

• 论 著 •

RhD 阴性供者信息库与红细胞-80℃深低温保存的临床应用

杨毓明¹, 柯卫泽^{1△}, 杨成睿², 刘艳芳¹

(1. 湖北省孝感市中心血站 432000; 2. 湖北省孝感医学院 432000)

摘要:目的 通过建立 RhD 阴性供者与红细胞-80℃深低温保存信息库,分析本地区 RhD 阴性血型分布状况,合理制备和保存 RhD 阴性成分血。方法 采集无偿献血者标本,用血型血清学方法筛选 RhD 阴性供者,并进行 RhD 阴性鉴定确认和 CcE 表型分型,创建 RhD 阴性供者信息库。按计划制备并用深低温等技术保存 RhD 阴性成分血。结果 1998 年 10 月~2010 年 6 月共筛查无偿献血者 384 334 例,最后鉴定确认 RhD 阴性供者 1 126 (2.93%) 例。其中 A 型 200 例 (32.63%)、B 型 153 例 (24.96%)、O 型 203 例 (33.12%) 和 AB 型 57 例 (9.30%)。表型 ccdee 369 (60.20%) 例, Ccdee 179 (29.20%) 例, CCdee 38 (6.20%) 例, ccdE 19 (3.10%) 例, CcdE 8 (1.31%) 例。10 年向临床供应 RhD 阴性血液 1 375 单位。结论 建立 RhD 阴性供者信息库,为输注 RhD 阴性血的患者,特别是已产生同种抗体患者,提供 RhD 和 CcEe 表型相配合的供者血液,有效预防因 Rh 抗原同种免疫反应所致的各类溶血性输血反应,提高血液输注的疗效。

关键词: RhD 阴性; 信息库; 红细胞; 深低温保存; 临床应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.05.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)05-0548-02

RhD-negative donor database and red blood cell -80℃ clinical application of cryopreservation

Yang Yuming¹, Ke Weize^{1△}, Yang Chergrui², Liu Yanfang¹

(1. Xiaogan Blood Center, Xiaogan Hubei 432000, China; 2. Xiaogan University, Xiaogan Hubei 432000, China)

Abstract: **Objective** To establish a information database of RhD-negative and red cell -80℃ cryopreservation, analyze the distribution of RhD negative blood group in local area, then reasonably make and preserve componential blood of RhD-negative. **Methods** By collecting the blood samples of volunteer blood donors, screen RhD-negative donors with serological and identified for RhD-negative confirmation and CcE phenotype, create a RhD-negative donor database. Preparation according to plan and save with deep hypothermia and other technology components RhD negative blood. **Results** During October 1998 and June 2010, 384 334 cases of voluntary blood donors were screened, the final and identified as RhD negative donors 1 126 (2.93 %). Of which 200 cases of type A (32.63 %), B-type of 153 cases (24.96 %), O-type 203 cases (33.12 %) and AB-type 57 cases (9.30 %). Phenotype ccdee 369 cases (60.20 %), Ccdee 179 cases (29.20 %), CCdee 38 cases (6.20 %), ccdE 19 cases (3.10 %) and CcdE 8 cases (1.31 %). 10 years RhD-negative blood supply to the clinical 1 375 U. **Conclusion** RhD-negative donor information database, to RhD-negative blood transfusion patients, in particular, have produced the same kinds of antibodies were to provide RhD and CcEe phenotype matching of donor blood, effectively prevent Rh antigens the same kind of immune response to the various types of hemolytic transfusion reactions and improve the efficacy of blood transfusion.

Key words: RhD negative; information database; red blood cell; Cryopreservation; clinical application

自 1998 年 10 月 1 日《中华人民共和国献血法》实施以来,本站从无偿献血者中筛查出 RhD 阴性稀有血型血液 1 375 单位(unit, U),对所有 RhD 阴性稀有血型无偿献血者进行跟踪调查,建立稀有血型供者信息库;对其中超过 200 U 没有合适受血者的情况下制备成冰冻红细胞,实施红细胞-80℃深低温保存,可延长保存有效期至 10 年。一旦临床需要时或发生突发事件时从-80℃深低温保存血库中选择合适的冰冻红细胞制备成解冻去甘油红细胞发放临床,库存量不足时从 RhD 阴性稀有血型供者信息库中选择合适的 RhD 阴性稀有血型供者紧急动员招募采血,开辟紧急救护用血绿色通道。

1 RhD 阴性稀有血型供者与红细胞-80℃深低温保存信息库资源概况

1.1 RhD 阴性稀有血型筛查结果 本站自 1998 年开始对所有无偿献血者捐献的血液实行全面 RhD 血型筛查^[1,9-10],已确认 RhD 阴性固定健康志愿无偿献血者 613 例。筛查结果见表 1, ABO 血型分布见表 2^[1,11], Rh 血型表现型分布见表 3。利用唐山现代血站管理应用软件建立稀有血型供血者信息

