

中国汉族人群通用血浆制备方法研究

王淑英 周武 汪德清

作者单位:100853 北京市,解放军总医院输血科

通讯作者:汪德清, E-mail: deqingw@vip.sina.com

【摘要】 目的 探讨我国人群通用血浆制备的最佳配比方案。方法 用试管凝集法确定 A、B、AB 型血浆两两之间的最佳比例,然后计算出三种血型的搭配比例,以血浆比例、时间、温度 3 个因素进行正交设计。观察 3 个因素对混合血浆抗体效价的影响。结果 三种血型血浆两两之间的最佳比例分别是 A:B=3:1、B:AB=1:3、A:AB=1:2;正交试验结果表明将 A:B 的比例定位于 3:1 附近,再按照 B:AB=1:3、A:AB=1:2 去补偿,抗体效价可降到通用血浆的标准,且时间、温度对血浆抗体效价无影响。结论 实验结果表明,A、B、AB 三种血型血浆按照接近中国人血型比例 6:2.5:1 混合,于 22℃ 孵育 1 h 可以得到抗血型抗体 IgM 效价符合标准的混合血浆。

【关键词】 通用型血浆;抗体效价;免疫反应

Study on preparation of universal plasma in Chinese Han population

WANG Shu-ying, ZHOU Wu, WANG De-qing. Department of Blood Transfusion, The Center for Clinical Transfusion Medicine, PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 **Objective** To explore optimal preparation method of universal plasma in Chinese Han population. **Methods** The optimal plasma ratios of A:B, A:AB and B:AB were assayed by tube agglutination method. Three factors influencing the preparation of universal plasma such as the proportion of plasma, reaction temperature and time, were analyzed by orthogonal design. **Results** The optimal plasma ratios were A:B=3:1, B:AB=1:3, and A:AB=1:2 respectively among 3 blood group. Orthogonal design showed antibody titers might be reduced to the standard of universal plasma with the plasma ratio of A:B=3:1, B:AB=1:3 and A:AB=1:2. However, the reaction temperature and time did not affect the antibody titers significantly. **Conclusion** Research data showed that the optimal universal plasma in Chinese Han population might be prepared by pooling plasma A:B:AB=6:2.5:1 at 22℃ for 1 h.

【Key words】 Universal plasma; Antibody titers; Immune reaction

新鲜冰冻血浆(fresh frozen plasma, FFP)是当前用量最大的血液制品,最初用于补充患者血容量,目前主要用于凝血功能异常、创伤、实施侵入性操作等引起的大出血,在救治危重患者中起到了不可替代的作用。但是输入 FFP 仍可引起过敏反应、输血相关急性肺损伤,其中由抗血型抗体引起的溶血反应最为严重,发生率为 1:500,采集、运输、输注过程是导致血型错误最常见的原因之一^[1-6]。

通用血浆是将各型血浆按照一定的比例混合,利用血型物质或抗独特型抗体中和抗血型抗体,降低抗血型抗体滴度,因此可以不考虑血型直接输入,避免输血错误,还可以节约时间,在急救和战中发挥重要的作用^[4,7]。通用血浆早在二战期间就有应用,当时由于没有进行病毒灭活,引起肝炎病毒的传播,战后禁用。90 年代 S/D 病毒灭活技术的发展与成

熟,引发了通用血浆的再生^[8-10]。目前国外的通用血浆有两种^[11],一种是选择低滴度抗体效价的四种血浆按照任意比例混合的 Bioplasma FDP,产于南非;另一种是由 Octapharm 公司生产的 Uniplas,选择三种血浆按照 A:B:AB≈7:2:1 的比例混合。实验研究及临床应用证明通用血浆具有优于 FFP 的性质:根除血型输入错误;减少输血相关急性肺损伤、过敏反应的发生;批量生产凝血因子含量统一,便于定量。因此通用血浆代表了血浆发展的方向。

欧美国家血型分布以 O 型和 A 型为主:O 型 50%,A 型 40%,B 型 7%,AB 型占 3%^[12],其中 A:B:AB≈11.4:2:0.8,与常用通用血浆比例接近;中国大陆居民 ABO 血型分布比例 O 型占 34.4%,A 型占 27.9%,B 型占 29.2%,AB 型占 8.5%,其中 A:B:AB≈3:3:1,可见,我国的血型分布与欧美国家不同,另有

研究^[13]报道由于环境的差异,不同种族的抗 A、抗 B IgM 滴度不同,目前中国尚没有通用血浆得到认可和应用,为了更合理使用有限的血浆资源,研究中国人群通用血浆的制备方案具有重要意义。

