup>1</sup> 王文经<sup>1</sup> 刘奎民<sup>2</sup> 郑婷婷<sup>3</sup>

(1.烟台市中心血站,山东 烟台 264003;2.烟台市烟台山医院;3.烟台毓璜顶医院)

**摘要:目的** 探讨病毒灭活新鲜冰冻血浆(病毒灭活 FFP)二次冻融前后,凝血因子间的差别,为规范临床操作,指导科学合理的安全输注血浆制品提供依据。**方法** 随机抽取 30 份病毒灭活 FFP,37℃ 水浴融化后,于 0h、6h、12h、24h 4 个时间段置于-50℃ 血浆速冻柜冰冻,测定二次冻融前后凝血指标和类凝血因子[凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、血浆纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)、凝血因子Ⅷ(FⅧ)]变化情况。**结果** 病毒灭活 FFP 经各时段二次冻融前后,凝血指标中 PT、TT、FIB 变化不大,而 APTT 时间平均延长 5.8%;FⅧ 因子活性随着融化时间的推移,数值下降明显( $P < 0.01$ )。**结论** 为保证凝血因子活性,临床科室应按照输血指征要求合理预定病毒灭活 FFP,一旦水浴融化,应当立即进行输注,避免二次冻融。

**关键词:**病毒灭活新鲜冰冻血浆;二次冻融;凝血因子

**中图分类号:**R457.1<sup>4</sup> **文献标识码:**B **文章编号:**1004-549X(2017)9-1063-02

**Research on changes of coagulation factors in fresh frozen plasma before and after secondary freeze-thawing by virus inactivation** SONG Chunming<sup>1</sup>, LI Xiaohua<sup>1</sup>, WANG Wenjing<sup>1</sup>, LIU Kuimin<sup>2</sup>, ZHENG Tingting<sup>3</sup>. 1. Yantai Center Blood Station, Yantai 264003, China; 2. Yantaishan Hospital; 3. Yantai Yuhuangding Hospital

**Abstract: Objective** To explore the difference of coagulation factors before and after secondary freeze-thaw of virus-inactivated freshly frozen plasma, and to provide scientific basis for rational and scientific transfusion of plasma products. **Methods** Thirty samples of virus inactivated FFP were randomly selected and incubated in 37℃ water bath. At 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, these samples were frozen at -50℃. The changes of coagulation factors were measured before and after secondary resuscitation (PT, APTT, FIB, TT, FⅧ). **Results** The changes of PT, TT and FIB in blood coagulation index were not significant, and the time of APTT was prolonged by 5.8%. The activity of FⅧ factor decreased significantly with the time of thawing ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** To ensure coagulation factor activity, clinical departments should be in accordance with

the requirements of blood transfusion indications for reasonably



inactivated FFP. Once the water bath melts, infusion should be immediately given to avoid secondary freeze-thawing.

**Key words:** virus inactivation of fresh frozen plasma; secondary freeze-thawing; coagulation factor

血浆是临床需求量大且病毒感染危险性较高的一种血液制品。近年来,随着成分输血的日趋规范,对血浆进行病毒灭活处理已成为抑制经血传播疾病的最有效方法。病毒灭活新鲜冰冻血浆(病毒灭活 FFP)是将新鲜冰冻血浆(FFP)进行病毒灭活处理,既保留了丰富的凝血因子,又提高了临床输注的安全性,目前已逐步在临床中广泛应用。然而,在当前采供血矛盾日趋凸显,血液资源紧缺的新常态下,如何确保最大限度的节约血液资源,提升输注效价,已成为一项重要课题。病毒灭活 FFP 中凝血因子活性是衡量其输注有效性的重要标准,笔者通过将病毒灭活 FFP 水浴后对各时间段冻融前后凝血指标及凝血因子活性进行对照,为指导临床科学掌握该制品冻融后输注效果提供科学依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 血液采集完成后送至血站成分科进行制备,制备过程严格按照《全血与成分血质量要求》(GB18469-2012)和《血液成分制备操作规程》进行操作。病毒灭活新鲜冰冻血浆在血液采集后 6h 内制备完成,并于 -50℃ 血浆速冻柜速冻后于 -20℃ 储血冰箱内保存<sup>[1-2]</sup>,留取 10 mL 样本检测。

**1.2 仪器与设备** 日本 CA-50 血凝仪、雷杜 RT-9000 全自动生化分析仪、FIB 试剂(荷兰)、乏 FVIII:C 血浆(荷兰)、APTT 试剂(荷兰);非病毒灭活血浆袋由山东威高集团提供,病毒灭活血浆袋由淄博中保康医疗器具有限公司提供。

**1.3 方法** 将病毒灭活 FFP 置于 37℃ 恒温水浴箱及 -50℃ 血浆速冻柜中进行二次冻融,严格按照试剂说明要求分别在不同时间段检测 PT、APTT、FIB、TT、FVIII 含量。

**1.4 统计学分析方法** 应用 SPSS19.0 统计软件对数据进行统计处理,采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )进行 *t* 检验, $P < 0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果(表 1)

**表 1** 病毒灭活 FFP 冻融后放置不同时间凝血因子变化情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

时间(h)	二次复融	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FVIII(%)
0	前	13.23±0.31	30.27±2.16	19.61±1.32	87.26±28.11
	后	13.35±0.27	32.19±2.35	19.83±1.19	83.41±21.87
6	前	13.46±0.30	33.16±2.46	19.51±0.91	78.48±25.72
	后	13.60±0.31	34.79±2.81	19.68±1.02	71.39±23.16
12	前	13.63±0.42	34.19±2.75	19.13±1.01	75.12±19.51
	后	13.78±0.37	35.87±3.11	19.32±0.97	63.14±21.39
24	前	13.71±0.29	34.75±3.05	19.93±1.05	61.24±19.77
	后	13.85±0.41	36.23±3.32	20.21±1.16	55.24±17.88

注:0-24 h 冻融前后凝血指标监测值比较:PT、TT、FIB 3 项指标  $P > 0.05$ ;APTT 在 0h、6h 时比较,*t* 值分别为 2.639、2.385, $P$  均值  $< 0.05$ ;12h、24h 时比较,*t* 值分别为 2.927、2.933, $P$  均值  $< 0.01$ ;FVIII 因子 0-24 h 比较,*t* 分别为 13.703、11.281、14.334、13.297, $P$  均值  $< 0.01$

## 3 讨论

病毒灭活 FFP 是全血采集后 6-8 h 内,在 4±2℃ 离心制备的血浆,经亚甲基蓝光化学法病毒灭活后迅速在 -50℃ 以下

速冻成块的血液制品。冰冻状态一直持续到应用前,使用时融化成液体血浆。经过病毒灭活的 FFP 可以有效避免经血传播 HBV、HCV、HIV 等病毒的传播,同时由于去除了白细胞,在一定程度上减少了临床输血发热反应中非溶血性输血反应的发生率,具有较高的安全性。FFP 是制备冷沉淀凝血因子的原料血浆,至于病毒灭活 FFP 能否作为冷沉淀凝血因子的原料血浆,目前国内未形成质量标准,且存在争议<sup>[3,4]</sup>。但是,其与新鲜冰冻血浆(FFP)适应症基本相同,既能够用于凝血因子和纤维蛋白原缺乏症、血浆置换、因大量出血而输血者、肝衰竭伴出血等的治疗,又能够有效地控制普通血浆输注引起的病毒传播疾病的发生率<sup>[5]</sup>。

本研究采用样本严格按照《血液成分制备操作规程》要求进行操作,将采集到的全血送至血站成分科进行离心分离,血浆经过亚甲基蓝光化学法病毒灭活后进行速冻,整个采集制备过程控制在 6h 内,确保实验样本凝血因子指标符合国家标准。从本次研究可以看出,病毒灭活 FFP 水浴后经过 0h、6h、12h、24h 进行二次冻融,其凝血指标及凝血因子活性呈现不同程度损耗。其中 PT、TT、FIB 3 项指标变化不大;APTT 及 FVIII 因子含量在实验前后呈现显著性差异。特别是凝血因子 FVIII,由于其不稳定特质,冻融后随放置时间延长而导致严重衰减,而且反复冻融可显著降低活性。APTT 是内源性凝血因子活性筛选实验,其延长与不稳定的凝血因子(特别是 FVIII)活性衰减有关<sup>[6]</sup>。该项研究结论表明融化后的存放时间对病毒灭活 FFP 的有效性起到至关重要的作用,对临床输血安全具有重要的指导意义。

综上所述,医院应根据病人病情科学合理输注病毒灭活 FFP。为保持凝血因子活性,最大限度提升输注效能,在常规的输血治疗中,病毒灭活 FFP 一旦水浴融化后,应当立即输注,如因特殊情况无法立即输注,应尽量在 (2-6)℃ 环境中保存,并于 8h 内输注<sup>[7]</sup>。此外,临床科室应严格按照患者病情实际及输血指征要求合理预定该制品,避免血液资源浪费,尽可能确保病毒灭活 FFP 不被二次冻融。

## 参考文献

- [1] 全血及成分血质量要求.GB18469-2012.
- [2] 血站技术操作规程(2012 版).卫医政发[2012]1 号附件.
- [3] 刘金娉,王莉,刘海涛,等.病毒灭活新鲜冰冻血浆制备冷沉淀的可行性探讨.检验医学与临床,2015,12(6):750-751.
- [4] 王莉,杜家成,刘金娉,等.经白细胞过滤和病毒灭活新鲜冰冻血浆制备冷沉淀的可行性探讨.临床输血与检验,2015,17(2):148-150.
- [5] 于来水.病毒灭活(亚甲基蓝光化学法)新鲜冰冻血浆临床应用可行性的探讨.中国输血杂志,2012,25(S1):61.
- [6] 孙国常,黄文军,张云,等.新鲜冰冻血浆二次冷冻后血浆成分的变化.中国医疗前沿,2007,16(2):14-15.
- [7] 梁晓渊,林正明,江建锋,等.不同温度下 3 中血液制剂中 FVIII 活性分析.中国输血杂志,2015,28(4):393-395.

(2016-10-28 收稿,2017-04-02 修回)

本文编辑:李弘武

## 二例类孟买型血型的血清学鉴定及输血实践\*

谢进荣<sup>1△</sup> 吴维华<sup>1</sup> 金月林<sup>1</sup> 杨文勇<sup>2</sup>

(1.文山州中心血站,云南 文山 663000;2.文山州人民医院)

**摘要:目的** 探讨类孟买型血型血清学鉴定方法及输血应对措施,为类孟买型鉴定和输血提供参考。**方法** 利用吸收放散试验、血型物质中和抑制试验、微柱凝胶法等血型血清学方法鉴定患者、献血者 ABO、H、Lewis 血型及配血。**结果** 2 例患者及 2 例献血者红细胞上常规方法未检测到 ABH 抗原,吸收放散试验能检测到 ABH 抗原,唾液分别测出 ABH 物质,1 例 Lewis 血型检测为 Le(a-b+),另外 3 例 Lewis 血型检测为 Le(a-b-),其中 2 例证实为类孟买型 Oh<sup>A</sup>-分泌型,另外 2 例证实为 Oh<sup>B</sup>-分泌型。病例 1 能与普通 B 型相配合,病例 2 不能与普通 A 型相配合,但分别能与同型 O<sub>Hma</sub> 和异型 O<sub>Hmb</sub> 相配合。**结论** 类孟买型的正确鉴定及采取与合适的血液相配合输注,甚至与异型孟买型相配合输注,是类孟买型输血的必要应对措施。

**关键词:**类孟买型;血型鉴定;吸收放散试验;H 物质

**中图分类号:**R457.1<sup>1</sup> **文献标识码:**B **文章编号:**1004-549X(2017)9-1065-03

**Serological identification and the practice of blood transfusion of para-Bombay blood group** XIE Jinrong<sup>1</sup>, WU Weihua<sup>1</sup>, JIN Yuelin<sup>1</sup>, YANG Wenyong<sup>2</sup>. Wenshan Blood Station, Wenshan 663000, China; 2. Wenshan People's Hospital. Corresponding author: XIE Jinrong

**Abstract: Objective** To explore the serological identification approaches and the response of blood transfusion of para-Bombay blood group to provide reference for identification and transfusion of para-Bombay blood group. **Methods** By the use of absorption-elution test, blood group substance neutralization inhibition test, micro-column gel method and other blood group serological methods were used to identify patients, blood donors ABO, H, Lewis blood types and to conduct crossmatching. **Results** The ABH antigen was not detected in the red blood cells of 2 patients and 2 blood donors by conventional methods, but the absorption-elution test was used to detect ABH antigen in red blood cells. ABH substance was detected in saliva samples. Among them, 1 cases of Lewis blood group test was Le(a-b+), the other 3 cases of Lewis blood group test were Le(a-b-). Two of them were confirmed as OhA-secretion, and the other 2 cases were confirmed as OhB-secretion. Case 1 can be combined with ordinary B type blood, case 2 cannot be compatible with the ordinary type A blood, but with the same type of O<sub>Hma</sub> and abnormal O<sub>Hmb</sub> blood cooperation. **Conclusion** The correct identification of para-Bombay blood group and the appropriate transfusion with the blood, even with the Mumbai blood type with infusion, is a necessary measure for para-Bombay blood transfusion.

**Key words:**para-Bombay blood group; blood group identification; absorption-elution test; H substance

目前,在国内暂没有孟买型分布频率报道,只有类孟买型的报道,在台湾类孟买型出现频率为 1/8 000,福建为 1/8 500,香港为 1/15 620,北京为 1/102 万<sup>[1-3]</sup>。孟买型和类孟买型出现频率较低,属于稀有血型,有条件的实验室可以应用分子生物学技术进行鉴定,但在多数实验室不具备条件,只能通过血型血清学鉴定,为此,给临床血型鉴定和配合血液带来一定的困难。我们在接受医院送检疑难血型鉴定中发现 2 例病患及 2 例病患家属献血者为类孟买型,现将 4 例类孟买型血清学鉴定及 2 例病例配血输血过程,报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 病例 1,男,壮族,72 岁,临床诊断:颅脑外伤,实验室检查:Hb 67 g/L, Hct 23%, PLt 294×10<sup>9</sup>/L, WBC 13.3×10<sup>9</sup>/L;术前申请备血,RBC 4 U,新鲜冰冻血浆 600 mL,正反定型不符送检血站定型配血,血型血清学证实为 O<sub>Hmb</sub>,随机与两位 B 型献血者进行交叉配血相合备 RBC 4 U,但患者因病情加重术前死亡,未来得及输血;病例 2,女,壮族,37 岁,临床诊断为死胎综合征、脓毒血症、贫血,实验室检查:Hb 47 g/L, Hct 14%, WBC 23.96×10<sup>9</sup>/L;申请输血 RBC 4 U,正反定型不符送检我站定型配血,血型血清学证实为 O<sub>Hma</sub>,经查病例 2 哥,血型为 O<sub>Hma</sub>,与其交叉配血相合,互助献血 400mL,经滤白处理后输注全血 400mL,无输血反应,24h 后查 Hb 52g/L, Hct 15%, WBC 16.32×10<sup>9</sup>/L;再次申请输血查病例 2 弟,血型为 O<sub>Hmb</sub>,与其交叉配血相合,启动特殊情况输血程序,互助献血 400 mL,经滤白处理后洗涤,输注洗

涤 RBC 2U, 无输血反应, 24 h 后查 Hb 63 g/L, Hct 19.5%, WBC 25.69×10<sup>9</sup>/L, 病情稳定转院。

**1.2 试剂与仪器** 抗-A、抗-B 试剂(批号 20120101、20140407)、抗-H 试剂(批号 20120606、20140707)、ABO 反定型试剂(批号 20125330、20145331)、筛选细胞(批号 20120617、20140601)、抗-Lea、抗-Leb 试剂(批号 20120106、20140526)(上海血液生物);微柱凝胶卡(批号 20120203、20140506)(长春博迅);凝聚胺试剂(批号 112101、113121)(珠海贝索);抗-A、抗-B 人源血清本室自制。细胞洗涤离心机(台湾贝索),微柱凝胶法孵育器及专用离心机(长春

