

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.

- [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)

• 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<sup>1</sup>, 范月珍<sup>1</sup>, 黄丽芳<sup>1</sup>, 黄 键<sup>1</sup>综述, 孙学战<sup>2</sup>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<sup>[1]</sup>、YY/T0287<sup>[2]</sup>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<sup>[3]</sup>。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<sup>[4]</sup>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<sup>[5]</sup>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。

**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<sup>[6]</sup>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

高对血液标本产生的影响,同时也可减少固体添加剂溶解时可能产生的局部温度变化对血液标本的影响<sup>[7-9]</sup>。添加剂浓度直接关系到添加剂的添加量(以体积计),需经过临床反复试验综合考虑添加剂与血液混匀所需时间、渗透压,以及对真空容量的影响等因素进行选择。惰性物质(血液分离胶)通常为凝胶体<sup>[10-13]</sup>。

添加剂预置要求的控制是决定真空采血管质量、使用效果的重要因素。目前真空采血管添加剂的预置一般采用手动分配器预置和全自动添加(喷涂)设备预置 2 种。

**1.3.1 手动分配器预置真空采血管添加剂控制要求** 目前市场上销售的分配器基本都能够满足真空采血管添加剂的预置要求。但其多为实验室或科研单位设计,使用于生产,存在耐用性较差、分配劳动强度大等特点。作者选择 RAININ、EPENDORF 和 GILSON 分配器进行手工分配添加剂,发现过程控制能力(Cpk) $\geq 2.0$ <sup>[14]</sup>,能够满足产品对添加量的准确性和稳定性要求。分配器的使用应参照厂家说明书建立使用规范,进行使用控制,定期和不定期校正。

**1.3.2 全自动添加(喷涂)设备预置真空采血管添加剂控制要求** 全自动添加(喷涂)设备的出现有效地提高了添加剂预置效率,降低了人工成本。但其在使用过程中的影响因素也较多。由于设备采用排加,一次多支添加(喷涂),添加量极易出现误差,应严格规范程序,做好设备的维护保养,定时校正。另外,有些厂家为节约成本,几种添加剂使用一套添加(喷涂)管道和枪头,容易产生交叉污染。肖华勇<sup>[15]</sup>在阐述了肝素锂真空采血管受 EDTA-K<sub>2</sub> 污染后对生化结果造成的影响,生化结果经 F 检验,钙离子、血糖、钾离子、钠离子、氯离子、镁离子、二氧化碳等指标差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

目前,设备具有分散试剂和调节添加剂添加(喷涂)位置的能力,掌握添加剂的分散和预置位置要求是保证真空采血管添加剂预置质量的重要因素,因为添加剂的分散预置理论上利于其与血液的混合,发挥促凝或抗凝作用;若医护人员抽血完成后不进行混匀作业,反而会因为添加剂分布范围超出血液抽血位置的添加剂因无法与血液接触而不起作用,改变添加剂与血液的配比比例,而影响产品质量的发挥。同时,也可能因为添加剂的预置位置过高,位于试管管口,影响胶塞与试管配合,并使部分添加剂位于胶塞与试管接合缝内,使该部分添加剂难以溶解于血液,从而影响血液与添加剂的配比或在该处形成血凝圈和局部高渗而引起溶血,离心后纤维蛋白飘挂,影响检测或引起仪器堵塞。

目前,国内全自动添加(喷涂)设备普遍通过定量抽吸原理或定流原理(通过压力使添加剂恒流于通道管内,再通过开关定时的启闭来控制添加剂的预置量)来实现定量添加(喷涂)。

定量抽吸原理设计的全自动添加(喷涂)设备需配备精准的抽吸器件,并给予抽吸器件充足的反应时间。国内该类设备一般固定添加剂的预置量,只能通过改变添加剂浓度来适应设备,适用范围较窄;该类设备虽然具有一定的稳定性,但却仍有较多影响因素,添加剂品项和浓度的改变都会引起添加量预置的改变,在添加(喷涂)过程中应注意添加剂供应是否充足,并确保不产生气泡(或气泡有被妥善处理)。该类设备多用于预置量较为准确、精密,且试剂添加量可通过浓度改变来实现的抗凝添加剂的添加(喷涂)。

