

- tion; diagnosis and management [J]. J Med Microbiol, 2012, 61 (6): 755-761.
- [5] Woo PC, Lau SK, Teng JL, et al. Then and now; use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories [J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(10): 908-934.
- [6] Bosshard PP, Abels S, Altwegg M, et al. Comparison of conventional and molecular methods for identification of aerobic catalase-negative gram-positive cocci in the clinical laboratory [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(5): 2065-2073.
- [7] Tung SK, Teng LJ, Vaneechoutte M, et al. Identification of species of abiotrophia, enterococcus, granulicatella and streptococcus by sequence analysis of the ribosomal 16-23 S intergenic spacer region [J]. J Med Microbiol, 2007, 56(4): 504-513.
- [8] Drancourt M, Roux V, Fournier PE, et al. rpoB gene sequence-based identification of aerobic Gram-positive cocci of the genera streptococcus, enterococcus, gemella, abiotrophia, and granulicatella [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(2): 497-504.
- [9] Chiang YC, Lu HC, Li SC, et al. Development of PCR primers and a DNA microarray for the simultaneous detection of major Staphylococcus species using groESL gene [J]. Foodborne Pathog Dis, 2012, 9(3): 249-257.
- [10] Chen HJ, Tsai JC, Chang TC, et al. PCR-RFLP assay for species and subspecies differentiation of the Streptococcus bovis group based on groESL sequences [J]. J Med Microbiol, 2008, 57(4): 432-438.
- [11] Minana-Galbis D, Urbizu-Serrano A, Farfan M, et al. Phylogenetic analysis and identification of Aeromonas species based on sequencing of the cpn60 universal target [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2009, 59(19): 1976-1983.
- [12] Hung WC, Tseng SP, Chen HJ, et al. Use of groESL as a target for identification of Abiotrophia, Granulicatella, and Gemella species [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(10): 3532-3538.
- [13] Chen CC, Teng LJ, Kaiung S, et al. Identification of clinically relevant viridans streptococci by an oligonucleotide array [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(4): 1515-1521.
- [14] Zhou G, Wen S, Liu Y, et al. Development of a DNA microarray for detection and identification of Legionella pneumophila and ten other pathogens in drinking water [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 145(1): 293-300.
- [15] Lin MC, Huang AH, Tsen HY, et al. Use of oligonucleotide array for identification of six foodborne pathogens and Pseudomonas aeruginosa grown on selective media [J]. J Food Prot, 2005, 68 (11): 2278-2286.
- [16] Tung SK, Teng LJ, Vaneechoutte M, et al. Array-based identification of species of the genera abiotrophia, enterococcus, granulicatella, and streptococcus [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(12): 4414-4424.
- [17] Gescher DM, Kovacevic D, Schmiedel D, et al. Fluorescence in situ hybridisation (FISH) accelerates identification of Gram-positive cocci in positive blood cultures [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32 Suppl 1: S51-59.
- [18] Mallmann C, Siemoneit S, Schmiedel D, et al. Fluorescence in situ hybridization to improve the diagnosis of endocarditis; a pilot study [J]. Clin Microbiol Infect, 2010, 16(6): 767-773.
- [19] Moter A, Musci M, Schmiedel D. Molecular methods for diagnosis of infective endocarditis [J]. Curr Infect Dis Rep, 2010, 12(4): 244-252.
- [20] Holler JG, Pedersen LK, Calum H, et al. Using MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid and accurate diagnostic tool in infective endocarditis; a case report of a patient with mitral valve infective endocarditis caused by abiotrophia defectiva [J]. Scand J Infect Dis, 2011, 43(3): 234-237.
- [21] Davies AP, Reid M, Hadfield SJ, et al. Identification of clinical isolates of α -hemolytic streptococci by 16S rRNA gene sequencing, matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry using MALDI Biotyper, and conventional phenotypic methods; a comparison [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(12): 4087-4090.