博德)。

**1.3 方法** 血型鉴定、抗体筛查与交叉配血按照《全国临床检验操作规程》<sup>[4]</sup>及厂家试剂说明书操作。

**2 结果**

**2.1 ABO、Lewis 血型** 结果显示 4 例病例正反定型不一致,红细胞上检测不到 H 抗原,病患 2 及其哥哥、弟弟的血清经 O 细胞 4℃ 吸收 1h 后定型,显示出 ABO 抗体特异性(表 1)。

**表 1 血型鉴定结果**

	正定型			反定型							Lewis 定型	
	抗-A	抗-B	抗-H	常规定型			自身 C	O 细胞吸收后定型			Lea	Leb
				AC	BC	OC		AC	BC	OC		
病例 1	0	0	0	4+	0	0	0	/	/	/	0	1+
病例 2	0	0	0	2+	3+	2+	0	0	3+	0	0	0
病例 2 哥	0	0	0	3+	4+	3+	0	0	4+	0	0	0
病例 2 弟	0	0	0	4+	2+	2+	0	4+	0	0	0	0

**2.2 吸收放散试验** 4 例病例吸收后的放散液均证实红细胞上有 ABH 抗原(表 2)。

**表 2 红细胞吸收放散试验结果**

	抗-A 放散液			抗-B 放散液			抗-H 放散液			结果
	AC	BC	OC	AC	BC	OC	AC	BC	OC	
病例 1	0	0	0	0	1+	0	W+	W+	1+	B, H
病例 2	1+	0	0	0	0	0	1+	1+	1+	A, H
病例 2 哥	1+	0	0	0	0	0	1+	1+	1+	A, H
病例 2 弟	0	0	0	0	1+	0	1+	1+	1+	B, H

**2.3 唾液血型物质检测** 4 例病例唾液中均检测出 ABH 血型物质(表 3)。

**表 3 唾液中和抑制试验**

	患者唾液+抗-A	患者唾液+抗-B	患者唾液+抗-H	结果
	AC	BC	OC	
病例 1	3+	0	0	B, H
病例 2	0	3+	0	A, H
病例 2 哥	0	3+	0	A, H
病例 2 弟	3+	0	0	B, H

**2.4 交叉配血试验** 4 例病例分别用盐水法、凝聚胺法、微柱抗人球法配血,病例 1 随机与 2 位 B 型献血者交叉配血相合,病例 2 随机与 5 位 A 型献血者配血主侧有不同程度凝集,次侧相合;病例 2 分别与 O<sub>HmA</sub> 型哥哥和 O<sub>HmB</sub> 型弟弟交叉配血显示相合。

**3 讨论**

通常情况下,孟买型和类孟买型是因正反定型不符、不规则抗体筛选试验阳性或交叉配血不合提示进行 H 抗原鉴定后发现。本文 4 例常规血型血清学鉴定正反定型不符,红细胞常规检测缺乏 ABH 抗原,唾液血型物质检测发现有 ABH 物质,通过吸收放散试验证实红细胞上有微弱 ABH 抗原,血清学证实 4 例均为类孟买型 H 缺乏分泌型,只是病例 1 血清中未检测到抗-H 或抗-HI。在实际孟买型和类孟买型鉴定过程中,建议在鉴定红细胞上是否有 ABH 抗原的同时应加做 Lewis 血型,若 Lewis 血型为 Le(a+b-)提示为非分泌型,可以不用留取唾液进行分泌液 ABH 血型物质鉴定,以节省鉴定时间;若为 Le(a-b+)或 Le(a+b+)提示为分泌型,应

取分泌液进行 ABH 血型物质鉴定;若为 Le(a-b-)可能是分泌型,也有可能是非分泌型,也应进行分泌液 ABH 血型物质鉴定。

类孟买型输血最好是自体输血或是找到相同血型的类孟买型输血,有学者提出因类孟买型抗-H 或抗-HI 多数为冷抗体,在 37℃ 不反应或反应较弱,可以与普通的同型献血者进行盲配,选择配血相合的献血者血液输注<sup>[5-7]</sup>。病例 1 因没有产生抗-H 或抗-HI,所以与同型 B 型能交叉配合,而病例 2 因抗-H 或抗-HI 较强,与多个同型 A 型配血均呈强阳性,但分别与同型 O<sub>HmA</sub> 和异型 O<sub>HmB</sub> 直系亲属交叉配血相合,先后两次输血无反应并且均有效,遗憾的是此例输血因病人没有继续住院而失去远期疗效观察机会。类孟买型患者选用能配合的血液输注尤为重要,本次选用异型类孟买型输血实践,为建立类孟买型稀有血型库,进一步扩大类孟买型互助输血范围可行性提供了重要参考。

**参考文献**

[1] 何子毅,邹文涛,刘赴平.红细胞 H 抗原缺陷型及其细胞功能研究现状.临床血液学杂志,2012,25(10):688-690.  
 [2] 池泉,唐舞,王长青,等.H 抗原缺乏血型的表型频率及分子遗传学分析.中国输血杂志,2006,19(6):445-448.  
 [3] 许志远,王涛.北京地区献血人群 ABO 亚型研究.北京医学,2013,35(8):712-714.  
 [4] 王鸿利,彭明婷.血型血清学检查//尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程.4 版,北京:人民卫生出版社,2015:118-143.  
 [5] Geoff D. ABO, Hh and Lewis systems. Human Blood Group. 2nd

ed.London;Black well ,2002;42-4710.

究.临床血液学杂志,2015,28(6):525-527.

[6] 向东,张雄民,朱自严,等.1 例类孟买血型的鉴定及输血.中国输血杂志,2004,17(4):275-276.

(2016-12-29 收稿,2017-03-25 修回)

本文编辑:李弘武

[7] 唐聪海,林小晶,胡晓明,等.4 例类孟买型血型血清学特点研

## · 个例报告 ·

# 一例类同种抗-D 抗体鉴定及输血效果评估

于建<sup>1</sup> 向东<sup>2</sup> 刘曦<sup>2</sup> 李志强<sup>1△</sup>(1.上海市交通大学附属第六人民医院 输血科,上海 200233;2.上海市血液中心)

**摘要:目的** 通过确定患儿血清中存在的不规则抗体的性质及效价,配合型输血,以评估其输血疗效。**方法** 应用试管法检测 ABO 及 RhD 血型,使用微柱凝胶法、凝聚胺、抗球蛋白法对患儿血清及放散液中的不规则抗体进行筛查鉴定,并测定血清中抗体的效价。**结果** 患儿血型为“O”CcDEe,血清及放散液中存在类同种抗-D,其血清中抗体效价为 8。随着给予患儿输注 RhD 阴性红细胞输注剂量与次数增加,患儿血红蛋白值逐渐增高,类同种抗-D 效价逐渐减低。**结论** 应根据类同种自身抗体特异性,选择输注其对应抗原阴性红细胞,才能确保临床输血安全性与有效性。

**关键词:**RhD 血型;同种抗体;自身抗体;输血疗效

**中图分类号:**R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**B **文章编号:**1004-549X(2017)9-1067-03

**A case of autoantibody with mimicking anti-D specificity and to evaluate its efficacy of blood transfusion** YU Jian, XIANG Dong, LIU Xi, LI Zhiqiang. 1. Department of Blood Transfusion, Affiliated Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China; 2. Shang Hai Blood Center. Corresponding author: LI Zhiqiang

**Abstract: Objective** Evaluate the efficacy of transfusion by determining the nature, potency of irregular antibodies and matched transfusion in pediatric patients' serum. **Methods** The ABO and RhD blood groups were detected by the tube method, and the irregular antibodies in the serum and the effluent of pediatric patients were screened and identified by microcolumn gel method, polybrene test and the method of anti globulin. **Results** The pediatric patients' ABO and RhD blood groups are "O" and "CcDEe" respectively. Specific autoantibodies D were found in the serum and elution. The antibody titer in serum was 8. With the increasing transfusion dose and transfusion times of RhD negative red blood cell for the pediatric patients, their hemoglobin were improved and the titers of antibodies decreased accordingly. **Conclusion** In order to ensure the safety and effectiveness of clinical transfusion, we should select the corresponding antigen negative red blood cells according to the specificity of the same kind of autoantibodies.

**Key words:** RhD blood group, alloantibody, autoantibody, effect of blood transfusion

类抗体能与所有人红细胞发生反应,是 1 种自身抗体,但与含有特定血型抗原的红细胞反应较强,这又具有同种抗体的特点。此类抗体在临床输血血型血清学检测中较为少见,现报道如下。

## 1 病例简介

患儿女性,84 d。患儿于出生后 d84,Hb 突降至 42 g/L,临床诊断为重度贫血(原因待查)入某市级儿科医院,为纠正贫血拟行输血治疗。当地医院输血前血型血清学检查:患儿 O 型,RhD 阳性,不规则抗体筛选试验阳性,直接抗球蛋白试验阳性,无输血史。家族史:患儿母亲与父亲均为 O 型,RhD 阳性,不规则抗体筛选试验阴性,体健、无自身免疫性疾病病

史。患儿母亲孕产史:G2P2,第 1 胎男婴,无新生儿溶血病;本患儿为第 2 胎,既出生后一般状况良好,无新生儿溶血病,近期无感冒、注射疫苗、服药史。

## 2 血型血清学检查

### 2.1 试剂仪器与方法

**2.1.1 试剂与仪器** 抗-A、抗-B 标准血清(单克隆抗体批号 20150815),抗-D(IgM)(单克隆抗体批号 20151814),抗球蛋白试剂(批号 20155001),抗-IgG(批号 20155102),抗-C3d(批号 20155201),抗-E(批号 20153201),抗-e(批号 20153301),抗-C(批号 20153002),抗-c(批号 20163101),红细胞不规则抗体筛选细胞(批号 20167028),红细胞抗体鉴定谱细胞(批号 20160927),低离子强度溶液(LIM)、凝聚胺、重悬液均是(批号 20167503),酸释放剂 A、酸释放剂 B(批号 20151231);以上试剂均来自上海血液生物医药有限责任公

司。凝胶卡 DiaMed (批号 5053.08.08, 达亚美公司)。DiaMed 专用孵育器、DiaMed 专用离心机(达亚美公司), KA-2200 小型台式离心机(日本久保田公司), SSW 型微电脑电热恒温水槽(上海博讯实业有限公司)

**2.1.2 方法** 血型鉴定、Rh 血型分型、直接抗球蛋白试验、间接抗球蛋白试验、红细胞不规则抗体筛选试验、红细胞不规则抗体抗体鉴定试验、酸放散试验、交叉配血试验、抗体效价测定等操作均按照输血技术操作规程(输血科部分)<sup>[1]</sup>和试剂说明书进行操作。

**2.2 实验结果**

**2.2.1 血型鉴定** ABO 正定型血型, O 型, Rh 血型表型: CcDeE。

**2.2.2 直接抗球蛋白试验** 广谱抗球蛋白试验(1+), 抗 IgG(1+), 抗 C3(-), 对照阴性。

**2.2.3 红细胞不规则抗体筛选试验** 患儿血清标本与抗体筛

选 I、II、III 号细胞盐水法均为阴性, 抗球蛋白微柱法均阳性(3+)。

**2.2.4 红细胞不规则抗体鉴定试验** 患儿血清标本及自身红细胞放散液标本分别与抗体鉴定谱细胞反应格局显示存在类同种抗-D, 见表 1。

**2.2.5 抗体效价测定** 患儿入院 d1、d3 血清标本分别与 RhD 阴性献血者红细胞进行抗体效价测定, 其结果分别为 8、4; 患儿入院 d1、d3 血清标本分别与 RhD 阳性献血者红细胞进行抗体效价测定, 其结果分别为 32、16, 见表 2。

**2.2.6 交叉配血试验** 患儿血清标本与献血者 O 型 RhD 阴性洗涤红细胞血标本交叉配血试验主侧在盐水介质中无凝集无溶血; 在凝聚胺、抗球蛋白介质中均有凝集、无溶血, 见表 2。

**2.3 输注情况** 患儿入院 d1, Hb 42 g/L, 输注洗涤红细胞 1U; 在入院 d3 Hb 升高到 47 g/L, 再输注洗涤红细胞 2 U; d16 Hb 升至 73 g/L, d 17、d 22 Hb 分别升至 84 g/L、108 g/L。

**表 1 血清及放散液在不同介质中的抗体反应格局**

编号	Rh					Kell		Diego		Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS					血清 1	血清 2	放散液	
	D	C	E	c	e	K	k	Dia	Dib	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	JK <sup>a</sup>	JK <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P1	M	N	S	s	Mur					
1	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	3+s	3+s	3+s
2	+	0	+	+	0	/	/	/	/	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	/	/	3+s	3+s	3+s	
3	+	+	+	+	+	0	/	+	/	+	+	+	0	+	/	+	0	+	0	+	0	+	0	3+s	3+s	3+s
4	+	+	0	0	+	/	/	/	/	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	/	/	3+s	3+s	3+s	
5	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	3+s	3+s	3+s
6	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	3+s	3+s	3+s
7	0	+	0	0	+	/	/	/	/	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	/	/	1+s	3+w	1+s	
8	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	/	/	3+s	3+s	3+s	
9	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	1+s	3+w	1+s
10	+	+	0	0	+	/	/	/	/	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	3+s	3+s	3+s

注: 0 表示阴性, + 表示阳性结果; 血清 1 方法学: 抗球蛋白试管法; 血清 2 及放散液方法学: 抗球蛋白微柱法; 血清 1、2 自身对照均为 3+s

**表 2 主测交叉配血试验及类同种抗-D 效价**

住院天数(d)	1	0 型 RhD 阴性	阴性	凝聚胺法		类同种抗-D 效价
				盐水法	抗球法	
		0 型 RhD 阳性	阴性	2+	2+	8
		0 型 RhD 阳性	阴性	3+	2+s	32
3		0 型 RhD 阴性	阴性	1+	1+	4
		0 型 RhD 阳性	阴性	2+s	2+	16

注: “3+s、3+w、1+s” 表示反应的强弱。IAT: 抗球蛋白法

**3 讨论**

自身抗体广义上是指机体自身免疫耐受到破坏, 导致免疫系统产生针对自己组织器官、细胞及细胞成分的抗体。而临床输血的血型血清学检测发现的自身抗体是指在患儿免疫调节功能紊乱的情况下, 血清中存在针对自身红细胞的抗体。通常情况下, 自身抗体无明显特异性, 可凝集自身红细胞以及同种异体红细胞<sup>[2]</sup>。近年临床输血相关研究表明在同种抗体和自身抗体之间还存在一种兼有两者特异性的抗体, 被称为类同种抗体。此类抗体在临床输血血型血清学检测中相对较为少见, 文献报道也较少。

通常在鉴定类同种抗体的特异性时, 往往会使用临床输血血型血清学检测中的放散试验, 后者对携带抗 IgG 抗体的红细胞进行放散并鉴别放散液中抗体的特异性, 可以区别同种抗体、类同种抗体、自身抗体以及药物抗体, 从而基本可以解释引起的直接抗球试验阳性的原因。因此, 放散试验在鉴别抗 IgG 抗体导致直接抗球试验阳性引起的温抗体型自身免疫性溶血性贫血的原因具有重要临床价值。本文病例报

道的患儿红细胞放散液使用微柱方法检测显示类同种抗-D 反应格局; 患儿血清使用微柱方法检测结果特异性不明显, 但使用试管法抗球蛋白介质方法检测显示类似于 RhD 同种抗体反应格局。著者认为红细胞同种抗体检测需使用多种方法进行检测, 有效地进行相互验证实验, 才能防止血清的红细胞同种抗体的漏检以及分辨其特异性。

类同种抗体可见于温抗体型自身免疫性溶血性贫血患者<sup>[3]</sup>。其类同种抗体特异性大部分集中在 Rh 血型系统, 如: 类同种抗-Ce、类同种抗-e、类同种抗-E、类同种抗-Ec、类同种抗-D 等, 而后者较为少见。

对于类同种抗-D 患者的输血治疗, 目前国内缺乏规范的临床输血指南或专家共识。Yu 等<sup>[4]</sup>报道 1 例类同种抗-e 患者输注 1 单位的 e 抗原阳性红细胞后, 未发生急性溶血性输血反应或其他严重的输血反应。Mary 和 Dwyre 等<sup>[5-6]</sup>认为选择类同种抗体的对应抗原阴性红细胞输注, 可以明显延长红细胞体内存活时间。向东等<sup>[7]</sup>认为倘若检出类同种抗体, 而患者红细胞却存在对应抗原, 则应选择对应抗原阴性红细胞输注, 不应考虑患者自身相应的血型抗原。Issitt 等<sup>[8]</sup>却认为如果患者血清含有类同种自身抗体, 不一定需输注对应抗原阴性红细胞。