库^[8]、健康档案和献血档案,对所捐献的合格 RhD 阴性血液若在 1 W 内无临床用血需求,参考文献[2-6]的方法将其全部制备成冰冻红细胞,-80℃深低温冰冻保存,使保存有效期延长至 10 年^[7]。

1.2 RhD 阴性稀有血型红细胞-80℃深低温冰冻保存 通过 10 余年持之以恒的努力工作,目前 RhD 阴性稀有血型红细胞-80℃深低温冰冻保存实物动态库存 212 U,库存情况见表 4,为 RhD 阴性患者临床紧急救助提供实物保障。

2 RhD 阴性稀有血型供者信息库以及红细胞-80℃深低温保存血库的临床应用

2.1 临床用血情况 自 RhD 阴性稀有血型供者信息库以及红细胞-80℃深低温保存血库建立以来,完全能够满足临床 RhD 阴性稀有血型血液的需求和突发事件时的 RhD 阴性稀有血型血液的需求。为辖区内各医院 RhD 阴性稀有血型患者的临床急救提供了可靠的保障, RhD 阴性稀有血型红细胞-80℃深低温冰冻保存及临床应用情况见表 4。同时在卫生行政主管部门的统一调配下,为辖区内外临床医院及血站提供

△ 通讯作者, E-mail: 399967118@qq.com。

了紧急援助。自 1998 年 1 月至 2010 年 6 月 RhD 阴性稀有血型的累积用量达 1 375 U, 用血情况见表 1、5。

表 1 我市 1998~2006 年 RhD 阴性稀有血型供者筛查及临床用血情况*

年份	无偿献血 RhD 阴性筛查		临床用血情况	
	总人数(n) [#]	RhD 阴性[n(‰)]	临床总用血(U)	RhD 阴性[U(‰)]
1998	60 221	215(3.57)	59 285	108(1.82)
1999	30 085	103(3.42)	49 970	115(2.30)
2000	30 952	92(2.97)	51 664	92(1.78)
2001	31 797	64(2.01)	49 864	58(1.12)
2002	31 619	41(1.30)	46 920	47(1.16)
2003	30 249	162(5.36)	46 992	142(3.02)
2004	28 260	46(1.63)	39 423	56(1.42)
2005	28 390	44(1.55)	40 575	46(1.13)
2006	22 191	39(1.76)	30 232	126(4.17)
2007	25 474	73(2.87)	34 654	130(3.75)
2008	26 925	87(3.23)	41 470.5	177.5(4.28)
2009	24 630	99(4.02)	39 744	185(4.65)
2010 年 1~6 月	13 541	61(4.50)	21 520	92.5(4.30)
合计	384 334	1 126(2.93)	552 313.5	1 375(0.25)

*:无偿献血者献血量分 2 U/次和 1 U/次两种类型;[#]:总人数包含固定重复和稀有血型预约无偿献血者人数。

表 2 RhD 阴性献血者 ABO 血型分布

ABO 血型	RhD 阴性献血者分布[n(%)]
A	200(32.63)
B	153(24.96)
O	203(33.12)
AB	57(9.30)
合计	613(100.00)

表 3 RhD 阴性稀有血型供者 Rh 表现型分布

Rh 血型	RhD 阴性稀有血型供者人数[n(%)]
ccdee	369(60.20)
Ccdee	179(29.20)
CCdee	38(6.20)
ccdE	19(3.10)
CcdE	8(1.31)
合计	613(100.00)

2.2 RhD 阴性稀有血型血液的临床应用 为了保障 RhD 阴性稀有血型的临床急救需求,在供血工作中,首先制定 RhD 阴性稀有血型血液供给的应急预案,用以应对突发事件稀有血液的供给。具体方法如下。

2.2.1 临床用血紧急预约计划,首先向临床提供库存红细胞,然后启用 RhD 阴性稀有血型红细胞—80℃深低温保存血库信息库资源,针对受血者信息选择合适的冰冻红细胞制备解冻去甘油红细胞,以最快速度送达临床用血机构。如果现有的

RhD 阴性稀有血型红细胞—80℃深低温保存血库资源不能满足临床急救需求,立即启用 RhD 阴性稀有血型供血者信息库资源紧急招募采集 RhD 阴性稀有血型血液,开辟紧急救护医疗用血绿色通道,以免导致 RhD 阴性稀有血型血液供给不足而发生继发性灾难。