本文拟通过研究任意两种不同 ABO 血型最佳混合比例得到 A 型、B 型与 AB 型三者之间的适合混合比例,使之混合后达到目前临床应用血浆抗体滴度的要求即抗 IgM < 1:8^[12],同时研究抗体滴度的主要影响因素(混合比例、反应温度、反应时间)对其的影响,为我国小量制备和规模化生产通用血浆提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 健康献血者新鲜抗凝血(1-3 d, EDTA 抗凝),以离心半径 10 cm,3000 r/min 离心 5 min 得到血浆标本。实验用血浆由 10 人份(每份 5 ml)等量混合而成。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 离心机(日本 KUBOTA),试管、玻片、显微镜(日本 Olympus),标准红细胞(2%~4%的红细胞悬液 IMMUCOR 批号:110934),洗涤红细胞(自制 3%的红细胞悬液)。

1.2.2 抗体效价测定方法 倍比稀释盐水凝集法测定血型抗体 IgM 效价。结果观察和确认:用生理盐水加红细胞作阴性对照,用抗 A 抗体和 A 型红细胞做阳性对照,用显微镜观察结果。如抗体效价 < 1:2,记为 0。每次混合后的抗体效价变化需至少重复两次,结果一致时方可确认。

1.2.3 A 型血浆与 B 型血浆的最佳混合比例测定 先将 A 型血浆与 B 型血浆按照 1:1 的比例混合,观察抗体效价变化趋势,再确定比例方向。按同样步骤确定 A 型与 AB 型血浆及 B 型与 AB 型血浆的最佳混合比例。

1.2.4 影响因素分析 用正交设计分析三种血型配比比例、孵育温度和反应时间对混合后制品效价的影响。配比比例(根据 1.2.3 计算出 3 个比例)、反应时间(1 h、3 h、5 h)、孵育温度(4 ℃、22 ℃、37 ℃)作为三个因素,不考虑交互作用,用正交表 L₉(3⁴)确定最佳的生产方案后行验证试验。

1.3 统计学处理 抗体效价采用比值(1:2)的形式

表 1 A 型血浆与 B 型血浆按照不同比例混合后抗体效价

抗体	A 型	B 型	A:B= 1:1	A:B= 2:1	A:B= 3:1	A:B= 4:1	A:B= 5:1
抗 A IgM	-	1:32	1:4	1:4	1:2	0	0
抗 B IgM	1:32	-	1:2	1:2	1:2	1:4	1:4

记录,正交设计用 SPSS 17.0 统计软件进行方差分析,P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 A 型血浆与 B 型血浆的最佳混合比例 将 A 型血浆与 B 型血浆按照 1:1 的比例混合,结果显示见表 1:(1)二者混合后抗体效价会降低;(2)抗 A IgM 比抗 B IgM 降低的幅度小,所以增加 A:B 的比例。将 A:B 设为:2:1、3:1、4:1、5:1,进而确定最佳比例。当 A:B= 3:1 时两种抗体效价均最低,故将 A 型血浆与 B 型血浆的最佳比例定为 3:1。

2.2 A 型与 AB 型血浆及 B 型与 AB 型血浆最佳混合比例 结果见表 2、表 3,A 型与 AB 型血浆或 B 型与 AB 型血浆等比混合后效价下降不大,从理论上应该增加 AB 型血浆的比例。因考虑到血型分布,AB 型的比例不宜太高,将 B:AB 与 A:AB 的比例分别设为:1:1、1:2、1:3,认为 B:AB 与 A:AB 的最佳比例分别为 1:3、1:2。

表 2 A 型血浆与 AB 型血浆不同比例混合的抗体效价

抗体	A 型血浆原液	A:AB= 1:1	A:AB= 1:2	A:AB= 1:3
抗 B IgM	1:32	1:8	1:2	1:2

表 3 B 型血浆与 AB 型血浆不同比例混合的抗体效价

抗体	B 型血浆原液	B:AB= 1:1	B:AB= 1:2	B:AB= 1:3
抗 A IgM	1:32	1:8	1:4	1:2

2.3 正交试验结果 根据上述结果,将血浆 A:B 的比例固定于 3:1 附近,按血型 B:AB= 1:3、A:AB= 1:2 计算出三个比例:A:B:AB= 3.5:1:1;6:2.5:1;4:1:2。将这三个比例、三个反应时间(1 h、3 h、5 h)、三个反应温度(4 ℃、22 ℃、37 ℃)作为三个因素进行 3×3 正交设计,每个因素各水平进行随机编号,正交设计的结果如表 4。用 SPSS 17.0 进行方差分析(结果见表 5、表 6),表明各因素对抗 A IgM 及抗 B IgM 的影响均无统计学意义(P 均 > 0.05)。选择与中国大陆人群血型比例相近的比例,即 A:B:AB= 6:2.5:1,选择反应最短的时间 1 h,选择适宜生产的温度 22 ℃,将比例定为 A:B:AB= 6:2.5:1,反应时间 1 h,反应温度 22 ℃定为最佳生产条件。