本文病例报道显示为了提高患儿输血疗效, 减少输血反应, 著者使用患儿血清分别与 RhD 阴性红细胞、RhD 阳性红细胞进行效价强度比对检测, 其结果患儿血清与 RhD 阴性红细胞效价强度比 RhD 阳性红细胞明显降低。因此, 本例

## 军民融合提高血液保障水平\*

谭春泽 杨雪 李聚林<sup>△</sup> 傅明玮 刘丽娟 唐岸柳(解放军第 181 医院输血科, 解放军桂林血站, 广西 桂林 541002)

**摘要:**军民融合提高血液保障是合作双方以充分发挥各自资源与能力为基础,保障医疗临床用血需求与安全为目的所进行的一系列采供血和血液管理活动。我们主要采取共建献血屋、联合应对突发事件与季节性缺血和偏型与其他临床紧急用血情况,双方紧密配合、互通有无并加强血液管理、积极推广安全血液与自身输血等血液保护新方法和新技术,强调科学合理用血等内容与方式,近 10 年来,共同有效应对 8 起重大突发事件的血液保障,防范季节性缺血与临床紧急用血等能力增强,相互调血明显减少,异体输血率下降。2014-2016 年,本院每台手术红细胞用量从 0.819 8(11 753/14 339)U 减少至 0.564 9(9 545.5/16 896)U,全院每输血人次拥有红细胞量从 0.967 2(11 753/12 151)U 升至 1.070 4(9 544.5/8 917)U,输血不良反应从 0.17%(34/19 979)减少至 0.10%(15/14 976)(人次/袋),战备血液储存与军队血液卫勤保障工作也圆满完成。地方血站在整个合作过程中发挥了重要作用,军民融合提高血液保障水平确实可行,并且具有深远的战略意义和十分重要的现实与历史意义。

**关键词:**军民融合;血液保障;临床用血;血站;医院

**中图分类号:**R457.1 R193.3 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2017)9-1069-05

**Military and civilian integration to improve blood security level** TAN Chunze, YANG Xue, LI Julin, FU Mingwei, LIU Lijuan, TANG Anliu. Department of Blood Transfusion, No. 181 Hospital of Chinese PLA, Guilin Blood Station of PLA, Guilin 541002, China. Corresponding author: LI Julin

**Abstract:** Achieved by the integration of both military and civilian resources, reliable blood supply is a system combining blood collection and management, which aims to further ensure the safety in clinical blood application with adequate blood source. The establishment of joint military-civilian blood donation units has been our primary focus, which is designed to cope with unexpected abrupt events, seasonal shortage of blood supply or lack of certain blood types and other clinical emergency blood applications. Close military-civilian co-operation was achieved with frequent exchange of information and materials. Meanwhile, we sought to reinforce blood management by actively promoting new approaches and technologies such as safe blood transfusion and autologous blood transfusion. We also introduced thrombus stretch chart (TEG) detection to our system, emphasizing scientific and rational blood applications. Over the past decade, we joined force and successfully performed blood supply management for 8 major emergencies while maintaining steady improvement coping with seasonal blood shortage and clinical emergency blood applications. We are glad to report a

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.033

\* 基金项目:广西医药卫生课题(Z20170978);△通信作者:李聚林(1955.02-),男,主任技师,主要从事采供血管理与输血安全研究,电话:0773-2080673 Email:l3jl@163.com

患儿选择 RhD 阴性洗涤红细胞输注治疗。在治疗期间,患儿体内的类同种抗-D 效价强度从 d1 时 8 到 d3 时下降至 4;主侧凝聚胺、抗球蛋白交叉配血凝集反应强度也逐渐减弱,外周血血红蛋白值逐步升高至正常,且无输血反应,由此进一步说明。

总之,我们认为对于携带类同种抗体患者需严格的控制输血指征,能不输血尽量不输血;倘若病情需要必须输注时,应选择 RhD 阴性红细胞成分输注具有安全性与有效性。

## 参考文献

- [1] 汪德清,宫济武,李志强,等.输血技术操作规程(输血科部分).北京:人民卫生出版社,2016.
- [2] 胡丽华.检验与临床诊断输血分册.北京:人民军医出版社,2009:92-99.
- [3] 章昊,葛洪达.Rh 类抗体在临床输血中的研究.实验与检验医学,2014,32(1):14-16.
- [4] Yun HK, Cho D, Chae MJ, et al. No hemolytic transfusion reac-

tions in a patient with the apparent anti-e autoantibody following transfusion of packed red cells with CcDEe phenotype. Korean J Blood Transfus, 2007, 18(3):116-120.

- [5] Mary A. Direct Antiglobulin Testing: Systematic Problem-Solving // Sally V. Rudmann Serologic Problem-Solving: A Systematic Approach for Improved Practice 1th, AABB Press Bethesda, Maryland, 2005, 87-88.
- [6] Dwyre DM, Clapper A, Heintz M, et al. A red blood cell autoantibody with mimicking anti-E specificity. Transfusion, 2004, 44(9):1287-1292.
- [7] 向东,刘曦,王健莲,等.红细胞自身抗体的血清学特点分析及配血对策.中国输血杂志,2008,21(12):926-927.
- [8] Issitt PD, Combs MR, Bumgarner DJ, et al. Studies of antibodies in the sera of patients who have made red cell autoantibodies. Transfusion, 1996, 36(6):481-486.

(2017-03-07 收稿, 07-20 修回)

本文编辑:李宜蔓

significant reduction, trend over both allogeneic blood transfusion and blood exchanged/transported between agencies due to supply shortage. Reviewing data from 2014 to 2016, we discover that, in our hospital, the amount of erythrocytes consumed for each operation decreased from 0.819 8 U (11 753/14 339) to 0.564 9 U (9 545.5/16 896); The erythrocyte amount transfused each dose increased from 0.967 2 U (11 753/12 151) to 1.070 4 U (9 544.5/8 917); Adverse reactions caused by blood transfusion decreased from 0.17% (34/19 979) to 0.10% (15/14 976) (person/bag); War-ready blood storage and military blood medical support were also completed. We hereby conclude that: Local blood banks played an important role in the whole process of cooperation; military-civilian integration to improve blood supply is a practical and feasible approach and presents long-term strategic significance as well as unignorable practical and historical significance.

**Key words:** military and civilian integration; blood protection; clinical use of blood; blood bank; hospital

随着我国医疗体制改革深化和社会保障体系的逐渐完善,以及医疗水平的进步,人们的健康意识与消费观念也发生明显改变,伴之而来的是临床用血增加、血液供求形势日趋紧张。由于异地用血救济补偿机制还未在全国全面普及,无偿献血工作面临新的瓶颈、问题和挑战。区域联合、条块结合、行业组合、军地合作等正越来越为整个输血行业所关注;各方只有以合作为抓手,创新机制,增强活力,建立同舟共济、互利互惠的伙伴关系,才能实现联动式发展<sup>[1]</sup>,改变临床供血不足的现状与局面。现就我们开展军地合作、军民融合提高临床用血保障水平的作法与体会报道如下。

## 1 军民融合搞好血液保障的迫切性与重要性

军民融合提高血液保障水平的迫切性与重要性主要基于以下几方面原因:1)血液资源宝贵,不可易得,不可即采即用,检测与制备要求高,保存条件苛刻,效期有限,排他性强,应用广泛,且不能以他物代替,作用特殊<sup>[2]</sup>;2)遗传病、血液病、恶性肿瘤、器官移植、创伤等患者不断增加,患者输血次数多与用量大,常导致大量备血和用血;3)自然人口和城市人口增长率提高、人口老龄化问题突出、医疗保障覆盖面扩大,防病治病用血需求日趋紧张;4)多地区缺血已成常态化,阶段性缺血常有发生,自然灾害、群体流行病等各种非军事突发事件频繁,影响面广,危害性大;5)国际形势风云变幻,不稳定因素长期存在。血障保障既是 1 个特殊而庞大的社会民生工程,同时也是 1 个特别令人关注的难题。军地合作、军民融合乃是搞好血液保障十分重要的内容。

## 2 军民融合搞好血液保障的内容与方式

作为军队血站,我们主要是担负突发事件与战备血液储备等军队血液卫勤保障,以及平时的临床用血、人才培养、技术储备等任务。与地方血站不同的是,本站与驻军医院结合在一起,既承担采供血机构的无偿献血组织动员、血液采集及检测、成分血制备及保存等各项工作,还承担医院输血科的所有业务,人少、事多、任务重。地方血站以专业性强、工作较稳定见长。各个地方血站经近 10 多年国家多次重点投资建设之后,采供血环境已全面改善,综合能力明显提高,固定献血屋与流动采血网点多,采血作业灵活、方便,并且献血者分布广、资源丰富、人员相对稳定,管理也日益规范,有利于应急活血库和稀有血型库建设。所以军地血站合作具有较大的优势与较好的血液保障效果。这些年来,我们从共建爱心献血屋、相互支持与配合应对突发公共事件与临床紧急

用血、联合开展血液保护新技术、节约用血与科学合理用血等方面加强合作,合作内容和形式日趋多样化和注重实质。

**2.1 军队血站与所在驻军医院积极支持地方医疗工作** 由于本站是与驻在地的军队医院结合在一起,集采供血和输血科工作为一体的机构,结合这一优势,为支援与配合地方采供血和医疗卫生活动,直接或间接地采取了以下合作内容和形式。

**2.1.1 共建爱心献血屋** 为深入贯彻《献血法》和新时期双拥共建工作有关指示精神,切实做好当地的无偿献血工作,促进精神文明活动的深入开展,结合军地双方的实际,本着充分发挥各自优势,共同发展,共同提高的原则,地方血站(甲方)与本站(乙方)于 2010 年 12 月 23 日签署了《军民共建献血屋合作协议书》,在当地交通便利、环境优美、人流量较大的江边公园附近共建 1 个约 70 m<sup>2</sup>的爱心献血屋,献血屋由本站提供场地、房屋建设与装修及献血屋外部环境安全,保障水电供应和电视、电话通畅,确保献血工作的顺利进行。地方血站严格遵守《血站管理办法》和《血站质量管理规范》,确保献血屋的所有工作流程符合国家相关标准要求,保证血液质量安全,并负责献血屋采血设施的配套和献血流程的设置,同时为保障献血工作的顺利进行提供必须的物质供应和负责献血屋日常工作管理等。献血屋采集的全血,全部及时送回地方血站检测、成分制备、血液保存与供应临床。从 2011 年 3 月-2016 年 12 月,献血屋共采集 12 150 人次血液计 16 876.75 U。献血屋采集的血液优先满足合作医院的用血需求。献血屋的重要作用主要体现在:1)既是当地无偿献血宣传窗口,又是拥军爱民的文明窗口,能让广大军民了解更多的无偿献血政策法规、血液生理、献血与健康等科普知识。2)采集的血液不仅有效地缓解了本院临床用血,也在一定程度上改善了当地的用血环境,是当地无偿献血的 1 个重要组成部分,建立军地联动补充血液机制,以解决平时血液偏型、血荒、急救用血等难题。3)能更好地完善血液应急保障机构,锻炼 1 支有组织、有觉悟、扎实有效、可以随时待命的应急采供血队伍,确保应对突发性自然灾害以及军事或非军事事件的血液保障工作。4)便于来桂或来本院体检、疗养、看病、休假、探亲、旅游、开会学习等各类零散人员的无偿献血,全方位拓展稀有血型血液库存,以应对急救所需。5)军地双方血站工作人员相互学习和沟通交流的重要场所。除了为来本院治疗的患者亲友间的互助献血与其他形式的无偿献血(者)提供了极大的便利,甚至利及了邻近一些医院患者及其亲属献血用血外,献血屋工作人员的文明与规范形

象,伴随温馨与和谐的环境,成了当地 1 幅靓丽风景。

**2.1.2 调济血液与组织部队官兵无偿献血支援地方** 每年的寒暑假以及学生期末复习考试期间,通常是临床用血最为紧张时期。地方血站的困难也是我们的困难,地方上血液紧张,我们同样也较为被动,其结果将直接导致本院(站)血液偏型,某种或多种血液库存严重不足,以致难以应对临床紧急用血和突发事件用血需求。所以,我们除了自己设法多采血,适当增加自己库存,必要时还支援地方医院临床用血。如 2007 年 4 和 9 月先后 2 次共调出 190 U(A 型 30 U、B 型 30 U、O 型 110 U 和 AB 型 20 U)支援地方应对突发事件。此外,由本站牵头,军地血站共同到部队开展无偿献血活动,如 2012 年元月(春节前夕)到驻桂某部采集血液 388.5 U,确保地方在应对季节性缺血时临床紧急用血和特殊用血的需要。

**2.1.3 积极开展 6.14 世界献血者日活动** 每年的 6.14 世界献血者日,军地血站或携手共办纪念活动,或互派代表参加各自活动。2017 年 6 月 14 日,本站举办的纪念活动更是得到桂林联勤保障中心和医院领导的指导和支持,中心领导和医院领导带头无偿献血,在他们的感召下,活动期间共有 218 人参加无偿献血,献血量达 289.5 U。

**2.1.4 积极促进科学合理用血与血液保护新技术的应用** 随着临床用血的较快增长以及血液供应日益紧张,科学合理用血和血液保护新技术越发引起各地政府与采供血机构的重视。本站于 2005 年即率先全面开展血液去白细胞技术,2015 年病毒灭活血浆开始推广应用,并取得明显效果,其中去白细胞红细胞成分输血技术获医院 2010 年度新技术二等奖。地方血站结合献血者血液核酸检测的开展,也相继开始血液去白细胞工作,保障了全市各医院的用血安全。为了减少区域供血压力,降低异体输血风险,本站积极配合,努力推动与促进临床开展各种自身输血技术。2014-2016 年,本站所在医院每年自体输血平均 464 例;2017 年 1-9 月自体输血又比上年同期呈较大幅度增长,其中储存式自身输血(preoperative autologous blood donation, PABD)增长了 61.6%,执行科室主要在泌尿外科、产科、妇科与心胸外科。自体输血增长态势与区域临床用血紧张程度正相关。自体输血给患者增加了安全感,并减少了输血经济负担以及因为临床缺血而延误的疾病治疗时间,也带动了外科无血手术、微创手术的迅速发展。造血生长因子如红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte stimulating-factor, G-CSF)<sup>[3]</sup>以及生血合剂等药物的应用,对某些严重疑难输血患者也增加了获得治疗等到配血相合的机会与生存的希望。为了防止血浆类血液制品的滥用,2015 年本站(科)推广普及应用血栓弹力图检测(TEG)<sup>[4]</sup>,并明确规定凡申请输注血浆、血小板、冷沉淀的患者,必须做 TEG 普通检测,如果没有 TEG 检测结果,我们可以不备甚至拒发血浆、血小板、冷沉淀等血液成分。继我们之后,桂林市有的大医院也添置了 TEG 检测仪。

由于综合采取上述各种措施,本院 2016 年比 2014 年手术量增加 2 557 台次,升幅为 17.83%[(16 896-14 339)/14 339],而用血量同比却下降了 18.80%[(11 755-9 545)/11 755 U],以红细胞计,相当于每台手术由 2014 年平均用血量

0.82(11 753/14 339)U,减少至 2016 年 0.56(9 545.5/16 896)U;而全院每输血人次红细胞输注量却从 2014 年的 0.967 2(11 753/12 151)U 升至 2016 年的 1.070 4(9 544.5/8 917)U,提高了输血的科学合理性。2014-2016 年从地方血站调拨血量逐年下降,其中红细胞类 2016 年比 2014 年减少了 18.38%[(2 862-2 336)/2 862,U],血浆减少了 59.34%[(6 877-2 796)/6 877 U]。此外,输血不良反应发生率也从 0.17%(34/19 979)降至 0.10%(15/14976)(人次/袋)<sup>[5-6]</sup>。