2.2.2 临床患者择期预约计划,首先启用 RhD 阴性稀有血型供者信息库资源紧急招募采集 RhD 阴性稀有血型血液,满足临床用血需求。

2.3 RhD 阴性稀有血型供者信息库资源的共享 通过互联网实行信息库资源共享,建立 RhD 阴性稀有血型人群突发事件医疗救助应急预案,为最大限度地救助 RhD 阴性稀有血型患者及受伤者开辟用血绿色通道。2008 年成功为迎接北京奥运会的胜利召开提供 RhD 阴性稀有血型血液储备供给 86 U。

表 4 RhD 阴性稀有血型冰冻红细胞的库存及解冻去甘油红细胞临床应用情况

ABO 血型	冰冻红细胞[U(‰)]	解冻去甘油红细胞临床应用[U(‰)]
A	65(30.66)	108(34.64)
B	58(27.36)	61(29.61)
O	66(31.13)	72(26.81)
AB	23(10.85)	33(8.94)
合计	212(100)	274(100)

表 5 1998~2010 年 6 月 RhD 阴性临床用血情况(U)

用血途径	血制品类型		合计
	悬浮红细胞	解冻红细胞	
辖区用血	345.5	148.5	494
支援用血	755.5	125.5	881
合计	1 101	274	1 375

3 讨 论

红细胞是血液中的主要有效成分之一,是临床医疗救护实施输血治疗的主要补充成分,其功能是补充机体的携氧能力、改善有效循环血量,尽快恢复组织细胞的供氧能力,尤其是大脑组织细胞等生命中枢的供氧,使生命得以延伸。红细胞是一种组织,是至今不能人工合成替代的生命活性物质,离体后生物活性的保持一直是当今输血医学界同仁研究的焦点。普通人群红细胞的保存通常采用 ACD 或者 CPDA 等血液保养液,保存有效期一般为 21 d 或 35 d。对于 RhD 阴性等稀有血型红细胞的保存,因普通人群中分布频率较低(笔者调查结果为 2.93‰),资源有限,随机人群中无偿招募的 RhD 阴性红细胞,由于有效期内没有适合的受血者,必须延长保存期,才能满足需要时 RhD 阴性稀有血型患者的血液供给(笔者调查 1998 年 1 月至 2010 年 6 月临床使用率为 0.25‰)。随着改革开放的深入,外来异基因人口的流动频繁,RhD 阴性稀有血液的临床使用率将会不断增加。

《血站管理办法》第二十五条明确规定:“血站应当制定重大灾害事故的应急采供血预案,并从血源管理制度、技术能力和设备条件上保证预案的实施,满足应急用血的需求”。因此,血站必须建立一个保障有力和便于操作的《突发事件血液应急供应预案》,尤其是 RhD 阴性稀有血型血液应急预案,用以应对突发事件。RhD 阴性稀有血型供者信息库(下转第 552 页)

1b、2a、3a、6a 和 6n 多种基因型分布。

本研究的 40 例昆明地区丙型肝炎感染者基因型分布显示 3b 型为主要流行型占 45.0% (18/40), 其次为 2a 型占 22.5% (9/40), 1b 型占 20.0% (8/40), 3a 型占 7.5% (3/40), 同时发现 6n 和 6a 型各 2.5% (1/40)。这与 HCV 在我国其他省份普通人群中 1b、2a 为主的基因分布明显不同。云南省与东南亚多个国家毗邻, 在这些国家中, 泰国主要以 3 型为主, 其次为 1b 和 6 型^[8], 缅甸也具有基本相同的 HCV 基因分布^[9], 在越南和中国香港地区 6 型 HCV 病毒株有更多流行^[10]。由于云南省与这些国家山水相连, 人员来往频繁的地缘关系, 昆明 HCV 感染者中 HCV 基因型分布更接近于东南亚国家的 HCV 基因分布情况。