2.4 验证试验 对 A:B:AB= 6:2.5:1,22℃,1 h 方案

表 4 正交试验结果

组别	A:B:AB	温度(°C)	时间(h)	抗 A IgM	抗 B IgM
1	6:2.5:1	22	1	0	1:2
2	6:2.5:1	37	5	0	1:4
3	6:2.5:1	4	3	1:2	1:2
4	3.5:1:1	22	5	1:2	1:4
5	3.5:1:1	37	3	0	1:2
6	3.5:1:1	4	1	0	1:4
7	4:1:2	22	3	1:2	1:2
8	4:1:2	37	1	1:2	1:2
9	4:1:2	4	5	1:2	1:4

表 5 正交试验方差分析结果:三种影响因素对抗 A IgM 的影响

因素	偏差平方和	F 值	P 值
比例	0.889	0.444	0.875
反应时间	0.889	0.444	0.875
温度	0.889	0.444	0.875

表 6 正交试验方差分析结果:三种影响因素对抗 B IgM 的影响

因素	偏差平方和	F 值	P 值
比例	0.889	1.000	0.500
反应时间	0.889	1.000	0.500
温度	6.222	7.000	0.125

进行三次验证试验,试验结果为抗 IgM $\leq 1:2$,表明所确定的生产条件符合标准。

3 讨论

本文通过研究任意两种不同 ABO 血型最佳混合比例到 A 型、B 型与 AB 型三者之间的适合混合比例,研究两种血浆最佳混合比例,一方面为通用血浆的制备奠定了基础,另一方面在只有两种血浆的情况下,为混合通用血浆的制备提供了试验依据,扩展了通用血浆的含义及应用。

研究三种血浆适合比例时运用了正交设计分析混合血浆抗体滴度的影响因素,可以节省大量人力、物力、财力和时间,并取得可靠的试验结果。正交实验经方差分析得 P 均 > 0.05 ,从统计学的角度表明混合比例、反应时间、孵育温度对混合血浆的抗体效价没有影响,从试验设计的角度分析能得出反应时间、孵育温度对混合血浆的抗体效价没有影响,至于比例只能说三种比例之间没有差异,并不是任意比例均可,因为三种血浆适合比例研究设计的前提是先将 A:B 定在 3:1 周围 (3:1、2.4:1、4:1),再按照 B:

AB= 1:3、A:AB= 1:2,用 AB 型血浆补偿,得出三个比例:A:B:AB= 3.5:1:1;6:2.5:1;4:1:2。从三种比例中选择最接近国内血型人口分布的比例 A:B:AB= 6:2.5:1,反应时间最短 1 h,即表 4 中 1 号试管显示的条件其中温度为 22 °C 的方案为最佳生产方案。与国外的两种通用血浆的比例 A:B:AB $\approx 7:2:1$ 或任意比例不同,是因为中国汉族人群血型分布、抗血型抗体滴度与国外均不同^[13]。

血浆制品对抗血型抗体 IgM 的标准是 $< 1:8$ ^[12],本实验混合血浆的抗 IgM $\leq 1:2$,低于现有的两种通用血浆 Uniplas (IgM $< 1:8$) 和 Bioplasma FDP (IgM $< 1:32$)^[11,14],给患者带来的威胁较小,更具有安全性,再次证明了本文研究中通用血浆制备方案的可行性。本实验以中国汉族人群自己的血浆为原料进行研究,立足于中国血型人口分布的基础之上,为通用血浆制备来源的比例协调性提供了保障,更加具有实用性。

血浆的混合降低抗体的同时,可能会带入抗原,抗原的类别及种类可能会使受血者产生不良反应,IgG 抗体在输血的不良反应发生中也占据了重要的位置,这些研究将在后续实验中进行。

总之,国内通用血浆制备时,按照 A:B:AB= 6:2.5:1、1 h、22 °C 的方案进行生产,可得到抗 A、抗 B IgM $\leq 1:2$ 的混合血浆。此方案是国内首次提出的通用血浆制备方案,为中国研制通用血浆提供了理论基础。