**2.1.5 本院职工积极参加无偿献血诠释无偿献血与科学用血正能量** 积极开展集体无偿献血已在本院成为常态,而且多数情况都在突发事件或驻地血液较为紧张时。通常由院领导带头,医务处负责监督落实,效果甚好。全院目前共有各类(包括军人、现役与非现役文职人员、聘用制人员等)员工 2 000 余名,2011-2016 年参加无偿献血者共 1 402 人(次),平均每年无偿献血人数占本院职工总数 10%以上。通过参加无偿献血可以使广大医务人员进一步了解无偿献血的重要性与实际意义,从而自觉加强科学合理用血,倍加珍惜血液与爱护生命,更好为伤病员服务。同时给患者和家属以良好的示范和教育作用,改善医患关系,也给家庭乃至社会带来更多正能量,无偿献血毕竟是利国、利民、利家的事情。

## 2.2 地方血站对军队血站及其医院工作的支持

**2.2.1 积极配合应对突发公共事件伤员抢救** 本站所在的医院集医、教、研和预防、康复、保健于一体的军队综合性三甲医院与“全国最佳百姓放心示范医院”,具有全军乃至全国性治疗中心、技术中心与培训基地等 10 多个,包括全军烧伤研究所培训基地及广西首支烧爆伤救治卫生应急医疗队。驻地辖区与附近地市的突发公共事件,尤其是烧爆伤患者多安排在本院救治,或在第一时间由本站所在医院出诊抢救。2008 年 8 月-2017 年 10 月,本院应对非军事性突发重大事件 8 起,以严重烧爆伤为主,大多数伤者最先面临的是急需大量成分输血。当本站发出抢救用血求援时,地方血站总能及时调入大量血液:1)2013 年某地爆炸伤及的 11 人送入本院急救,5 人合计使用红细胞悬液与少白细胞红细胞悬液 228 U,血浆 107 930 mL,冷沉淀 19 U,单采血小板 6 人份,地方血站在第 1 周内仅血浆就支援了我们 56 550 mL;2)2016 年本站所在医院对 1 家 5 口人因煤气瓶漏气引发火灾均被大面积烧伤施行抢救时,地方血站在前后半个月共调配血浆 34 700 mL,确保了患者的抢救用血与成功救治;3)2016 年 10 月,某地锅炉爆炸,铁水严重烧伤 4 人,入院头 3 d 就用去地方血站调拨的血浆 36 350 mL。

**2.2.2 大力支持和弥补军队血站平时临床供血的缺口** 由于本站所在的医院规模大,平时用量较多的临床科室有血液科、消化科、创伤骨科、烧伤科、心胸外科、妇科、肾内科、普通外科等 10 多个,加上战备储血与突发事件用血、常态化的季节性缺血和血液偏型,以及本站只能在体系部队采血等原因,难免有时无法保障采供血平衡,缺口部分多数靠地方血站的弥补。2011-2016 年,地方血站平均每年支援本站的血液>2 000 U、单采血小板>100 个治疗量。



**2.2.3 切实做好军民共建爱心献血屋各项工作** 2011 年 3 月爱心献血屋投入使用至今,6 年多来双方通力合作,成绩突出,献血屋献血人数最多达 339 人/月,献血量 491.5 U。献血屋 2 名工作人员均由地方血站安排,负责献血接待、咨(征)询、体检、采血前检验、采血和献血屋管理,接血车把采集到的血液及时送回地方血站处理。工作人员着装整洁,有礼有节,工作耐心、细致、有条有理、服务规范,献血环境干净、整洁、亮丽与温馨,临时被抽调到别处采血时,还主动通知本站改到何处献血,其责任心与敬业精神深得好评。献血屋所采集的血液 70% 左右(有时甚至更多)提供给军队血站发往所在医院使用。

**2.2.4 加强血液管理促进本地区采供血与临床输血稳定协调发展** 从 2000 年开始,地方血站就启用了采供血计算机管理系统,2007 年与所辖的二甲以上(含二甲)所有医院输血科联网,直接或间接地促进了本地区采供血与临床输血稳定协调发展。本站也于 2011 年启用采供血与临床输血管理信息系统,通过内部局域网了解与管理采供血与临床用血信息以及输血效果评估等,并强化血液预警系统建设,确保临床用血与安全。

**2.2.5 密切交往,增进合作** 地方血站注意密切与本站(科)的业务沟通与合作交流,有问题及时告知或交换意见,如献血屋重新装修歇业、调整互助献血具体做法与要求,联合开展血液库存信息管理、核酸检测技术应用等。举办各种类型的输血管理培训班、学术研讨会时,都主动邀请本院或本站(科)参与,如桂林市医疗管理暨血液安全管理工作会议和采供血管理培训会等。并且双边多次互相组织参观学习,彼此介绍新技术,讨论新问题,举办联谊活动。每年建军节期间来慰问本站及其所在医院也成为地方血站的 1 个“规定动作”,不但对本站的血液管理、业务能力和文化建设产生了一定的激励、鼓舞作用,对我们科学、有效开展采供血与临床输血工作具有借鉴、促进和指导意义,同时更密切了军民融合的鱼水关系。

### 3 军民融合对提高血液保障水平的作用与效果

**3.1 增进了军地血站相互间的了解,使双方输血管理与业务合作更加和谐与紧密** 如本站所在医院在抢救伤患者或临床用血较紧张时,地方血站都会及时调拨血液给予支持,甚至有时还专门派送血车直接送达。爱心献血屋采集的血液也优先满足本站要求。对于本站需要的 Rh 阴性血、血浆与单采血小板等成分血,地方血站想方设法给予满足。本站通常也及时帮当地血站使用其富余的 Rh 阴性血液等。

**3.2 缩短了军地血站之间血液管理的差距,促进双方业务能力提升** 地方血站的综合能力建设,由于近些年来不断得到国家和当地政府的大力支持,包括筹建新站与大型检测项目的运作和启动(如核酸检测系统、冷链系统等),使采供血管理能力与血液安全取得了质的飞跃。正是在与地方血站的交往与合作中本站也受益匪浅,本站(科)的建设过程因此也有了更高的标准和要求,方向和目标也更加清晰明朗和易于践行。如今本站已逐渐发展成为具有一定规模,集采供血和临床输血、血型参比、输血研究为一体的重要机构,并取

得上级有关部门的肯定,2016 年本站(科)荣获桂林联勤保障中心政治工作部授予“基层建设先进单位”,获医院授予“安全管理先进单位”和“为部队服务先进单位”。

**3.3 树立了军地血站共谋血液事业发展意识,增强了双方共同提高本地输血医学水平的责任担当** 合作提升了军地血站共抗风险的能力,军民融合则使得双方在血液保障工作中相互支持、密切配合,不分你我,共谋发展,一同担当,保百姓平安,为人民造福。在知己知彼的前提下,军地血站各自科学合理地制定各项采供血业务计划,完善管理体系,并都在尽力为对方分忧减负,实质是为驻在地的血液安全与血液保障多作一点奉献。通过这些年来军地合作的有效开展,当地的采供血管理与临床输血服务水平取得了令人瞩目的进步和发展:军地双方血站的采供血综合管理能力稳步提升,临床输血服务更加规范,处理特殊与疑难采供血与输血问题更加熟练与科学,采供血技术水平和输血从业人员的自信心不断增强,抗击突发事件的能力也在提升,对血液管理和血液保障的担忧也减轻了许多。尽管缺血的大背景没有改变,有了地方血站的鼎力支持,与本站持续开展自体输血和其他节约用血技术并取得临床各用血科室的积极配合,确保了临床用血的需要与安全,从未发生过因为血液供给问题的医疗纠纷。需要强调的是在保障了本院临床诊疗用血供应的同时,本站承担的战备血液储存与军队血液卫勤保障工作也圆满完成。

### 4 军民融合提高血液保障水平应注意的问题

**4.1 军民融合提高血液保障既不能过于依赖对方,也不能只求短期利益和效果** 在建立与完善各自自给自足采供血能力水平和血液安全与血液保障长效机制的前提下,重在考虑非常时期与非常情况下复杂环境中的合作手段与方法,以更好应对各种突发应急公共事件和其他意外紧急用血情况的发生。

**4.2 军民融合提高血液保障水平不等于完全满足彼此或区域临床用血需要与安全需求** 首先要努力做好各自的血液管理与血液保障工作,尤其是推进无偿献血事业不断地持续与健康稳定发展。通过完善、周密的采供血计划,加强无偿献血宣传,提高献血服务和业务技术水平,争取地方政府部门积极参与和有效管理力度,增进与社会各界及各单位团体的广泛支持和配合,形成良好的社会无偿献血氛围,才能真正保障血液需求,保证有效的应急用血储备。

**4.3 军民融合双方要不断加强理解与沟通、求同存异** 由于军地血站具有不尽相同的采供血管理的相关要求与规定,或存在某些具体问题与情况,因此欲达成合作意愿或解决某些(个)问题或矛盾时,切忌求全责备,面面俱到。

**4.4 合作的基础是协商、理解、沟通** 妥善处理合作过程中可能发生的问题,包括契约或协议的终止、续订与某些条款的适当调整、补充和修订。

### 5 结语

军民融合可以提高血液保障能力,规范临床用血管理,减少血液浪费,使血液能更安全、更有效地发挥其应有作用,

尤其在应对突发公共事件和各种应急用时,能更好地化解血液严重不足或短期缺血等重大问题,克服与改变“单兵作战”、“孤军奋战”上的短板与薄弱环节,形成区域联盟甚至大范围资源组合,共同缔造坚实与稳定可靠的血液保障。我们坚信,军民融合提高血液保障能力的路子将越走越宽广,并具有深远的战略意义和十分重要的现实与历史意义。

### 参 考 文 献

- [1] 韩洁,李延霞,刘华,等.为世界经济繁荣稳定把握好大方向.解放军报.2016-9-5;5.
- [2] 郑忠伟,蔡辉,王槊.应急状态下的紧急血液保障和血液安全.中国输血杂志,2008,21(8):571-573.

- [3] 汪德清.造血生长因子的临床使用//刘景汉,汪德清.临床输血学.北京:人民卫生出版社.2011:108-122.
- [4] 谭春泽,杨雪,李鹏社,等.血栓弹力图检测与临床科学合理用血的关系.微创医学 2016,11(4):483-486.
- [5] White M, Barron J, Gornbein J, et al. Are red blood cell transfusion associated with nosocomial infection in pediatric intensive care units? *Pediatr Crit Care Med*, 2010, 11(4):464-468.
- [6] Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crit Care Med*, 2008, 36(9):2667-2674.

(2016-11-20 收稿, 2017-09-01 修回)

本文编辑:蔡辉

## · 输血管理 ·

# “互联网+无偿献血”综合管理模式的建立与应用

赵冬梅<sup>1</sup> 朱永宝<sup>2</sup> 李雅静<sup>3</sup> 黄潇<sup>3</sup> 杨金本<sup>1</sup> 戚海<sup>3</sup> 陈莉<sup>3</sup> 何路军<sup>3</sup> 黄海龙<sup>3</sup>

(1.秦皇岛市中心血站,河北秦皇岛 066000;2.山东省血液中心;3.河北省血液中心)

**摘要:**把互联网和信息通信技术有机融合搭建“互联网+无偿献血”综合管理平台,在采供血过程和献血服务已被广泛应用。我们就国内各采供血机构“互联网+无偿献血”综合管理模式的现状与展望作一综述,以推动“互联网+”管理模式在无偿献血中建立与应用。

**关键词:**“互联网+”;无偿献血;平台建设;献血管理

**中图分类号:**R193.3 TP393.4 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2017)9-1073-03

**“Internet+ unpaid blood donation” integrated management platform** ZHAO Dongmei<sup>1</sup>, ZHU Yongbao<sup>2</sup>, LI Yajing<sup>3</sup>, HUANG Xiao<sup>3</sup>, YANG Jinben<sup>1</sup>, QI Hai<sup>3</sup>, CHEN Li<sup>3</sup>, HE Lujun<sup>3</sup>, HUANG Hailong<sup>3</sup>. 1. Qinhuangdao Blood Station, Qinhuangdao 066000, China; 2. Shandong Blood Center; 3. Hebei Blood Center

**Abstract:** The Internet and information communication technology of organic integration “Internet + unpaid blood donation” integrated management platform, and blood donation service has been widely used in the process and blood donation.. We domestic blood services “Internet + unpaid blood donation” integrated management mode of review summarized the current situation and prospect, to promote the “Internet +” management mode in the establishment and application of unpaid blood donation.

**Key words:** “Internet +”; unpaid blood donation; platform construction blood donation management

“互联网+”是把互联网平台和信息技术与采供血工作有机结合起来,从而提升工作效率和对献血者服务能力。截至2015年12月,中国网民规模达6.88亿,互联网普及率达50.3%,半数中国人已接入互联网,其中有90.1%的网民通过手机上网,互联网对整体社会的影响已进入新的阶段<sup>[1]</sup>。2016年6月14日第13个“世界献血者日”,在国家卫计委与中国红十字总会、中央军委后勤保障部卫生局于5月18日联合印发的《关于组织开展2016年“世界献血者日”宣传活动的通知》中提出,充分利用全媒体互联网平台,大力宣传无偿献血先进人物和典型事迹,弘扬献血者无私奉献、献血救人的人道主义精神,传递社会正能量;完善信息化建设,提高服务能力、服务意识、服务质量和无偿献血者满意

度;优化服务流程,探索建立“互联网+无偿献血”服务模式,为献血者提供个性化无偿献血服务。由此可见,在新形势下采供血机构除员工对每1位献血者做好面对面的贴心服务外,还应不断探索利用传播速度快、覆盖面广、针对性强、便捷高效等特点的互联网及现代通信技术,在献血服务、献血宣传、献血者招募和保留以及预约献血等管理领域中的应用,使更多的爱心人士参与无偿献血,建立1支相对固定的无偿献血者队伍,以有效保障临床用血的需要。

## 1 官网、微博、微信+献血宣传<sup>[2]</sup>、招募、预约献血、献血服务

**1.1 官方网站** 绝大多数采供血机构均建立了官方网站,血站利用官网除了树立、宣传自我形象、党建和精神文明建设、工作动态等内容外,还实现了献血宣传<sup>[3]</sup>、招募和服务

功能<sup>[4]</sup>。

**1.1.1 献血结果查询** 与血站采供血信息管理系统对接,实现了献血者在官网上自主查询个人的献血信息、献血结果等。

**1.1.2 个体、团体预约献血** 献血者或爱心市民通过官网申请登记预约献血。工作人员通过电话指导预约献血者就近献血。

**1.1.3 献血者、用血医院满意度调查** 献血者 24 h 随时上官网实现服务满意度测评,对给予不满意等次的献血者逐一电话回访,提升了满意度测评的质量。采用网上评价与电话征求意见相结合,由各用血医院血库负责人定期网上测评,也可由岗位人员直接电话测评。

**1.1.4 志愿者管理** 申请加入无偿献血志愿服务组织的个人,可通过官网首页“志愿者加入”实现网上报名,定期组织培训,纳入志愿服务组织管理。

**1.1.5 献血服务** 通过官网可自助查询献血地点、献血流程、血费返还报销流程、库存血情况等服务。

**1.2 微博** 通过关注机制分享简短无偿献血实时信息的网络平台。内容设计如今日献血指引、献血预告、今日献血、血液库存等条目。

**1.3 微信公众平台** 用手机扫描二维码,即可关注平台。

**1.3.1 平台内容** 如每日献血指引、献血常识、献血地点、近期活动发布等,同时实现献血满意度调查、节日祝福慰问等。

**1.3.2 增设微信服务号** 实现微信献血预约、结果查询、了解献血相关知识。

**1.3.3 志愿服务者管理** 包括志愿者申请、二维码签到、记录服务工时、个人工时查询等功能。

**1.3.4 献血地点导航** 献血者不仅通过官网查询到献血地点信息,而且直接使用道路导航至献血地点。

**1.3.5 预约献血时间和机位** 献血者不但可以直接在网上预约献血,而且献机采成分血还可以在网预约献机采的具体时间和机位。

**1.3.6 预约和招募机采成分献血者** 如各采血屋设有“机采预约”二维码,预约献血者扫描二维码,负责预约工作人员很快通过验证请求,同时主动与献血者联系预约成分献血。

## 2 热线、短信、互联网综合平台+献血咨询、献血检测结果报告、献血者满意率调查等

除采血现场面对面献血咨询服务外,还可以利用互联网、短信平台、热线打造的献血服务平台<sup>[5]</sup>,能够实现为献血者提供更加贴心的服务。

**2.1 献血咨询** 广大市民和献血者可可通过服务平台人工咨询献血政策和法律法规、知识问答、献血地点、血费返还政策、服务评价、献血检测结果、志愿服务等项目。

**2.2 献血检测结果报告** 通过自动发送短信回告献血者本人献血结果合格。对献血后血液检测不合格者,包括转氨酶、乙肝、丙肝和梅毒及核酸检测结果,工作人员用统一标准话术热线逐一电话回告献血者本人。对艾滋病检测结果(疑似)阳性的献血者不做主动回告。若本人咨询或面谈,工