HCV 基因分型的方法有多种: (1) 特异性引物扩增片段分型法; (2) 基因芯片法和型特异性探针杂交法; (3) 限制性片段长度多态性 (RFLP); (4) 核苷酸序列分析法及遗传发育关系进化树。其中最经典、最可靠的方法是核苷酸序列分析法及构建遗传进化树。该方法通过 PCR 扩增有代表性的基因片段 (如 5'NCR 区、C 区、NS5B 区), 再进行核苷酸序列测定。进行核苷酸序列分析法最关键的步骤便是对核苷酸序列分析区域的选择, 区域选择的好坏直接影响最后的分型结果。万祥辉等^[11]对 HCV 已有的 15 条来源于不同国家和地区的 HCV 全基因组序列, 分别用 5'NCR 区、C 区、E1 区、E2 区、NS5B 区构建系统进化树, 结果发现, 5'NCR 区未能区分 2 条序列, 存在分型错误, 其他区虽能正确分型, 但同一基因型不同病毒株的核苷酸演化距离不同, 其中 NS5B 区进化树最能反映病毒株间的演化距离, 与全基因组序列分型结果完全一致。于静等^[12]的研究表明, 在基因型相同基因亚型不同的病毒株之间, NS5B 区的平均差异达到了 16.5%~20.1%, 5'NCR 区核苷酸组成的平均差异仅为 1%~3.3%, 因而 NS5B 区更适用于 HCV 分子流行病学中基因亚型的区分, 本实验采用的基于 NS5B 基因的系统进化树分型方法, 对本组所有标本进行正确的基因分型, 证明此方法是 HCV 分型准确可靠的方法。

参考文献

[1] WHO. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a

(上接第 549 页)

与红细胞-80℃深低温保存血库的建立, 开辟了突发事件医疗救护用血绿色通道, 从而保障血液的供给, 尤其是 RhD 阴性稀有血型血液的供给。

本研究结果表明, 建立 RhD 阴性稀有血型供者信息库和储备 RhD 阴性稀有血型冰冻红细胞保存库, 具有深远的实际意义和战略意义。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB18467-2001 献血者健康检查需求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.

[2] Yu ZQ, Hu LH, Han M, et al. The popularization and Application of Cold Storage Red Blood Cells or Whole Blood at -80℃ of the Rh(D) Negative Patients in the Surgical Operation[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2002, 22(2): 155-157.

[3] 余忠清, 胡丽华, 饶神宗, 等. 红细胞-80℃冷冻保存的实验观察[J]. 同济医科大学学报, 2001, 30(2): 175-177.

WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium[J]. Viral Hepatitis, 1999, 6(12): 35-47.

[2] 武红梅. 输血前检查血清感染性指标的临床分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(1): 72-73.

[3] WHO. Hepatitis C-global prevalence (update)[J]. Wkly Epidemiol Rec, 2000, 75(3): 18-19.

[4] 李蒙, 李玲, 余鹏春, 等. 量子点技术快速检测 HCV 核心抗原的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(12): 430-436.

[5] Nakano I, Fukuda Y, Katano Y, et al. Interferon responsiveness in patients infected with hepatitis C virus 1b differs depending on viral subtype[J]. Gut, 2001, 49(2): 263-267.

[6] Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis[J]. Gastroenterology, 2002, 122(6): 1554-1568.

[7] Lu L, Nakano T, He Y, et al. Hepatitis C Virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants[J]. J Med Virol, 2005, 75(20): 538-549.

[8] Kanistanon D, Neelamek M, Dharakul T, et al. Genotypic distribution of hepatitis C virus in different regions of Thailand[J]. J Clin Microbiol, 1997, 35(19): 1772-1776.

[9] Shinji T, Kyaw YY, Gokan K, et al. Analysis of HCV genotypes from blood donors shows three new HCV type 6 subgroups exist in Myanmar[J]. Acta Med Okayama, 2004, 58(6): 135-142.

[10] Mellor J, Walsh EA, Prescott LE, et al. Survey of type 6 group variants of Hepatitis C Virus in Southeast Asia by using a core-based genotyping assay[J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(7): 417-423.

[11] 万祥辉, 曾照芳, 杨细媚. 用生物信息学方法确定丙型肝炎病毒基因分型的最佳区域[J]. 生物技术通报, 2008, 24(3): 81-83.

[12] 于静, 夏雪山, 台虹, 等. 基于 NS5B 区核酸序列同源性的 HCV 基因分型方法[J]. 昆明理工大学学报(理工版), 2005, 512(32): 6.

(收稿日期: 2010-07-25)

[4] 王培华. 输血技术学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 62-67.

[5] 邱艳. 全血成分血液质量要求与血液标准化[M]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 71-78.

[6] 中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程-血站部分[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997: 60-87.

[7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 18469-2001 全血及成分血质量要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.

[8] 王东, 夏传友, 伍建宁, 等. 顺德地区 RhD 阴性供者信息库的建立与临床应用[J]. 临床输血与检验, 2009, 11(3): 240-241.

[9] 王芳, 黄霞, 毛伟, 等. 重庆地区献血者 RhD 阴性血型抗原分布调查[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 199-203.

[10] 王平, 洪流, 罗月明. ABO 和 Rh D 血型定型试剂滴加在白瓷板后的稳定性观察[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(6): 589-591.

[11] 陈才生. ABO、Rh(D) 血型分布及质量分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(1): 77-78.

(收稿日期: 2010-09-20)