4 参考文献

- O'Shaughnessy DF, Atterbury C, Bolton Maggs P, et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Haematol*, 2004, 126: 11-28.
- Teixeira PG, Inaba K, Shulman I, et al. Impact of plasma transfusion in massively transfused trauma patients. *J Trauma*, 2009, 66: 693-697.
- Kakkar N, Kaur R, Dhanoa J. Improvement in fresh frozen plasma transfusion practice: results of an outcome audit. *Transfus Med*, 2004, 14: 231-235.
- Solheim BG. Universal pathogen-reduced plasma in elective open-heart surgery and liver resection. *Clin Med Res*, 2006, 4: 209-217.
- Baele PL, De Bruyere M, Deney V, et al. Bedside transfusion errors. A prospective survey by the Belgium Sanguis group. *Vox Sang*, 1994, 66: 117-121.
- Solheim BG, Granov DA, Juravlev VA, et al. Universal fresh-frozen plasma (Uniplas): an exploratory study in adult patients undergoing elective liver resection. *Vox Sang*, 2005, 89: 19-26.
- Spalter SH, Kaveri SV, Bonnini E, et al. Normal human serum contains

natural antibodies reactive with autologous ABO blood group antigens. *Blood*, 1999, 93:4418-4424.

8 Horowitz B, Bonomo R, Prince AM, et al. Solvent/detergent-treated plasma: a virus inactivated substitute for fresh frozen plasma. *Blood*, 1992, 79:826-831.

9 Biesert L, Suhartono H. Solvent/detergent treatment of human plasma—a very robust treatment method for virus inactivation. Validated virus safety of Octaplas. *Vox Sang*, 1998; 74:207-212.

10 Solheim BG, Rollag H, Svennevig JL, et al. Viral safety of solvent/detergent-treated plasma. *Transfusion*, 2000, 40:84-90.

11 Solheim BG, Chetty R, Flealand O. Indications for use and cost-effectiveness of pathogen-reduced ABO-universal plasma. *Curr Opin Hematol*, 2008, 15:612-617.

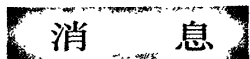
12 Bihm DJ, Ettinger A, Buytaert-Hoefen KA, et al. Characterization of plasma protein activity in riboflavin and UV light-treated fresh frozen plasma during 2 years of storage at -30 degrees C. *Vox Sang*, 2010, 98:108-115.

13 Mazda T, Yabe R, NaThalang O, et al. Differences in ABO antibody levels among blood donors: a comparison between past and present Japanese, Laotian, and Thai populations. *Immunohematology*, 2007, 23:38-41.

14 Tølløfsrud S, Noddeland H, Svennevig JL, et al. Universal fresh frozen plasma (Uniplas): a safe product in open-heart surgery. *Intensive Care Med*, 2003, 29:1736-1743.

(收稿日期:2011-01-02)

(本文编辑:陈淑莲)



关于举办医院绩效管理专题学习班的通知

为建立符合医疗事业单位特点及科学化的绩效考核制度,提高医疗机构管理者的绩效考核制度管理能力。特邀请全国绩效管理最显著的医院,绩效考核制度的直接操盘手进行交流学习,拟于2011年4月在海口举办“医院绩效管理专题学习班”。培训由中国医院协会评价与评估部和海南省医院协会联合举办。现将有关事宜通知如下。

1 培训内容

1、机关干部绩效设计;2、科室主任绩效设计;3、科室医生、护理人员绩效的设计;4、后勤人员绩效设计;5、绩效管理应注意的问题等。

2 培训时间及地点

培训时间:(第一期)2011年4月1日-7日,1日全天报到。(第二期)2011年4月15日-21日,15日全天报到。

培训地点:海南省海口市。

3 培训师资简介

王诚丽:教授,主任医师,湖南郴州市人民医院副院长。

4 参加人员

医院院级领导、财务经管部门负责人及相关人员。

5 学分

参加人员授予一级继续教育学分4分。

6 会议论文

欢迎有学术和实践指导价值的论文,有论文者请携带论文参加会议。

7 报名转账事项

提前10d报名并汇款,培训费优惠800元/人;

开户行:中国工商银行龙昆北路支行;

户名:海口欧亚达会展服务有限公司;

账号:2201021609200066582;

汇款请注明:绩效管理第n期。为方便查询,请将汇款凭证传真:0898-68587690。

8 组织及报名事项

主办单位:中国医院协会评价与评估部

承办单位:海南省医院协会

协办单位:海口欧亚达会展服务有限公司

报名方式:须在报名回执注明参加第几期培训班学习。

报名事项:①传真报名:请提前10d填写好报名回执表,发送传真。传真:0898-68587690 杨老师(收);②E-mail:培训班组委会信箱:ouyadahuizhan@163.com;③电话报名:电话:0898-68587692(杨老师),手机:13976689808;电话:0898-68587691(周老师),手机:13519808208。