作人员认真核实疾病预防控制中心复检结果后,由专人回告献血者本人。

**2.3 满意度调查** 开展献血者满意度调查是采供血机构了解自身所提供的服务是否与献血者心理预期相符的程度,从而发现并改进不足,以达到让献血者满意的目的。

**2.3.1 献血者满意度调查及回访<sup>[6]</sup>** 献血者献血 20 min 后 100% 自动短信回访,请献血者对本次献血服务作出评价。对回复“不满意”和“非常不满意”的献血者,由工作人员通过热线逐一进行电话回访<sup>[7]</sup>,询问不满意的原因,同时征求意见和建议,反馈相关部门,考核并持续改进。

**2.3.2 用血医院满意度调查** 利用献血服务平台实现临床用血直供医院满意度调查。为血库负责人发送短信,对回复不满意、非常不满意工作人员用热线电话回访,同时征求意见和建议。

**2.4 关爱活动** 利用服务平台对献血者及献血组织者、志愿服务者开展关爱、联谊和保留活动。策划关爱活动后,通过服务平台发送活动短信,接受活动电话咨询,受理活动报名和活动前电话确认,组织实施献血活动。另外,通过服务平台发送节日、生日祝福,对上一年度献血间隔期满者发送再次献血提醒短信。

**2.5 矫正库存血偏型** 当库存血偏型时<sup>[8]</sup>,通过筛选献血目标人群,发送献血短信,接受献血咨询,献血地点指引,以便尽快纠正血液库存偏型。

**2.6 志愿服务信息化管理** 通过互联网、QQ 群、微信群实现了包括无偿献血志愿服务者报名、建档、预约服务、工时记录和统计、晋级等功能。

**2.7 献血宣传招募** 在一年两度献血淡季,利用服务平台策划和实施多种形式的献血宣传招募活动<sup>[9]</sup>,发布献血活动消息,受理热线活动咨询,实施献血活动。

## 3 互联网+献血信息共享、血费异地报销和出院即报

借助互联网开辟 1 条虚拟专用网络(virtual private network,VPN),即在公用网络上建立专用网络,进行加密通讯,此项技术比设网络专线成本低、安全等优势实现远程交互。采用这一技术,早在 2006 年河北省就实现了献血信息互联<sup>[10]</sup>,献血信息区域一体化为河北省采供血机构进一步工作提供了便捷,比如献血统计分析<sup>[11]</sup>、避免间隔不够重复、频繁献血等。在此基础上,2012 年河北省又实现了更加快捷、便利<sup>[12]</sup>,简化报销程序,降低报销成本<sup>[13]</sup>的省内采供血机构间血费返还异地报销,最大限度地惠及无偿献血者<sup>[14]</sup>,对无偿献血工作顺利开展起到积极促进作用<sup>[15]</sup>。2014 年又进一步向临床用血医院延伸,实现了血费出院即报或出院时自动减免血费,为用血的献血者及其相关人员报销血费提供了更加便捷的服务。根据京津冀协同发展战略,目前正在推进京津冀献血信息联网,继而逐步实现京津冀血费异地报销和出院即报。

## 4 互联网+采供血冷链监控、远程视频指挥系统

**4.1 采供血冷链监控** 国家对采供血过程中血液储存和运输过程的温度有明确的规定。通过互联网集成的采供血冷

链监控系统能够实现从血液的采集、储存、运输过程对血液全程实时温度监控,确保保存血液符合规定温度的要求。

**4.2 采供血远程视频指挥系统** 随着互联网和通讯技术的不断发展,该系统能够对流动采血车的行驶过程和停放采血点实时定位,对采血场所实时全方位监控,并通过语音系统能够指挥现场处置应急事件和献血反应。

## 5 通信+自动语音服务

将献血政策和法律法规及相关知识、献血地点、血费返还政策及需要提供的资料信息等录入语音系统,并与采供血机构采供血信息管理系统对接,献血者或爱心市民可通过热线按操作音提示,分步实现自动语音咨询和献血检测结果查询服务。

## 6 其它

**6.1 献血者自助献血登记系统** 无论初次或多次献血者,通过刷二代身份证即可显示个人基本信息,按系统提示轻松实现个人资料输入和修改,完成健康征询表内容填写后,只需“提交选项”,体检医生即可在体检前打印出该献血者的《献血征询体检登记表》,有效地减少了献血者填写表格和排队等候的时间,同时健康征询表不易理解的内容自动解释说明,使献血者在充分理解内涵的基础上进行选择。

**6.2 无偿献血爱心卡** 此卡可为一卡多用,如银行卡大小,献血者可插入卡包随身携带,终身使用,节约成本。献血者建档发卡,成为了该献血者今后的献血档案,包括献血时间、体检、化验、采血量、复检结果、献血总量、下次机采及全血采集时间提示等。

**6.3 血细胞分离机信息化联网** 血细胞分离机数据联网主要是实现“四个”功能:1)实现血细胞分离机采集机采血小板全过程电脑监控;2)实现献血者、原辅材料、仪器设备、操作人员、操作过程可追溯性;3)实现采集数据的计算机管理及信息电脑备份长期保存;4)实现采集过程电子操作记录表,减轻工作人员过程记录等工作压力,确保数据准确性,使工作人员腾出时间护理献血者。

**6.4 成分制备网络信息化管理** 成分制备网络化管理实现了血液滤白(血液滤白监测仪)、离心(大容量低温离心机)、制备(全自动血液成分分离机)、病毒灭活(医用血浆病毒灭活柜)、速冻(平板血浆速冻机)、水浴融化(低温式水浴融化箱)、自动贴签(血液自动贴签机)七大成分制备的设备联网、全程电子记录监控功能(几十个关键业务数据),可追溯操作者、复核者、献血码、设备、物料、温度、开始时间、结束时间等的血液制备全过程及电子屏幕监控功能,达到实时监控,每分钟采集一次数据。

## 7 “互联网+无偿献血”综合管理模式未来的展望

采供血机构借助互联网和现代通讯技术在未来工作中仍有很大的发展空间。

**7.1 献血积分商城** 实现采供血机构对献血者的关爱,达到提升固定献血者队伍数量的目的。献血者可用献血累计积分的形式,自主选择兑换网上商城陈列的多样化礼品。

**7.2 志愿服务者招募与服务移动管理平台** 该平台是一个三位一体的志愿者综合管理系统,可以实现志愿者申请、志愿者培训、志愿者排班、志愿者工时累计以及根据工时累计自动评价星级。对志愿者进行社会评价,社会调查等功能。

**7.3 血费返还互联网直报** 通过移动互联网自动计算和甄别献血者献血信息,并计算可报销血量,通过支付宝、微信等第三方支付途径实现血费返还直接报销。在具备相关单位联网的环境下可以实现异地间移动互联网直接返还报销工作。

**7.4 为献血者、志愿者搭建移动社交平台** 让更多献血者能够通过我们的平台交朋友,让大家产生归属感。

**7.5 血费返还异地报销+出院即报** 随着全国采供血机构的全面联网,最终会实现全国范围内的血费返还异地报销和出院即报功能。

**7.6 献血者爱心激励平台** 该系统是一个为献血者提供全方位服务的平台系统,包括献血者手机端献血预约、献血信息查询、献血积分管理、纪念品兑换、献血活动参与等功能。

## 参考文献

- [1] 《中国互联网络发展状况统计报告》出炉[EB/OL]. (2016-01-23)[2016-03-15]. <http://finance.sina.com.cn/roll/2016-01-23/doc-ifxnuvxc1721636.shtml>.
- [2] 袁红. 利用互联网开展无偿献血宣传. 中国医药指南, 2009, 7(21):149-150.
- [3] 陈承益. 分析研究新媒体在无偿献血宣传中的效果. 中国卫生产业, 2014, (13):191-193.
- [4] 杨楷. 无偿献血血费返还机制初探. 吉林医药学院学报, 2012, 33(4):262-263.
- [5] 李雅静, 张颖萍, 常纓, 等. 献血服务平台搭建与应用. 血液质量, 2015, 22(5):89-91.
- [6] 李雅静, 常纓, 韩俊虎, 等. 短信及电话回访系统在献血者满意度调查中的应用. 中国输血杂志, 2014, 27(11):1221-1223.
- [7] 夏琳静. 献血者电话回访在无偿献血服务中的重要性. 中外健康文摘, 2012, 9(44):347-348.
- [8] 范丽莉. 血液库存偏型时的应急招募. 中国卫生质量管理, 2014, 21(4):110-112.
- [9] 汪峰. 从安全血液战略看流失献血者再招募的必要性. 中国输血杂志, 2013, 26(11):40.
- [10] 王黔江. 浅谈市、县两级采供血机构设置网络模式的探讨. 中国实用医药, 2014, 9(13):270-271.
- [11] 张艳艳, 杨宝成, 庄乃保, 等. 自助献血系统在无偿献血服务中的建设与应用. 实验与检验医学, 2014, (02):172-173.
- [12] 李天君, 张文学, 郭崇健, 等. 献血者血费异地返还系统的应用研究. 重庆医学, 2014, 43(19):2528-2529.
- [13] 兰琳, 刘云云, 肖利涛, 等. 陕西省临床用血异地血费报销政策实施的分析与思考. 现代检验医学杂志, 2014, 29(3):166-167.
- [14] 敖常青, 刘保霞, 吴瑞霞. 浅谈献血服务网站建设与服务. 中国实用医药, 2014, 9(32):275.
- [15] 漆萍, 彭国进, 邓文英. 医疗机构窗口直报血费对无偿献血工作的作用. 实用医院临床杂志, 2013, 10(1):180-181.

(2017-01-18 收稿, 07-11 修回)

本文编辑:李宜蔓

## · 综述 ·

## 红细胞储存损伤研究进展

王子<sup>1,2</sup> 查占山<sup>1</sup> 钱宝华<sup>1△</sup> (1.第二军医大学 长海医院 输血科,上海 200433;2.解放军昆明总医院)

**摘要:** 本文回顾了近年来红细胞储存损伤的国内外文献,从储存红细胞的理化性状、生物代谢、献血者个体差异、血袋与保存液不同、白细胞去除等红细胞储存损伤的相关影响因素,介绍了红细胞储存损伤的最新研究进展,讨论了红细胞储存损伤热点问题“新”“老”红细胞有无差异,并指出目前研究存在的根本问题是没有 1 个统一的标准来定义“新”“老”红细胞。最后提出了研究红细胞储存损伤的重点应该放在红细胞的疗效上,而不是单纯的延长保存时间等,为红细胞储存与相关疗效的研究提供了一定指导意义。

**关键词:** 红细胞;储存损伤;标准

**中图分类号:** R457.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2017)9-1076-04

**Red blood cell storage lesion: a progress review** WANG Zi<sup>1,2</sup>, CHA Zhanshan<sup>1</sup>, QIAN Baohua<sup>1</sup>. 1. Department of Transfusion, Changhai Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. 2. Department of Blood Transfusion, Kunming General Hospital of PLA. Corresponding author: QIAN Baohua

**Abstract:** Previous studies have confirmed that red blood cells (RBCs) undergo several physicochemical changes when storage lesion occurs, which greatly affects the results of RBCs clinical applications. This paper reviewed the recent progress of RBCs storage lesion research and analyzed potential contributing factors from various angles: physicochemical properties, biological metabolism, blood bag, additive solution, and leukoreduction, etc. We here by point out several issues that remain to be further investigated: whether there are any differences between the “new” and the “old” RBCs and the potential problems it may cause due to the inability to setup universal standard to systematically characterize the age of RBCs. We would also suggest that, as for RBCs storage lesion studies, more efforts be made to look into RBCs application performances instead of merely being spent on improving the storage time of RBCs. We hope this review would provide a novel direction for RBCs storage and transfusion effect studies.

**Key words:** red blood cell; storage lesion; standard

红细胞制剂是临床最常用的血液制品。全血采集分离后,红细胞从体内循环进入塑料血袋内,在体外储存期间红细胞的生理生化、新陈代谢、外观形态等发生了一系列的变化,这些变化统称为储存损伤。储存损伤是否会影响到红细胞的疗效,这是 1 个热点问题。特别是 Koch 等<sup>[1,2]</sup>于 2008 年,在《新英格兰》杂志上发表了 1 篇关于不同储存时间的红细胞对心脏手术患者术后影响的文章,让不少研究团队对红细胞储存损伤产生了浓厚的兴趣,也有研究者对目前红细胞储存时间的衡量标准产生了疑问。

## 1 红细胞储存损伤

红细胞不含线粒体,能量供应完全依靠糖酵解,在体外储存时,糖酵解的原料是有限的。目前血站储存常规红细胞的温度是(4±2)℃,远远低于正常体温,目的是降低红细胞的代谢速度,以延长保存时间。红细胞的储存损伤是一系列相互影响的过程。Hayek 的团队研究表明,在红细胞储存的第 1 周内,红细胞的糖酵解是正常进行的<sup>[3]</sup>。但随着时间的延长,由于糖酵解终产物乳酸的积累,导致 pH 值下降,抑制

了糖酵解的进行。ATP 的含量随着储存时间的延长而降低。随后磷酸戊糖旁路代谢增强,产生大量 NADPH,过量的 NADPH 又使得谷胱甘肽(glutathione, GSH)减少,从而导致抗氧化能力减弱。GSH 含量在体外储存后一直降低,氧化型谷胱甘肽在储存 14 d 后开始增加<sup>[3]</sup>。GSH 的降低使得红细胞的抗氧化能力减弱。氧化损伤会导致多种膜蛋白及酶的变化,如:血影蛋白、蛋白 4.1、蛋白 4.2、锚蛋白、HSP-70、带 3 蛋白、PRDX2、G3PD 等<sup>[3-5]</sup>。脂质氧化导致丙二醛增加,蛋白质氧化羰基化反应增加。最终导致红细胞膜稳定性降低甚至产生微囊泡<sup>[3]</sup>。在红细胞的收集、储存、运输过程中,溶血也是没有办法完全避免的。溶血会导致红细胞内铁离子的释放,释放出来的铁离子会进一步加剧氧化损伤和溶血<sup>[6]</sup>。

**1.1 离子失衡** 红细胞膜是具有离子通透性的,正常情况下红细胞膜内外的离子平衡主要依靠红细胞膜表面的 Na-K 泵来维持的。红细胞储存在(4±2)℃时,Na-K 泵的功能受到影响,再加上糖酵解减慢,ATP 的产生减少,Na-K 泵的功能进一步降低,红细胞外的 K<sup>+</sup>无法返回红细胞内,导致细胞外 K<sup>+</sup>浓度升高。1 个单位的去白红细胞储存 35 d 后,大约含有 40-50 mmol/L 的 K<sup>+</sup><sup>[7]</sup>。离子失衡引起了细胞水肿,红细胞平均体积(erythrocyte mean corpuscular volume, MCV)变大<sup>[4]</sup>。红细胞破损也会释放 K<sup>+</sup>到细胞外。因此,大量输注红细胞

可引起高钾血症,出现呼吸抑制、心律失常甚至死亡<sup>[8]</sup>。

**1.2 2,3-DPG** 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)是糖酵解的中间产物,同时 pH 降低也会引起了 2,3-DPG 的减少。2,3-DPG 主要调节红细胞的氧离曲线,影响红细胞对于氧的结合力。2,3-DPG 的降低会引起氧离曲线左移,影响氧的组织利用。同时 2,3-DPG 也会影响细胞膜的稳定性,致使红细胞的变形能力降低。然而,储存时红细胞内 2,3-DPG 的减少是可以恢复的,Hamasaki 等<sup>[9]</sup>研究表明,在红细胞回输 24 h 后,2,3-DPG 可以恢复,相应血红蛋白的携氧能力也能够恢复正常<sup>[9]</sup>。