(收稿日期: 2013-10-15)

• 综 述 •

高密度脂蛋白亚类在临床相关疾病中的分布特征

孔路科 综述, 连云芝[△] 审校

(晋城市人民医院检验科, 山西晋城 048000)

关键词: 高密度脂蛋白; 亚类; 疾病; 分布特征

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.034

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0878-04

传统的流行病学资料显示高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平与动脉粥样硬化和冠心病的发生及严重程度呈负相关。近些年的研究认为仅测定 HDL-C 水平并不能完全反映 HDL 在胆固醇逆向转运、抗氧化、抗炎过程中所起的作用, HDL 颗粒的组成和含量的变化对临床相关疾病的预测能力比单纯测定 HDL-C 更可靠。

1 HDL 的组成及分类

HDL 是由肝脏及小肠黏膜细胞合成的。新生的 HDL 呈

盘状, 仅含有载脂蛋白 A-I 和少量极性脂质; 成熟的 HDL 呈球状, 主要由蛋白质、磷脂、胆固醇和三酰甘油等组成, 其中的载脂蛋白以 A-I 为主, 约占 65%。

根据 HDL 的颗粒大小和密度不同, 利用密度梯度超速离心法可以将 HDL 分为 HDL₁、HDL₂、HDL₃ 3 种亚类^[1]。根据颗粒表面携带的电荷不同, 利用琼脂糖梯度凝胶电泳法将 HDL 分为 α -HDL 及前 β -HDL 2 种亚类, 采用聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳法又可进一步将 α -HDL 可分为 HDL_{2b}、HDL_{2a}、

HDL_{3a}、HDL_{3b}、HDL_{3c}，将前 β -HDL 分为前 β_1 -HDL、前 β_2 -HDL、前 β_3 -HDL^[2-3]。国内目前文献报道较多的是，凝胶电泳免疫印迹法将 HDL 分为大颗粒的 HDL_{2a} 和 HDL_{2b}，以及小颗粒的 HDL_{3a}、HDL_{3b}、HDL_{3c}、前 β_1 -HDL 和前 β_2 -HDL 等亚类^[4]。

另有研究采用聚二甲基硅氧烷/玻璃微流控芯片电泳法，能在较短时间内分离血浆高密度脂蛋白亚类^[5]。董军等^[6]建立的超速离心高效液相色谱法，对高密度脂蛋白亚类的标准化检测有参考意义。还有报道采用核磁共振分光测定法，此方法无需分离血浆中的脂蛋白，直接测定 HDL 亚类^[7]。目前急需解决的问题是建立 HDL 亚类测定的参考方法，为其亚类的功能研究奠定基础。

2 HDL 亚类与高脂血症

高脂血症是一类血脂、脂蛋白、载脂蛋白及相关酶水平异常的疾病，主要分为高胆固醇血症、高三酰甘油血症及混合性高脂血症。血清中总胆固醇和(或)三酰甘油升高可引起一系列的脂代谢紊乱，进而导致动脉粥样硬化和冠心病。在不同类型的高脂血症中 HDL 各亚类的分布、含量都存在差异。

徐燕华等^[8]通过研究得出各类高脂血症患者血清中 HDL 亚类组成及含量存在一定差异，但总的趋势是小颗粒的前 β_1 -HDL 亚类增加，大颗粒的 HDL_{2b} 含量减少，导致 HDL 成熟代谢过程受阻。不同高脂血症患者 HDL 亚类组成的不同可能与 HDL 代谢相关的调节因子活性和载脂蛋白变化相关。在高胆固醇患者血清中卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)活性降低，胆固醇酯转移蛋白(CETP)活性增高。LCAT 可通过催化 HDL 中游离胆固醇的酯化，促进 HDL 由前 β_1 -HDL、HDL₃ 向 HDL₂ 的转变和成熟。LCAT 活性降低，HDL 成熟代谢受阻，造成小颗粒 HDL 水平升高。CETP 可促进极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL)中的三酰甘油与 HDL 中的胆固醇酯交换，产生富含三酰甘油的 HDL，后者经肝脂酶水解后可使 HDL 颗粒变小。CETP 活性增加，可导致大颗粒 HDL 水平的降低。有研究证实与总胆固醇相比，高三酰甘油是更为重要的影响 HDL 亚类分布的因素，通过分析内源性高三酰甘油血症患者血清 HDL 亚类的组成及含量，发现该类患者血清 HDL 颗粒呈变小趋势，男性尤为明显，而且这种趋势随血清三酰甘油水平升高更加显著^[9]。