**1.3 微囊泡** 红细胞储存时的微囊泡主要是由于红细胞膜的变化产生的,微囊泡一旦形成就无法复原,导致了红细胞膜的不可逆损伤。微囊泡根据直径大小主要分为以下几类:外泌体(30-100 nm),微泡或外皮层(0.1-1 μm)以及凋亡小体(1-5 μm)<sup>[10]</sup>。微囊泡最开始被认为是细胞碎片,在正常的血液循环中也存在。红细胞、白细胞、血小板或内皮细胞均会产生。微囊泡可能是红细胞主动丢弃受损膜成分的自我保护机制,也可能是红细胞间交流的介质<sup>[11]</sup>。红细胞在储存期间,其形态由双凹圆盘状变成棘球形红细胞时,会出现微囊泡<sup>[12]</sup>。带 3 蛋白的高度磷酸化也导致了棘球形红细胞的形成<sup>[13]</sup>。磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)外翻的微囊泡具有促凝血作用,输注相应血液存在引起血栓的风险<sup>[14]</sup>。微囊泡也会提高患者铁负荷,减少 NO,抑制血管舒张。但随着微囊泡的释放,羰基化反应减轻,红细胞的氧化损伤减弱<sup>[3]</sup>。

**1.4 红细胞形态** 长时间储存的红细胞,在形态上会由双凹圆盘状变成球形,甚至棘球形。氧化损伤及离子失衡是导致红细胞形态变化的主要因素。有的红细胞因为分泌微囊泡,导致了膜的丢失。这些都会导致红细胞的变形性受损,红细胞脆性增加。储存 21 d 后,红细胞的渗透脆性增加,超过 50%的细胞已经无法维持双凹圆盘状。储存 35 d 后,25%的红细胞变成了棘球形红细胞<sup>[15-16]</sup>。

## 2 影响红细胞储存损伤的因素

**2.1 献血者** 虽然目前献血有 1 个统一的体检标准,但是由于个体基因及生活习惯的差异,红细胞的特性也是不完全相同的。由于红细胞特性的不同,红细胞储存损伤所表现的严重程度也有所不同。血型不同的红细胞其抗氧化能力也不完全相同,Carl 研究发现 O 型红细胞的氧化耐受能力强于 A、B 型红细胞<sup>[17]</sup>。血液循环中的红细胞包含了不同寿命的红细胞,因此献血所获得的红细胞也是混合的红细胞,既有网织红细胞,也有衰老的红细胞<sup>[18]</sup>。研究发现,在储存期间红细胞的寿命是不会变的<sup>[19]</sup>。网织红细胞在储存时也不会转变为成熟的红细胞<sup>[20]</sup>。Jean 等<sup>[21]</sup>在文献中提出老年人会产生新的红细胞,年轻人也有衰老的红细胞。6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)缺乏的献血者,正常情况下是无贫血症状的,在常规的献血体检中不易被发现,根据研究发现,在纽约通过献血所采集的血液中,0.3%是 G6PD 缺乏的血液<sup>[22]</sup>。Tzounakas<sup>[23]</sup>团队在观察体外输血模型的输血疗效时,发现 G6PD 缺乏者的血液更易溶血出现氧化应激,但是对于红细

胞的储存来说,G6PD 缺乏者的血液在储存的各项指标上等于或优于正常献血者的红细胞,特别是对于红细胞形态的维持,G6PD 缺乏者更胜一筹。尿酸含量不同的献血者,其红细胞的储存特性也不同<sup>[24]</sup>。Mairbaurl<sup>[25]</sup>指出,虽然运动员特别是耐力运动员,在运动过程中衰老的红细胞容易被挤压破损导致溶血,但是他们的红细胞总量增加,红细胞比容(HCT)减小。个体差异在其他方面也影响着红细胞的储存,如微囊泡的产生、K<sup>+</sup>的泄漏等<sup>[18]</sup>。

**2.2 血袋** 塑料血袋的出现,是输血发展的 1 个重要里程碑。有了塑料血袋后,血液便于运输,血液成分的分离得以在密封条件下进行,成分输血的应用才得以推广。塑化剂可以增加柔韧性,使得塑料血袋在成分制备时能够抵抗各种外力,保护血袋的密封性。但不同塑化剂制成的血袋,对于保存在内的血液成分,其储存效果也不尽相同。目前可用于血袋的塑化剂包括:BTHC、TOTM、DINCH、DEHP。DEHP 是目前血袋主要用的塑化剂,但存在一定的毒性,特别是对于儿科患者<sup>[26]</sup>。Beatriz 等<sup>[27]</sup>团队对比了 BTHC、DINCH、DEHP 3 种不同塑化剂制成的血袋对红细胞储存的影响,发现用 BTHC 作为塑化剂制成的血袋对于红细胞膜的保护作用最差,DINCH 和 DEHP 差别不大。

**2.3 红细胞保存液** 红细胞保存液包括全血抗凝剂和红细胞添加剂这 2 个部分。抗凝剂是最早用于全血保存的溶液。用于输血的全血抗凝剂常见的有:ACD、CPD、CPDA。红细胞添加剂是血液成分分离后,满足成分输血,为降低浓缩红细胞的 HCT 和粘度而使用的。目前常用的红细胞添加剂分为欧式标准和美式标准。欧式的红细胞添加剂主要为 SAG 和 SAGM。美式的红细胞添加剂主要包括 AS-1-AS-7、MAP、PAGGSM 等,以及部分实验室根据自己需要进行配置的。Antonelou 等<sup>[28]</sup>研究发现,在 CPDA 保养液中红细胞羰基化反应表现的比 CPD 保养液中要严重。不同的保养液中,MCV 的变化不一致,有不变的,也有减小的<sup>[29]</sup>。

**2.4 白细胞去除** 在中国,大部分临床使用的红细胞在储存前都没有进行白细胞的滤除。白细胞的滤除主要在临床应用血前进行。白细胞具有免疫活性,在储存期间会释放多种炎症因子,多种活性酶,加速红细胞的破坏,也可以降低红细胞的输血疗效<sup>[18]</sup>。然而,Say 等<sup>[30]</sup>对比了储存前滤除白细胞和输血前滤除白细胞发现,对于白介素 6 和 C 反应蛋白这 2 个指标来说,储存前滤除白细胞和输血前滤除白细胞是没有差异的。

## 3 储存时间对输血疗效的争论

Koch 等<sup>[1]</sup>发表了关于输注“老龄”红细胞会提高心脏手术患者的致病率和死亡率后,“新鲜”红细胞与“老龄”红细胞的输血疗效问题成为大家关注的 1 个热点。有观点认为“新鲜”的红细胞疗效要好,也有认为两者是没有差异的,还有观点认为输注“老龄”的红细胞比“新鲜”的红细胞要好<sup>[31-32]</sup>。本文认为,目前所有关于“新鲜”和“老龄”红细胞研究的关键问题是,“新鲜”和“老龄”红细胞的划分标准,并没有 1 个相对科学的统一评判标准,各研究的划分都不完全相同,甚至同 1 个研究团队的标准也不同。因此出现了在不

同的研究中,“新鲜”与“老龄”的红细胞标准并不一致的现象。本文认为要解决“新鲜”红细胞与“老龄”红细胞是否有差异的问题,首先要解决基本的定义问题,即什么是“新鲜”红细胞,什么是“老龄”红细胞。“新鲜”与“老龄”的区别需要有 1 个或多个科学的评判指标,而不是每个研究中的标准都不一样。如果没有 1 个统一的标准,就会出现各种各样的分类。目前的研究中就有以储存中间的某 1 天为界对半分的,分界点有 7、14、17 d。也有以储存第 1 周和储存最后 1 周分段划分的,<7 d 为“新鲜”,35-42 d 为“老龄”<sup>[33]</sup>。美国 FDA 规定,红细胞在储存 42 d 后,红细胞在血袋中的溶血率小于 1%,红细胞回输给健康人后,在体内的 24 h 存活率>75%,只要符合上述规定即为合格的红细胞。中国的标准也是参照执行的。这个标准并没有对红细胞的功能性进行限定,因此导致了“新鲜”红细胞和“老龄”红细胞输注疗效是否有差异的争论。

#### 4 总结

虽然红细胞的代用品一直在研究,但红细胞的输注短期内是无法替代的。因此红细胞储存的研究需要继续深入。红细胞的储存损伤是无法完全避免的,能够做到的是不断减轻储存损伤的程度或者避免部分的储存损伤。目前,恢复液可以纠正许多由红细胞储存损伤引起的生化指标异常。如 ATP, 2,3-DPG,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ , 以及部分红细胞形态<sup>[34]</sup>。应对氧化应激,可以在红细胞添加剂中添加各种抗氧化剂,如 VC、VE、N-乙酰半胱氨酸, EPO 等<sup>[35-36]</sup>。但都还处于试验阶段,未应用于临床。目前中国红细胞的供应短缺,血液供不应求,很少出现血液因过期导致报废。因此本文认为对于红细胞储存的研究重点,应放在如何提高红细胞的疗效和减轻红细胞引起的危害上面,而不是继续延长红细胞的储存时间。个体差异所带来的红细胞特性的不同,直接影响着红细胞的储存及输注疗效,目前的献血者体检标准是否需要修改是 1 个有待考证的问题。关于“新”“老”红细胞的争论问题,最好是能够提出 1 个“新”“老”红细胞的标准,让大家的研究在同一标准下才更能有效的说明问题。

#### 参考文献

- [1] Koch CG, Li L, Sessler DI, et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med*, 2008, 358(12): 1229-1239.
- [2] Glynn SA, Klein HG, Ness PM. The red blood cell storage lesion: the end of the beginning. *Transfusion*, 2016, 56(6): 1462-1468.
- [3] D'Alessandro A, D'Amici GM, Vaglio S, et al. Time-course investigation of SAGM-stored leukocyte-filtered red blood cell concentrates: from metabolism to proteomics. *Haematologica*, 2012, 97(1): 107-115.
- [4] Antonelou MH, Tzounakas VL, Velentzas AD, et al. Effects of pre-storage leukoreduction on stored red blood cells signaling: a time-course evaluation from shape to proteome. *J Proteomics*, 2012, 76: 220-238.
- [5] D'Amici GM, Rinalducci S, Zolla L. Proteomic analysis of RBC membrane protein degradation during blood storage. *J Proteome Res*, 2007, 6(8): 3242-3255.
- [6] Collard K, White D, Copplestone A. The influence of storage age on iron status, oxidative stress and antioxidant protection in paediatric packed cell units. *Blood Transfus*, 2014, 12(2): 210-219.
- [7] Bawazir WM, Flatt JF, Wallis JP, et al. Familial Pseudohyperkalemia in blood donors: a novel mutation with implications for transfusion practice. *Transfusion*, 2014, 54(12): 3043-3050.
- [8] Vraets A, Lin Y, Callum JL. Transfusion-associated hyperkalemia. *Transfus. Transfus Med Rev*, 2011, 25(3): 184-196.
- [9] Hamasaki N, Yamamoto M. Red blood cell function and blood storage. *Vox Sang*, 2000, 79(4): 191-197.
- [10] György B, Szabó TG, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(16): 2667-2688.
- [11] Bosman GJ, Lasonder E, Groenen-Döpp YA, et al. The proteome of erythrocyte-derived microparticles from plasma: new clues for erythrocyte aging and vesiculation. *J Proteomics*, 2012, 76: 203-210.
- [12] Tissot JD, Rubin O, Canellini G. Analysis and clinical relevance of microparticles from red blood cells. *Curr Opin Hematol*, 2010, 17(6): 571-577.
- [13] Ferru E, Giger K, Pantaleo A, et al. Regulation of membrane-cytoskeletal interactions by tyrosine phosphorylation of erythrocyte band 3. *Blood*, 2011, 117(22): 5998-6006.
- [14] Mooberry MJ, Key NS. Microparticle analysis in disorders of hemostasis and thrombosis. *Cytometry A*, 2016, 89(2): 111-122.
- [15] Blasi B, D'Alessandro A, Ramundo N, et al. Red blood cell storage and cell morphology. *Transfus Med*, 2012, 22(2): 90-96.
- [16] Pallotta V, Naro F, Gevi F, et al. Supplementation of anti-oxidants in leucofiltered erythrocyte concentrates: assessment of morphological changes through scanning electron microscopy. *Blood Transfus*, 2014, 12(3): 421-424.
- [17] Carl H, Soumya R, Srinivas P, et al. Oxidative stress in erythrocytes of banked ABO blood. *Hematology*, 2016, 21(10): 630-634.
- [18] Flatt JF, Bawazir WM, Bruce LJ. The involvement of cation leaks in the storage lesion of red blood cells. *Front Physiol*, 2014, 5(214): 1-12.
- [19] Minetti G, Ciana A, Profumo A, et al. Cell age-related monovalent cations content and density changes in stored human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1527(3): 149-155.
- [20] Griffiths RE, Kupzig S, Cogan N, et al. Maturing reticulocytes internalize plasma membrane in glycophorin A-containing vesicles that fuse with autophagosomes before exocytosis. *Blood*, 2012, 119(26): 6296-6306.
- [21] Jean-Daniel T, Niels L. The picture of Dorian Gray: news from the red blood cell storage lesion. *Blood Transfus*, 2014, 12(3): 293-295.
- [22] Francis RO, Jhang J, Hendrickson JE, et al. Frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient red blood cell units in a metropolitan transfusion service. *Transfusion*, 2013, 53(3): 606-611.
- [23] Tzounakas VL, Kriebardis AG, Georgatzakou HT, et al. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficient subjects may be better "storers" than donors of red blood cells. *Free Radic Biol Med*, 2016, 96: 152-165.

- [24] Tzounakas VL, Georgatzakou HT, Kriebardis AG, et al. Uric acid variation among regular blood donors is indicative of red blood cell susceptibility to storage lesion markers: a new hypothesis tested. *Transfusion*, 2015, 55(11):2659-2671.
- [25] Mairbäurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Front Physiol*, 2013, 4(332):1-13.
- [26] Prowse CV, de Korte D, Hess JR, et al. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Commercially available blood storage containers. *Vox Sang*, 2014, 106(1):1-13.
- [27] Bicalho B, Serrano K, Dos Santos Pereira A, et al. Blood bag plasticizers influence red blood cell vesiculation rate without altering the lipid composition of the vesicles. *Transfus Med Hemother*, 2016, 43(1):19-26.
- [28] Antonelou MH, Kriebardis AG, Stamoulis KE, et al. Red blood cell aging markers during storage in citrate-phosphate-dextrose-saline-adenine-glucose-mannitol. *Transfusion*, 2010, 50(2):376-389.
- [29] Veale MF, Healey G, Sparrow RL. Effect of additive solutions on red blood cell (RBC) membrane properties of stored RBCs prepared from whole blood held for 24 hours at room temperature. *Transfusion*, 2011, 51(Suppl 1):25S-33S.
- [30] Say B, Sari FN, Oguz SS, et al. Interleukin-6 and C-reactive protein load in pre-storage and post-storage white blood cell-filtered red blood cell transfusions in premature infants. *Transfus Med*, 2015, 25(3):170-173.
- [31] Shah A, McKechnie S, Brunskill SJ, et al. Fresh versus old red cell transfusions: what have the recent clinical trials found? *Curr Opin Hematol*, 2016, 23(6):550-556.
- [32] Middelburg RA, van de Watering LM, Briët E, et al. Storage time of red blood cells and mortality of transfusion recipients. *Transfus Med Rev*, 2013, 27(1):36-43.
- [33] Hayek SS, Neuman R, Ashraf K, et al. Effect of storage-aged red blood cell transfusions on endothelial function in healthy subjects. *Transfusion*, 2015, 55(11):2768-2770.
- [34] Barshtein G, Gural A, Manny N, et al. Storage-induced damage to red blood cell mechanical properties can be only partially reversed by rejuvenation. *Transfus Med Hemother*, 2014, 41(3):197-204.
- [35] Penuela OA, Palomino F, Gómez LA. Erythropoietin reduces storage lesions and decreases apoptosis indices in blood bank red blood cells. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 2016, 38(1):15-20.
- [36] Pallotta V, Gevi F, D'Alessandro A, et al. Storing red blood cells with vitamin C and N-acetylcysteine prevents oxidative stress-related lesions: a metabolomics overview. *Blood Transfus*, 2014, 12(3):376-387.