载脂蛋白 A-I 是 HDL 的主要结构成分，在 HDL 成熟代谢和胆固醇逆转运过程中发挥重要的作用，它的相对含量决定着 HDL 亚类的分布。有研究表明在高脂血症患者血清中载脂蛋白 A-I 与 HDL 所有亚类均呈显著正相关，尤其是大颗粒的 HDL_{2b} 最为明显。同时发现血清载脂蛋白 C-III、载脂蛋白 B100 与 β_1 -HDL 含量呈正相关，而与 HDL_{2a}、HDL_{2b} 含量呈负相关^[10]。载脂蛋白 C-II 也被证明其水平的升高可导致 HDL 亚类的颗粒呈减小趋势，并且载脂蛋白 A-I 的含量可以对抗载脂蛋白 C-II 对 HDL 亚类分布的影响^[11]。载脂蛋白 E^[12] 及载脂蛋白 A-V^[13] 的多态性研究提示它们可能与 HDL 部分亚类含量和分布改变有关。

3 HDL 亚类与动脉粥样硬化性疾病

HDL 抗动脉粥样硬化的主要机制是它参与的胆固醇逆向转运，可将胆固醇从周围组织(包括动脉粥样斑块)转运到肝脏进行再循环或以胆汁酸的形式排泄，通过胆固醇逆转运，可以减少脂质在血管壁的沉积。一般认为胆固醇的逆向转运就是

HDL 颗粒从前 β -HDL \rightarrow HDL₃ \rightarrow HDL₂ 成熟代谢过程。大量的流行病学调查认为，冠心病患者血清中小颗粒的前 β_1 -HDL、HDL_{3b}、HDL_{3c} 水平显著升高，大颗粒的 HDL_{2b} 水平显著减少^[14]。男性冠心病患者 HDL 亚类的组成成分与正常对照组相比有明显差异，并证明 HDL 亚类中大颗粒的 HDL_{2b} 与 CHD 的发病有明显关联^[15]。女性冠心病患者中小颗粒的前 β_1 -HDL、HDL_{3b}、HDL_{3c} 含量明显高于女性非冠心病患者，尤其是绝经后的女性患者^[16]。针对冠状动脉狭窄程度逐渐增加的患者，小颗粒的前 β_1 -HDL、HDL_{3b} 水平逐渐升高，而大颗粒的 HDL_{2b} 水平却显著减少^[17]。

对于是大颗粒的 HDL_{2b} 减少，还是小颗粒的 HDL_{3b} 增加能够更好的预测动脉粥样硬化性疾病的发生存在争议，目前大多研究者认为含胆固醇丰富的 HDL_{2b} 决定血浆胆固醇酯的流动方向，当 HDL_{2b} 含量高时，HDL 中的胆固醇酯直接转运到肝脏，通过肝脏 HDL 受体摄取、转化和利用，当 HDL_{2b} 缺乏时，HDL 中的胆固醇酯在 CETP 作用下被转运至 VLDL 和 LDL，导致具有潜在致动脉硬化的脂蛋白中胆固醇酯增加^[18]。也有观点认为小颗粒的 HDL_{3b} 接受胆固醇的能力要强于大颗粒的 HDL_{2b}，因此 HDL_{3b} 预测动脉粥样硬化的能力更强。可以肯定的是单纯采用 HDL-C 来预测冠心病是不够的，通过研究 HDL 的组成和分类才能更全面的了解血脂代谢紊乱与冠心病发生发展的关系，为临床防治动脉粥样硬化性疾病提供更多依据。

4 HDL 亚类与糖尿病

糖尿病患者血清 HDL 及其亚类异常的重要原因是胰岛素抵抗，在 2 型糖尿病中，胰岛素抵抗可导致脂蛋白酯酶、LCAT、CETP 等多种酶类活性改变，引起 HDL 代谢障碍。众多研究表明，糖尿病患者 HDL 不仅数量明显减少，功能也明显下降，主要表现为 HDL 颗粒成熟受阻。张人漪等^[19]研究发现 2 型糖尿病患者血清 HDL₃ 颗粒中主要成分不同程度减少，HDL₂ 颗粒中载脂蛋白 A-I 含量明显减少。还有文献报道 2 型糖尿病患者的 HDL_{2b} 显著降低，且与 HDL-C 相比预测动脉粥样硬化性心脏病更加敏感^[20]。徐晓萍等^[21]通过研究血液葡萄糖水平与 HDL 亚类的关系，得出随着血糖升高，HDL₂ 水平逐渐下降，餐后血糖越高，HDL 颗粒成熟受阻越明显。最近通过对采用不同方式控制血糖的 2 型糖尿病患者分组研究，发现随着血糖水平被控制，HDL_{2b} 含量显著增加，HDL_{3b} 含量则显著降低^[22]。对 1 型糖尿病患者研究后发现 HDL₂ 水平与胰岛素抵抗程度有显著的相关性，高水平的 HDL₂ 可以对抗 1 型糖尿病患者胰岛素抵抗的风险。

综上所述，糖尿病与 HDL 亚类的分布密切相关，随着血糖升高，HDL₂ 逐渐降低，高水平的 HDL₂ 能够抵抗糖尿病患者发生胰岛素抵抗和动脉粥样硬化的风险。在临床研究中要重视 HDL 分子组成与整体功能对糖尿病患者的血脂紊乱和动脉粥样硬化的影响。

5 HDL 亚类与肥胖

不良的生活方式导致肥胖的发病率日益增高，肥胖患者常有血脂代谢紊乱，更易发生糖尿病、冠心病。国内通过对 58 例肥胖患者血清 HDL 亚类组成及相对百分含量进行测定，结果显示肥胖患者血清中前 β_1 -HDL、HDL_{3c} 及 HDL_{3b} 含量显著增加，而大颗粒的 HDL_{2b} 含量显著减少，HDL 颗粒直径呈变小趋势，提示 HDL 成熟代谢过程受阻^[23]。国汉邦等^[24]对单纯性的肥胖青少年做了研究，肥胖组的 HDL-C 和 HDL_{2b} 水平显著

降低,与体质量和血脂比率呈负相关,提示在尚未引起血脂代谢紊乱的肥胖患者中就有 HDL 亚类的分布异常。目前针对肥胖与 HDL 亚类关系的文献较少,HDL 的代谢在肥胖患者血脂紊乱中扮演什么角色,值得进一步去研究。

6 HDL 亚类与感染

有许多研究证明 HDL 是天然免疫的一部分,具有直接保护宿主和抗感染的作用。HDL 可以结合内毒素和脂磷壁酸,阻止它们对外周单核细胞、巨噬细胞的激活,减少肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1β 等炎症因子的合成和分泌。有实验证明,载脂蛋白 A-I 是 HDL 抗内毒素的主要功能蛋白,能与脂多糖结合并明显降低脂多糖的毒性作用^[25]。邹国英等^[26]通过实验得出革兰阴性菌感染患者使用抗菌药物后,血浆 HDL-C、载脂蛋白 A-I 恢复至正常水平的患者,显示感染被清除;而血浆 HDL-C、载脂蛋白 A-I 仍维持于较低水平的患者,虽然白细胞数目已降低,甚至有些恢复至正常参考范围,但显示感染仍持续存在。说明革兰阴性菌感染患者持续低水平的 HDL-C、载脂蛋白 A-I 指标,比传统感染检测指标(白细胞)更敏感。田军^[27]在对 1 146 例急性感染住院的儿童患者 HDL 含量测定后发现,HDL 降低的患者比例在 60% 以上,在胃肠道感染中尤其明显。通过对 HDL 亚类的进一步研究表明^[28],成熟的大颗粒 HDL₂ 能够显著抑制脂多糖诱导的荧光素酶活性以及肿瘤坏死因子 α mRNA 的表达,说明 HDL₂ 具有较强的结合和中和脂多糖的能力。

还有文献报道^[29],乙型肝炎病毒 DNA 拷贝数与 HDL-C 存在负相关,可能是体内 HDL-C 有抗氧化作用,而氧化环境又有助于乙型肝炎病毒的复制。目前针对 HDL 亚类与感染的关系及抗感染的机制报道尚少,有待于进一步的研究。