(2017-03-15 收稿, 06-22 修回)

本文编辑:夏玲

## 输血医学前沿科技论坛暨《中华输血学》新书发布会议 第一轮通知

当代基因组学、生物信息学、计算生物学、再生医学、精准医学、循证医学和互联网等新学科、新技术的应用彻底改变传统的生物学与医学的面貌,无疑地也促使输血医学快速地步入了一个新时代!在这样一个科技与人文革命浪潮的推动下,我国输血医学也有长足的进步。但是,着眼于“健康中国”这一伟大历史目标对输血医学发展的要求,不论是在我国当前输血的理念和实践、输血基础研究、科技水平,还是各级输血组织的服务观念、人文建设及管理制度等均需要加大创新力度,才能达到与时俱进的要求不负全社会的厚望!由我国著名的输血界前辈杨成民教授等领衔百余位输血界知名专家执笔,针对当代输血医学前沿特别是我国输血医学发展中共同关注的学术焦点问题,撰写了《中华输血学》专著,将于2017年10月底出版。《中华输血学》是人民卫生出版社的“中华系列”医药专著之一,也是我国输血界的一件喜事。经人民卫生出版社、《中华输血学》编委会、中国医学科学院输血研究所、四川大学华西医院、《中国输血杂志》编辑部共同商定于2017年11月9日-11日在成都举行《中华输血学》发布仪式暨输血医学前沿科技论坛。会议将邀请20余位业界领军专家和知名学者,围绕我国输血医学当前面临的瓶颈问题做专题报告。热诚欢迎全国输血界和相关学科的朋友们参会。

为了便于做好会议安排,请有意参会者于2017年10月10日前发回参会回执。论坛主办者会议期间将向每位参会者赠送由三位主编签名(章)的《中华输血学》一册。会议注册费800元/人,食宿、差旅费自理。关于会议的具体安排将于2017年10月20日前发第二轮通知。

请您在百忙之中给予支持,并转请您熟悉的业界朋友们参会。参会的人员均需要填写参会回执,便于安排住宿。

会议回执网址:<https://www.wjx.top/jq/16625018.aspx>

会务组邮箱:shuxueyixue2014@163.com

会务组联系人:周文涛:18280097173,刘晓明:13348975133

中华输血学编委会 中国输血杂志编辑部



· 血液质量管理论坛 ·

# 国家卫生行业标准《献血不良反应分类指南》导读

陈辉<sup>1</sup> 徐健<sup>2</sup> 郭瑾<sup>3</sup> 曾嘉<sup>1</sup> 郭永建<sup>4Δ</sup>

(1.福建省血液中心 福建 福州 350004;2.浙江省血液中心;3.北京市红十字血液中心;4.佛山市中心血站)

**关键词:**不良反应;献血;分类;指南;标准

**中图分类号:**R457.1 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2017)9-1080-05

为进一步贯彻落实献血不良反应预防和处理有关规定,提高献血者安全,国家卫生和计划生育委员会(以下简称国家卫计委)新近发布了《献血不良反应分类指南》(以下简称《指南》),《指南》提出了献血不良反应分类的指导意义<sup>[1]</sup>,为献血不良反应的监测和持续改进奠定了基础。现就该标准制定的科学、伦理学和法规依据、起草原则、起草过程、主要内容和实施建议等做一简介。

## 1 献血者安全风险管理的科学、伦理学和法规依据

**1.1 献血不良反应客观存在的科学事实** 对于绝大多数献血者而言,献血过程是安全的,但还是有极少数献血者可能出现献血不良反应——献血者在献血过程中或献血后出现的穿刺部位局部出血、疼痛、过敏或者全身性血管迷走神经反应。世界各国都十分重视献血者安全问题,许多发达国家开展了献血不良反应监测计划,汇总分析献血不良反应类型和发生率,研究其发生原因和机理,制定与实施改进措施,不断提升献血者安全。

**1.1.1 美国 FDA 输血和献血死亡报告系统** FDA 每年发布血液采集和输血后死亡分析报告,除了 2014 财年报告外,从医学专家对 2005-2015 年历年献血后死亡报告的分析中,均没有得到支持献血与献血者死亡具有因果关系的证据。在 2014 财年报告中,1 名献血者死亡的经过是:献血者捐献 1 U 全血后诉头昏,工作人员给予常规处理(休息和补水);随后献血者在献血区域走几步后跪倒,站立后又朝后摔倒,导致脑损伤(颅内和硬膜下水肿),不治身亡;献血前筛查未发现献血禁忌证或者其他异常危险情况;经过全面医学评估后判断,相关证据支持献血与死亡存在因果关系<sup>[2]</sup>。这是美国首例献血并发症导致献血者死亡的报告。

**1.1.2 英国献血严重不良事件(serious adverse events of donation, SAED)监测** 英国 2015 年开始将 SAED 纳入 SHOT 报告,SAED 包括:1)献血后<7 d 死亡;2)献血后<24 h 住院;3)献血后<24 h 骨(牙)损伤;4)献血后<24 h 交通事故;5)献血后<24 h 诊断为急性冠脉综合征;6)穿刺相关病症持续时间>1 年或需要住院治疗;7)严重过敏(成分献血);8)溶血(成分献血);9)空气栓塞(成分献血);10)其他事件(与献血

相关的住院、治疗或者残疾/失能,献血后>1 年,不属于以上类别)<sup>[3]</sup>。2015 和 2016 年的监测数据显示,SAED 发生率为 0.2/万(表 1-2),未见与献血有关的献血者死亡报告<sup>[4]</sup>。

**表 1** 英国 2015 年 SAED 发生率监测数据

	国家血液和移植中心	苏格兰血液和移植中心	北爱尔兰血液和移植中心	威尔士血液中心
全血采集人次	1 611 930	201 403	50 791	71 833
单采采集人次	171 790	11 536	4 497	3 028
合计	1 783 720	212 939	55 288	74 861
SAED 合计数	37	2	0	0
SAED 发生率	0.2/万			

**表 2** 英国 2016 年 SAED 发生率监测数据

	国家血液和移植中心	苏格兰血液和移植中心	北爱尔兰血液和移植中心	威尔士血液中心
全血采集人次	1 604 337	163 039	48 794	85 321
单采采集人次	84 110	10 626	5 312	3 111
合计	1 688 447	173 665	54 106	88 432
SAED 合计数	40	2	0	0
SAED 发生率	0.21/1 万(1/47 730)			

**1.1.3 国际血液安全监测网络献血不良反应监测数据** 1)提供献血不良反应监测数据的国家数:2006 年 6 个国家,2012 年 22 个国家;2)献血不良反应报告累计 594 477 例;3)献血不良反应发生率为 660/10 万(1/150)次献血,其中重度不良反应占 2.9%;3)局部重度不良反应发生率:全血 3.2/10 万,单采 8.2/10 万;4)血管迷走神经反应:占献全血不良反应的 83%,占单采血不良反应的 57%;5)枸橼酸盐反应:占单采不良反应的 4.5%,其中有 7.3%为重度反应<sup>[5]</sup>。

**1.1.4 我国有关献血不良反应文献报告概况** 我国目前尚未建立献血不良反应监测系统,无法获得全国性总体数据,只有个别报告的数据。1)中国输血协会调查数据显示,201 家采供血机构汇总的献血不良反应发生率约为 0.5%(表 3),发生献血反应的献血者中 82.43%为初次献血者<sup>[6]</sup>。2)邸春艳等<sup>[7]</sup>对 2001-2011 年发表的单采血小板献血反应的文献做了统计分析:单采血小板献血反应发生率 2.86%(3 028/105 695),女性献血者的发生率 11.26%(397/3 524),男性献血者发生率为 2.44%(179/7 320)( $P<0.05$ );首次献血者的发生率为 7.34%(403/5 489),曾献血>2 次献血者发生率为 1.7%(340/19 316)( $P<0.05$ );轻度献血不良反应占 85.94%,献血反应诱因主要为枸橼酸盐反应和精神因素,分别占 38.82%和 20.20%。3)献血不良反应文献检索概况:(1)文献数据库:中国知网;(2)检索条件:检索条件:

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2017.09.036

Δ通信作者:郭永建(1956.12-),男,主任医师、教授,主要从事血液质量管理研究。电话:13509368467, Email:director@fjxyzx.org

(题名=献血反应或者题名=献血不良反应),发表时间至 2017-09-02;(3)检索结果:共有 705 篇文献,论文作者单位共有 50 多家;其年代分布特征为,1988-1996 年仅有 7 篇,1997-1998 年显现增加趋势,1999-2012 年明显增加,2013 年以后呈减少趋势(图 1),献血不良反应文献变化趋势与我国无偿献血的开展和发展时间相吻合,显示随着无偿献血工作的开展,对于献血不良反应和献血者安全的关注也随之提升。

表 3 2012-2014 年全国 201 家采供血机构献血反应发生率

	献血人次(万)	献血反应例数(万)	献血反应率(%)
2012 年	785.47	3.51	0.45
2013 年	797.65	3.53	0.44
2014 年	696.10	3.67	0.53

注:引自范亚欣,吴洁玲,孟庆丽,等. 全国献血不良反应的调查与分析. 中国输血杂志, 2016, 29(9): 956-959

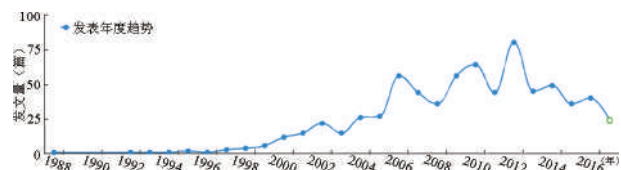


图 1 我国献血不良反应文献发表年度趋势

## 1.2 伦理学依据

**1.2.1 输血医学的伦理原则** 作为评价输血医学领域内人们采取行动的伦理框架,输血医学伦理学原则包括:1)献血自愿原则,2)献血无偿原则,3)献血和输血安全原则,4)献血和输血的风险/伤害告知原则,5)知情选择原则,6)保密原则,7)无歧视原则,8)非商品化和商业化原则,9)血液公共资源原则,10)血站公益事业原则。与献血不良反应有关的输血医学的伦理原则有献血安全原则、献血的风险/伤害告知原则和知情选择原则<sup>[8]</sup>。

**1.2.1.1 献血安全原则** 是伦理学基本原则中的不伤害原则的具体贯彻落实。该原则要求在献血时采取一切必要措施将当前献血过程中可能产生的风险最小化,尽可能避免本可以避免的风险,将不可避免的风险减少到最小程度<sup>[8]</sup>。

**1.2.1.2 献血的风险和(或)伤害告知原则** 血液是维持人体健康不可缺少的成分,献血也可能会引起一些风险,该原则要求必须保护献血者健康和安全的。风险和(或)伤害告知原则是伦理学基本原则中知情同意原则知情部分的具体落实。献血者献血应该是其本人合乎理性的决定。应该及时告知献血和输血可能产生风险和伤害。风险和(或)伤害的告知包括 2 个方面:1)在献血前告知献血者在献血过程中和献血后可能发生的风险/伤害;2)在伤害已经产生后告知献血者<sup>[8]</sup>。

**1.2.1.3 知情选择原则** 是伦理学基本原则中知情同意原则知情部分的具体贯彻落实。献血者在被告知相关信息的情况下是否献血是由他们自主做出的选择,其选择的前提是相关信息的告知和理解,在获知和理解信息后由献血者自主、自由地决定是否献血<sup>[8]</sup>。

**1.2.2 献血和输血的伦理规范** 国际输血协会(ISBT)《献血和输血的伦理规范》经由其与世界卫生组织、国际红十字和红新月会联盟、国际献血者组织联合会联合签署发布,其中“第 3 条 应向献血者说明与献血过程相关的风险,必须

保护献血者的健康和安全的……。”“第 9 条 献血者和受血者如果受到伤害,应被告知”<sup>[8]</sup>。

**1.3 献血者安全的法规要求** 《献血法》、《血站管理办法》、《血站质量管理规范》和《献血者健康检查要求》都对献血安全保障管理提出了原则性要求,但均未明确献血者可能遇到的献血安全风险或者不良反应具体有哪些。

**1.3.1 《献血法》相关规定** “第一条 为保证医疗临床用血需要和安全,保障献血者和用血者身体健康,发扬人道主义精神,促进社会主义物质文明和精神文明建设,制定本法。

“第八条 血站是采集、提供临床用血的机构,是不以营利为目的的公益性组织。设立血站向公民采集血液,必须经国务院卫生行政部门或者省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门批准。血站应当为献血者提供各种安全、卫生、便利的条件。血站的设立条件和管理办法由国务院卫生行政部门制定。”<sup>[9]</sup>

**1.3.2 《血站管理办法》相关规定** “第三十六条 血站应当建立质量投诉、不良反应监测和血液收回制度。”<sup>[10]</sup>

**1.3.3 《血站质量管理规范》相关要求** “13.2 建立和实施献血场所管理程序,保证献血安全和血液质量。献血场所应有充足的设施,布局合理,能满足献血工作和献血者以及员工的健康和安全要求。献血前征询和体格检查应对献血者的隐私和相关信息进行保密。应具有处理献血不良反应的设施和药品。每个采血工作位应有独立的采血、留样、记录、贴标签的操作设施和缜密流程,消除导致献血者记录或标识差错的潜在因素。

“13.14 应建立和实施献血不良反应的预防和处理程序,包括献血不良反应的预防、观察、处理、记录、报告、评价和随访,以正确处理和减少献血不良反应。

“13.16 献血记录至少应包括献血者的个人资料、健康征询结果及献血者和征询者签名,健康体检结果及检查者签名、献血日期、献血量、献血反应及其处理和员工签名。”<sup>[11]</sup>

**1.3.4 国家标准《献血者健康检查要求》的相关要求** “第 5 章 献血者知情同意”为强制性要求,在“5.2 告知内容”关于献血反应的要求是:“5.2.6 献血反应 绝大多数情况下,献血是安全的,但个别人偶尔可能出现如头晕、出冷汗、穿刺部位青紫、血肿、疼痛等不适,极个别可能出现较为严重的献血反应,如晕厥。医务人员应当对献血反应及时进行处置,献血者应遵照献血前和献血后注意事项,以减少献血反应的发生率。”<sup>[12]</sup>

**1.4 案例启示** 数年前国内曾报道某城市 1 位女大学生献血后晕倒致残诉讼案例,在法院判决书中明确强调了献血知情同意的重要性:“无偿献血的意识需要充分的身体准备和知识储备,献血者也应了解献血的注意事项进行必要的了解。某献血者认可其在献血后收到过被告交付给其的装有献血证、爱心联系卡及保险卡的塑料袋一个,但某献血者并未对其进行阅读和浏览,对此某献血者亦负有一定的责任。某血站作为具有采血资质的合法机构,对于献血后的不良症状和潜在风险具有更高的认知,应对献血者容易忽视的事项及情况进行排查和提醒,设置更为有效的风险告知书、宣传手册等,对献血者可能存在安全隐患的行为及时进行提示。”<sup>[13]</sup>

## 2 《指南》起草过程

**2.1 任务来源和起草单位** 《指南》是原卫生部(国家卫计委的前身)批准下达的 2011 年卫生行业标准制(修)订计划项目(编号 20111102),由福建省血液中心、浙江省血液中心和北京市红十字血液中心起草。

**2.2 起草原则** 1) 遵循输血医学伦理原则,尤其是献血安全原则、风险/伤害告知原则。2) 与现有国际标准接轨,参照 ISBT 血液安全监测工作委员会、欧洲血液安全监测网络、美国 AABB 献血者安全监测工作组共同合作编制的《献血相关并发症监测标准》的分类标准。3) 充分考虑和结合我国献血工作实际。