7 结 语

众所周知,HDL-C 测定只能反映 HDL 中胆固醇的含量,并不能全面的了解 HDL 在临床相关疾病中的代谢情况及在其中发挥的作用。通过对 HDL 亚类的研究,实际上是对整体状态的一种把握,动态的研究 HDL 在抗动脉粥样硬化、抗炎、抗感染中的作用机制。除了上述常见疾病外,还有关于在甲状腺功能减退患者和膝骨性关节炎患者^[30]中 HDL 亚类分布发生改变,报道 HDL 作为血浆脂蛋白中重要的成分,可能参与了全身各种疾病的发生与发展,对 HDL 亚类的研究也将会深入研究和探讨下去。

参考文献

- [1] Anderson DW, Nichols AV, Forte TM, et al. Particle distribution of human serum high density lipoproteins[J]. *Biochem Biophys Acta*, 1977, 493(1): 55-68.
- [2] Yang Y, Yan B, Fu M, et al. Relationship between plasma lipid concentrations and HDL subclasses[J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 354(1/2): 49-58.
- [3] Barrans A, Jaspard B, Barbaras R, et al. Pre-beta HDL: structure and metabolism[J]. *Biochem Biophys Acta*, 1996, 13(2): 73-85.
- [4] Tian L, Fu M. The relationship between high density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9(1): 118.
- [5] 钱晶晶, 季伙燕, 丛辉, 等. 聚二甲硅氧烷(PDMS)/玻璃微流控芯片电泳快速分离血清高密度脂蛋白亚类及临床应用研究[J]. *分析化学*, 2012, 40(2): 230-235.

- [6] 董军, 国汉邦, 李红霞, 等. 超速离心 HPLC 测定血清脂蛋白亚类和脂蛋白(a)胆固醇方法的建立[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(2): 191-195.
- [7] Calabresi L, Gomaraschi M, Franceschini G. High-density lipoprotein quantity or quality for cardiovascular prevention? [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(13): 1494-1503.
- [8] 徐燕华, 傅明德, 刘秉文, 等. 不同类型高脂血症患者血清高密度脂蛋白亚类组成的研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2003, 19(2): 83-86.
- [9] Gou L, Fu M, Xu Y, et al. Alterations of high-density lipoprotein subclasses in endogenous hypertriglyceridemia[J]. *Am Heart J*, 2005, 150(5): 1039-1045.
- [10] 贾连群, 王启明, 龙石银, 等. II a 和 II b 型高脂血症血清高密度脂蛋白亚类分布及与载脂蛋白的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16(1): 38-42.
- [11] 邢瑞青, 杨鲁川, 李俊淇, 等. 血清载脂蛋白 C II 含量对 HDL 亚类分布的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(3): 543-548.
- [12] 田英, 徐艳华, 龙石银, 等. 中国汉族人载脂蛋白 E 基因多态性与高密度脂蛋白亚类组成的研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2005, 21(5): 296-298.
- [13] Long S, Chen Z, Han Y, et al. Relationship between the distribution of plasma HDL subclasses and the polymorphisms of APOA5 in hypertriglyceridemia[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(9): 733-739.
- [14] 徐勇霞, 傅明德, 徐燕华, 等. 冠心病患者血清 HDL 亚类组成的研究[J]. *华西医科大学报*, 2002, 33(3): 340-342.
- [15] Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(11): 2181-2187.
- [16] 肖华, 陈英, 姚振国, 等. 女性冠心病患者高密度脂蛋白亚组分的检测及临床意义[J]. *热带医学杂志*, 2013, 13(1): 57-58.
- [17] 徐勇霞, 傅明德, 徐艳华, 等. 冠心病患者冠脉狭窄程度与血清 HDL 亚类组成的关系[J]. 2004, 35(4): 500-502.
- [18] 傅明德. 人血浆高密度脂蛋白亚类分布与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(10): 865-870.
- [19] 张人漪, 冉建民, 易向民, 等. 2 型糖尿病患者高密度脂蛋白亚型分子组分的变化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(11): 1025-1030.
- [20] 马亚红, 沈勋德, 杨俊芬, 等. 2 型糖尿病 HDL_{2b} 的变化特点及对预测冠心病风险的意义[J]. *首都医科大学学报*, 2011, 32(5): 609-613.
- [21] 徐晓萍, 季佳炜, 林炜炜, 等. 血液葡萄糖水平与 HDL 亚型变化的相关分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2010, 25(6): 35-39.
- [22] 陶世冰, 田丽, 傅明德, 等. 血糖控制对新诊断的 2 型糖尿病患者血脂、ApoB100、ApoAI 及 HDL 亚类影响的研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2013, 30(2): 368-374.
- [23] 徐燕华, 傅明德, 徐勇霞, 等. 肥胖者血清高密度脂蛋白亚类组成的研究[J]. *华西医科大学报*, 2001, 32(4): 509-512.
- [24] 国汉邦, 孙明晓, 黄秀清, 等. 单纯性肥胖青少年血清脂蛋白亚组分水平分析[J]. *中国心血管杂志*, 2008, 13(3): 199-202.
- [25] 廖雪玲, 马娟, 楼滨, 等. 血浆高密度脂蛋白的组成成分在 LPS 诱导的急性相反应中的改变[J]. *复旦学报: 医学版*, 2004, 31(5): 469-472.
- [26] 邹国英, 黄露萍, 任碧琼, 等. 革兰阴性杆菌感染患者高密度脂蛋白胆固醇及载脂蛋白 A1 检测的临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(3): 280-281.
- [27] 田军. HDL 浓度减低和小儿急性感染之间的相关性探讨[J]. *浙*