**2.3 起草过程** 1) 前期基础工作:2009 年,福建省血液中心郭永建等开始收集和分析国内外有关献血不良反应分类的文献,将 ISBT 和欧洲血液预警网络(EHN)献血相关并发症共同工作组于 2008 年发布的《献血并发症监测标准》翻译整理,在《中国输血杂志》2009 年第 7 期发表<sup>[14]</sup>。2) 申请立项:2010 年申报《献血相关并发症监测》制定项目,2011 年 4 月获批立项。3) 起草:2011 年 4 月-2012 年 8 月,项目组成员开展并完成起草工作。4) 公开征求意见:2012 年 9 月将标准征求意见稿上传卫生监督中心卫生标准网的征求意见栏目中,公开征求意见;2012 年 10 月向华东、华北、华南、中南、东北、西北等片区 14 家血液中心或中心血站征求意见,共收到 14 家血站针对《指南》37 处提出的 86 条反馈意见。5) 征求意见的汇总分析和处理:(1)2013 年 1-3 月,起草小组对反馈意见做了归纳整理,经认真分析研究后,采纳了大部分意见,对未予采纳的意见,在《征求意见汇总处理表》中给予了说明。(2)2013 年 3 月召开了专家咨询会议,对标准征求意见稿进行了讨论。6) 形成送审稿:(1)2013 年 3 月项目组召开定稿会议,对标准条款再次讨论和审修。(2)2013 年 5 月完成文字编辑,形成送审稿。7) 评审:(1)2014 年 5 月,血液标准委员会召开评审会议,本标准未通过评审,主要原因是部分专家认为本标准出台时机不成熟,担心在建立献血不良反应补偿制度之前出台本标准,可能给采供血工作和血站带来负面影响;个别专家提出应当删除迟发型血管迷走神经反应这一类别。(2)根据评审意见,项目组对标准文稿做了进一步修订。(3)2014 年 7-8 月,经血液标准委员会组织专家函审,本标准获得通过。(4)2014 年 10 月,按照国家卫计委医政医管局医疗安全与血液处的要求,血液标准专业委员会在京组织召开专题研讨会,对本标准是否适宜发布以及迟发型血管迷走神经反应类别做了研讨。8) 形成报批稿。2014 年 11 月,形成报批稿和其它报批材料,上报血液标准委员会秘书处。

**2.4 关于标准题目和范围的调整** 1) 关于“献血不良反应”的术语:ISBT 使用“献血相关并发症”(donation related complications)<sup>[14-17]</sup>;我们在申报立项时,主要是考虑与 ISBT 所用的术语保持一致,项目名称为《献血相关并发症监测》。在征求意见和评审过程中,有专家认为,“并发症”是用于疾病治疗,用在献血方面恐不合适,可能会引起误解;有专家建议采用“献血反应”一词,但是献血本身会引起献血者机体产生

一般性反应(如血容量分布的调节、Hb 水平下降等),因此“献血反应”一词比较笼统,不清晰。起草组曾考虑参照《疫苗流通和预防接种管理条例》及其配套文件的相关表述:“预防接种异常反应,是指合格的疫苗在实施规范接种过程中或者实施规范接种后造成受种者机体组织器官、功能损害,相关各方均无过错的药品不良反应”,即“献血相关异常反应”。经过再三斟酌和讨论,最后决定与《血站管理办法》已经确定的“不良反应”和《血站质量管理规范》中“献血不良反应”保持一致。2) 关于标准范围是否包括献血不良反应的监测:本标准立项时的名称为《献血相关并发症监测》,在征求意见和血液标委会审核的过程中,不少专家认为献血不良反应的监测与报告涉及较为复杂行政管理程序,应当以行政规范性文件来规定,提出调整标准名称和范围的建议,即调整为《献血不良反应分类指南》,范围和内容也相应调整为献血不良反应分类,起草组采纳了这一建议。

## 3 《指南》主要内容

**3.1 献血不良反应种类** 分为 4 大类 21 亚类(表 4)<sup>[1]</sup>。

表 4 献血不良反应种类

A 类:局部反应	A1:出血	A1.1	血肿(瘀斑)
		A1.2	刺入动脉
		A1.3	迟发型出血
	A2:疼痛	A2.1	神经刺激
		A2.2	神经损伤
		A2.3	肌腱损伤
		A2.4	手臂疼痛
	A3:局部炎症	A3.1	血栓性静脉炎
		A3.2	局部皮肤过敏
A3.3		局部感染	
B 类:血管迷走神经反应(VR)	B1:晕厥	B1.1	VR 不伴晕厥
		B1.2	VR 伴晕厥
	B2:损伤	B2.1	VR 不伴损伤
		B2.2	VR 伴损伤
	B3:现场	B3.1	VR 现场发生
		B3.2	VR 离场发生
C 类:机采反应	C1:枸橼酸盐反应	C1.1	枸橼酸盐反应
	C2:溶血反应	C2.1	溶血反应
	C3:全身过敏反应	C3.1	全身过敏反应
	C4:空气栓塞	C4.1	空气栓塞
D 类:其他	D1:其他	D1.1	其他

**3.2 献血不良反应严重程度的评估** 《指南》的第 4 章提出了献血不良反应严重程度评估的指导意见,根据是否需要治疗和结局,献血不良反应严重程度可分为重度不良反应和非重度不良反应。重度不良反应的判断条件有 2 个方面:1) 根据针对献血不良反应所采取的治疗措施做出判断,献血者因出现献血不良反应而住院,并接受了防止机体功能受到终身性损害或损伤,或者防止死亡的治疗措施;2) 根据献血不良反应的结局做出判断,献血不良反应导致献血者明显残疾或功能不全,且在献血后持续存在>1 年,或者献血不良反应出现后发生死亡且死亡原因可疑、可能或肯定与献血有关。不符合上述重度不良反应判断条件的不良反应即为非重度不良反应<sup>[1]</sup>。

**3.3 不良反应与献血相关性的判定** 《指南》第 5 章提出了不良反应与献血相关性评估的指导原则,根据证据的力度将

不良反应与献血的相关性分为 1 级(肯定相关)、2 级(可能相关)、3 级(可疑相关)、4 级(可能无关)和 5 级(肯定无关)共 5 个级别<sup>[1]</sup>。具体实施时需要根据具体情况和证据做出评估和判断。

#### 4 实施建议

**4.1 血站实施要点** 1) 按照《指南》修改血站原有献血不良反应管理的文件和记录。2) 建立献血不良反应报告的过程和路径,应将每位献血者在献血现场是否出现献血不良反应作为献血记录的必选项,献血者离开献血现场后出现献血不良反应的献血记录作为可选项。3) 建立献血不良反应发生情况的统计分析,宜做趋势分析。4) 建立重度献血不良反应案例分析制度。5) 将献血不良反应的管理过程信息化。6) 将献血不良反应的管理和持续改进纳入管理评审范围。

**4.2 国家或者行业监测** 1) 国家卫计委已经建立了医疗不良事件报告制度和网络系统<sup>[18-19]</sup>,如能对其扩展,增加献血不良反应模块,可谓事半功倍。另外,药物不良反应监测系统的管理实践也值得参考和借鉴<sup>[20]</sup>。2) 中国输血协会血液质量工作委员会于 2013 年制定并发布了《血液安全预警指南(第 1 版)》,2015 年已更新为第 2 版<sup>[21]</sup>,为血站行业开展包括献血不良反应在内的血液安全监测工作提供了具体操作技术指导。中国输血协会于 2017 年成立了血液安全监测专业委员会,其主要职责是借鉴国外血液安全监测的经验,探讨国内血液安全监测工作的建立和发展;开展血液安全监测相关的概念、运行体系等学术交流与培训工作,对国内开展血液安全监测试点工作提供技术指导(见 <http://www.csbt.org.cn/plus/list.php?tid=81>)。因此,开展献血不良反应监测的具体技术准备已经基本就绪,可在局部地区试行开展后,逐步扩大监测范围,努力建立全国性的监测网络。

**4.3 关于献血风险补偿的建议** 严重/重度献血不良反应的发生率尽管很低,属于小概率事件,但是对献血者而言,一旦发生在自己身上,则是 100% 的损害。让献血者单独承担这种小概率风险是不合理的,因此必须建立献血风险补偿机制,血站行业期盼国家统一制定献血风险补偿办法和标准。在数年前的 1 次关于《献血法》修订会议上曾讨论并形成应当建立献血风险的国家补偿机制的共识。目前具参照价值的有疫苗接种异常反应补偿标准和工伤补偿标准。疫苗接种使受种者获得免疫力,使其可抵抗传染病侵袭,因此疫苗接种者个人是受益的;社会人群的接种率提高了,降低了传染病在社会流行的可能性,因此疫苗接种者对社会做出了贡献,这是对疫苗接种异常反应者给予补偿的理由。而献血者的献血行为纯粹是为社会做贡献,其个人并没有受益,因此对献血意外的补偿标准应当高于疫苗接种异常反应补偿标准。如果将献血行为相当于工作(劳动),参照工伤补偿标准给予献血风险补偿,这应该是能够给予受伤害的献血者的最高补偿标准。

#### 5 结语

近 10 年来,国际输血界对献血者安全问题日益重视。国际血液安全监测网络、美国和英国等国家已经将献血者安

全纳入血液安全监测范围,在监测过程中逐步全面加深对献血安全对献血者健康影响的认识,从而能够采取更为全面的献血者健康照护措施。近几年来美国等一些国家已经认识到长期定期献血可能导致部分献血者,如年轻、育龄女性、经常献血、Hb 水平接近允许献血 Hb 值的献血者的铁缺乏之后,即制定并实施包括献血者铁蛋白检测、提高允许献血的献血者 Hb 下限、延长献血间隔、减少献血量和补充铁剂等综合防范措施<sup>[21]</sup>。这才是从根本上真正关心和爱护献血者。反观我国无偿献血宣传资料,从开展无偿献血至今,绝大多数血站向社会提供的献血宣传资料都以献血能够降低血脂、预防心血管疾病、预防肿瘤、促进长寿等等作为献血有益健康的佐证。然而细究起来,这些宣传观点是缺乏科学实证研究证据基础的。

血液是国家的宝贵资源,其管理应立足长远,保证安全血液供应的连续性、可持续性和安全性,保证高质量、安全、有效血液的长期、普遍、及时可及,为此保证拥有适当数量的自愿无偿献血者是血液安全的关键。自从《献血法》颁布实施以来,我国的无偿献血发展迅速,支撑着医疗事业的飞快发展,但是仍然面临着长期和艰巨的困难和挑战。唯有尊重科学事实,确实做到以献血者为中心,为献血者着想,保障献血者安全和健康,免除其后顾之忧,方能赢得献血者和社会的信任,方能建立并保留充足的献血者队伍,方能保障血液资源源源而来,永不枯竭!

#### 参 考 文 献

- [1] 国家卫生计生委. 献血不良反应分类指南. WS/T 571-2017. 2017.
- [2] Food and Drug Administration, Center for biologics evaluation and research, Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion, Annual Summary for Fiscal Year 2014, 2015-08-24.
- [3] Bolton-Maggs PHB (Ed), Poles D, et al, on behalf of the Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group. The 2015 Annual SHOT Report (2016).
- [4] Bolton-Maggs PHB (Ed), Poles D, et al, on behalf of the Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group. The 2016 Annual SHOT Report (2017).
- [5] Politis C, Wiersum JC, Richardson C, et al. The international haemovigilance network database for the surveillance of adverse reactions and events in donors and recipients of Blood Components: technical issues and results. Vox Sang, 2016, 111(4), 409-417.
- [6] 范亚欣,吴洁玲,孟庆丽,等. 全国献血不良反应的调查与分析. 中国输血杂志, 2016, 29(9): 956-959.
- [7] 邸春艳,陈向东. 机采血小板献血反应荟萃分析. 中国输血杂志, 2014, 27(1): 56-59.
- [8] 全国卫生专业技术资格考试专家委员会. 输血技术(师、中级)/2017 全国卫生专业技术资格考试指导. 北京:人民卫生出版社. 2016:149-153.
- [9] 中华人民共和国献血法. 1998-10-01.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 血站管理办法. 2006-03-01.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 血站质量管理规范. 2006-04-25.
- [12] 国家标准管理委员会. 献血者健康检查要求. GB18467-2011. 2012.

- [13] 中国新闻网. 宁波女大学生献血后晕倒致残续:血站给予补偿 15 万. 2012-01-06[2017-08-19] <http://www.chinanews.com/jk/2012/01-06/3587400.shtml>.
- [14] 陈辉,郭永建,译. 献血相关并发症分类与分级标准. 中国输血杂志, 2009, 22(7):603-604.
- [15] 郭永建. 国际输血协会献血并发症监测标准(2014 年修订版)主要内容及其启示. 中国输血杂志, 2015, 28(2):223-229.
- [16] Working Group on Complications Related to Blood Donation, Working Party on Haemovigilance, International Society of Blood Transfusion, European Haemovigilance Network. Standard for surveillance of complications related to blood donation. 2008 [2009-07-25] [http://www.isbt-web.org/members\\_only/files/society/StandardSurveillanceDOC0.pdf](http://www.isbt-web.org/members_only/files/society/StandardSurveillanceDOC0.pdf).
- [17] Working Group on Donor Vigilance of the International Society of Blood Transfusion, Working Party on Haemovigilance, in collaboration with The International Haemovigilance Network and The AABB Donor Haemovigilance Working Group. Standard for surveillance of complications related to blood donation. 2014-12-11 [2014-12-25] <http://www.isbtweb.org/working-parties/haemovigilance/definitions>.
- [18] 中华人民共和国卫生部. 医疗质量安全事件报告暂行规定. 2011-04-01. 2011-01-20 [2017-10-02] <http://www.nhfpc.gov.cn/zwgkzt/wsbysj/201101/50429.shtml>.
- [19] 中华人民共和国卫生部办公厅. 关于统一使用医疗质量安全事件信息报告系统的通知(卫办医管函[2011]337 号), 2011-04-28 [2017-10-02] <http://www.nhfpc.gov.cn/yzygi/s3590/201104/9eac75707c964aab93bdd12d383d7df5.shtml>.
- [20] 中华人民共和国卫生部, 国家食品药品监督管理局. 药品不良反应报告和监测管理办法. 2004-03-04 [2017-10-02] <http://www.nhfpc.gov.cn/zwgk/wlwl/200804/8fd34a2690c04eeeb266856bf364931e.shtml>.
- [21] AABB. Association Bulletin #17-02, Updated Strategies to Limit or Prevent Iron Deficiency in Blood Donors. 2017-03-06 [2017-10-02] (2017-09-03 收稿, 09-15 修回)

本文编辑:蔡辉

## 输血医学前沿科技论坛暨《中华输血学》新书发布会议 第一轮通知

当代基因组学、生物信息学、计算生物学、再生医学、精准医学、循证医学和互联网等新学科、新技术的应用彻底改变传统的生物学与医学的面貌,无疑地也促使输血医学快速地步入了一个新时代!在这样一个科技与人文革命浪潮的推动下,我国输血医学也有长足的进步。但是,着眼于“健康中国”这一伟大历史目标对输血医学发展的要求,不论是在我国当前输血的理念和实践、输血基础研究、科技水平,还是各级输血组织的服务观念、人文建设及管理制度等均需要加大创新力度,才能达到与时俱进的要求不负全社会的厚望!由我国著名的输血界前辈杨成民教授等领衔百余位输血界知名专家执笔,针对当代输血医学前沿特别是我国输血医学发展中共同关注的学术焦点问题,撰写了《中华输血学》专著,将于 2017 年 10 月底出版。《中华输血学》是人民卫生出版社的“中华系列”医药专著之一,也是我国输血界的一件喜事。经人民卫生出版社、《中华输血学》编委会、中国医学科学院输血研究所、四川大学华西医院、《中国输血杂志》编辑部共同商定于 2017 年 11 月 9 日-11 日在成都举行《中华输血学》发布仪式暨输血医学前沿科技论坛。会议将邀请 20 余位业界领军专家和知名学者,围绕我国输血医学当前面临的瓶颈问题做专题报告。热诚欢迎全国输血界和相关学科的朋友们参会。

为了便于做好会议安排,请有意参会者于 2017 年 10 月 10 日前发回参会回执。论坛主办者会议期间将向每位参会者赠送由三位主编签名(章)的《中华输血学》一册。会议注册费 800 元/人,食宿、差旅费自理。关于会议的具体安排将于 2017 年 10 月 20 日前发第二轮通知。

请您在百忙之中给予支持,并转请您熟悉的业界朋友们参会。参会的人员均需要填写参会回执,便于安排住宿。

会议回执网址:<https://www.wjx.top/jq/16625018.aspx>

会务组邮箱:shuxueyixue2014@163.com

会务组联系人:周文涛;18280097173,刘晓明;13348975133

中华输血学编委会 中国输血杂志编辑部