江临床医学, 2007, 9(7): 997.

[28] 贾连群, 王启明, 柳春, 等. 高密度脂蛋白亚类抗脂多糖作用的研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(7): 616-619.

[29] 陈群蓉, 谢春英, 孙顺昌, 等. 乙型肝炎病毒感染血清 HBV DNA 水平与 HDL-C 的相关性[J]. 热带医学杂志, 2012, 12(10): 1202-1204.

• 综 述 •

真空采血管添加剂质量控制及其临床应用影响因素

钟德优¹, 范月珍¹, 黄丽芳¹, 黄 键¹综述, 孙学战²审校

(1. 福州长庚医疗器械有限公司, 福建福州 350001; 2. 福建长庚医疗生物科技有限公司, 福建福州 350100)

关键词: 真空采血管; 添加剂; 临床应用

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 07. 035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0881-03

真空采血管发明于 1937 年, 1943 年在欧美流通, 随之在实际临床使用中日趋完善, 1971 年在日本被正式使用, 改革开放以后传入中国, 1990 年后部分医院开始使用, 现今国产的真空采血管已占国内市场的主导地位。国内已有 100 多家真空采血管生产企业, 产品质量参差不齐。产品的高品质和正确使用是制备高质量标本的前提, 而添加剂又是决定真空采血管性能至关重要的因素。现就真空采血管添加剂质量控制方法和要求, 添加剂与血液混匀以及所制备的血液标本离心、检测时机和检测范围在临床应用中的影响和要求进行分析。

1 真空采血管添加剂质量控制要求

1.1 真空采血管添加剂或其原料检验和配制 添加剂或添加剂原料采购要求和检验要求应根据 GB/T19001^[1]、YY/T0287^[2]和《医疗器械生产质量管理规范(试行)》要求编制, 并按要求对供应商的质量控制能力进行评审, 对添加剂质量进行检验。目前, 国内真空采血管行业常用的添加剂有 7 种, 具体为乙二胺四乙酸二钾(分子式: $C_{10}H_{14}K_2N_2O_8 \cdot 2H_2O$)、乙二胺四乙酸三钾(分子式: $C_{10}H_{13}K_3N_2O_8 \cdot 2H_2O$)、二水合柠檬酸三钠(分子式: $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$)、肝素锂、肝素钠、血液分离胶和促凝剂。添加剂质量要求和检测方法采用共同标准 WS/T224^[3]。另外, 各种添加剂的《药典》要求和相应产品标准要求, 构成完善的添加剂产品质量体系。为确保添加剂能够被安全、有效地使用, 各厂家应根据 GB/T16483^[4]要求编制产品化学品安全技术说明书; 同时, 如果产品采用最终钴 60 辐照灭菌, 也应根据 GB18280^[5]要求进行材料耐受性确认。

添加剂配制规范可参照《医疗机构制剂配制质量管理规范》要求并结合添加剂性质编制, 从人员、配料(含纯化水)、设备器具、溶解、过滤、检测、标识和记录等方面进行规范。制剂配制人员应得到相关的培训, 应能够对配制过程中出现的情况进行识别和处理; 对添加剂配制原料和纯化水进行质量检测, 并按预期使用要求核对配制品项和规格要求; 对配制器具和检测设备进行校准, 并正确使用; 为添加剂配制选择合理的中间液浓度, 添加剂完全溶解后静置, 待溶液稳定, 使用合适的过滤方法进行过滤, 再用纯化水将其稀释至所需浓度, 并按要求进行检测, 标识和记录。有条件的实验室亦可通过 ISO 17025 认证, 更加规范地对实验室进行管理。

[30] 王平, 李群芳, 廖瑛, 等. 膝骨性关节炎患者血清脂质、载脂蛋白、高密度脂蛋白亚类的测定[J]. 临床骨科杂志, 2009, 12(1): 81-85.

(收稿日期: 2013-10-20)

1.2 真空采血管添加剂的保存 真空采血管添加剂涉及的范围较广, 包含性质稳定的有机盐和惰性物质(乙二胺四乙酸盐、血液分离胶), 易受外界影响的二水合柠檬酸三钠和生物制剂(肝素锂、肝素钠、促凝剂)。应根据添加剂的性质制定保存要求, 并按要求保存以保证添加剂的质量。理论上, 乙二胺四乙酸盐和血液分离胶对保存条件无特殊要求。然而, 国内生产的血液分离胶良莠不齐, 在使用中常出现无法将血清/血浆与血细胞分隔, 或者分隔不彻底、胶块中有物质析出、保存时间短、易变质的现象。血液分离胶品质一定程度上受外界条件影响, 因此, 应对血液分离胶的保存条件进行确认。本文作者对武汉德晟化工科技有限公司和广州杰安生物科技有限公司生产的血液分离胶进行了保存条件的确认, 常规保存条件下(温度 10~40 °C, 湿度 20%~80%)7 个月内未出现变质现象。由于生物制剂和二水合柠檬酸三钠具有生物降解性, 建议冷藏保存。

1.3 真空采血管添加剂的物理状态和预置要求 YY0314-2007^[6]第 10.3 条中要求“制造商应确保特定添加剂的物理形态适用于其使用目的”。如二水合柠檬酸三钠与血液中的钙离子形成可溶性螯合物, 从而阻止血液凝固, 并可通过加入钙离子重新启动凝血系统。再者, 二水合柠檬酸三钠无毒, 对血液有保养作用, 能有效阻止因子 V、VIII 降解。国外推荐用于血凝检测的抗凝剂是 105~109 mmol/L, 3.13%~3.20%(通常用 3.20%表示)的二水合柠檬酸三钠缓冲或非缓冲溶液。另外, 含有 3.5%(129 mmol/L)二水合柠檬酸三钠溶液的试管也可用于凝血检测。国外推荐用于血沉检测的抗凝剂是 0.109 mol/L(3.206%)和 0.112 mol/L(3.3%)的二水合柠檬酸三钠溶液, 血液与添加剂的体积比为 4:1。二水合柠檬酸三钠溶液无论用于血凝检测管还是血沉管, 都有严格的浓度和剂量要求。生物制剂(肝素锂、肝素钠、促凝剂)具有生物降解性, 其保存期内不应出现过多的生物降解, 使得试剂效能降低甚至完全丧失。生产企业应通过稳定性试验为保存于采血管中的添加剂选择合理的形式, 使其能够保持稳定的效能。常采用加温去湿使采血管中的添加剂重结晶或者完全干燥成为粉末。有机盐(主要为乙二胺四乙酸盐)一般采用水溶液形式, 以缩短添加剂与血液混合均匀的时间, 减少因局部添加剂浓度太