定流原理设计的全自动添加(喷涂)设备通过压力迫流于

管道实现添加剂预置,要求压力供应平稳[确保每次添加(喷涂)时压力的作用是一致的]且精准;管道内表面光滑、并经硅化处理,管道接口合理。设备操作人员应熟悉设备的性能和添加剂的预置要求,考虑添加剂的黏滞性和后续迫流气体供应补充,在每次生产作业前进行验证,并在生产作业过程注意添加剂供应是否充足,确保不产生气泡(或气泡有被妥善处理)。该类设备多用于预置量较大或悬浮液体试剂的添加(喷涂),如二水合柠檬酸三钠、促凝剂等。

## 2 真空采血管在临床应用中的影响因素

**2.1 真空采血管采血后的混匀** YY 0314-2007 第 5.2 条中要求“装有添加剂的采血管,应提供振摇混合的自由空间或其他物理混合方法”。结合采血管的特点,行业基本采用预留不少于 15% 体积的自由空间,通过在血液采集后轻轻颠倒混合 5~10 次<sup>[16]</sup>来制备全血、血清或血浆标本。

**2.2 添加剂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** WS/T 225-2002 推荐血液标本离心前一般应让其自行凝固,制备血清,不可用木棍等剥离凝块。通常标本于室温(22~25 ℃)放置 30~60 min 可自发完全凝集,冷藏标本凝集时间延长,含有促凝剂的标本收集管可加速凝集(如:凝血酶可使标本采集后大约 5 min 发生凝集,玻璃或二氧化硅微粒可使标本采集后大约 15 min 发生凝集)。实际临床应用中,血液标本制备血清常由于促凝剂效果、实验室温度和患者个体差异而有不同的离心时机,建议以较多量血清析出作为判断离心时机的标准。WS/T 225-2002 推荐血浆做标本时,采血后将血液注入含有相应抗凝剂的试管中,立即混匀(应注意避免有血凝块产生),混匀后可立即离心分离血浆。血清/血浆通常用(1 000~1 100)×g,离心 10 min 制备<sup>[16-18]</sup>。

各种添加剂的采血管适用于不同的临床检测项目,采血后对血液标本的检测时机和保存要求也不同。虽然 WS/T 225-2002 明确了常用抗凝剂适用的检测项目;但采血管制造商对质量控制程度存在差异,应对采血管的适用范围,适用检测项目的检测方法和干扰限进行确认。确认结果应在产品使用说明书中进行详尽说明,不同型号采血管的预期检测项目不同,因此应按型号编制说明书。

## 3 小 结

选择合格的原料、标准的添加剂配制、配制后的适当保存、确定适用的添加剂物理形态、选择合适的添加(喷涂)设备预置添加剂,并使其处于适当的物理形态,在抽血后进行适当处理。对上述各过程进行严格的质量控制,并按要求使用是确保制备高质量的血液标本的保证。最大限度地减少实验前误差,才能最大程度地发挥采血管的作用,为患者服务。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 19001-2008,质量管理体系要求[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [2] 中华人民共和国国家食品药品监督管理局. YY/T 0287-2003,医疗器械 质量管理体系用于法规的要求[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. WS/T 224-2002,真空采血管及其添加剂[S]. 北京:中国标准出版社,2002.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. YY 0314-2007,真空采血管[S]. 北京:中国标准出版社,2007.

- 理委员会. GB/T16483, 化学品安全技术说明书 内容和项目顺序 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB18280-2007, 医疗保健产品灭菌-确认和常规控制要求-辐照灭菌[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [6] 中华人民共和国国家食品药品监督管理局. YY0314-2007, 一次性使用人体静脉血样采集容器[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [7] 杨静, 周强, 郭鲁靖. 两种 EDTA 管在检测血常规指标上的差异性分析[J]. 医学检验与临床, 2007, 18(3): 86-88.
- [8] 舒旷怡, 许锴, 陈小剑. EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血在血沉检测中的应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(24): 3543-3544.
- [9] 栗军, 朱新勤, 王仲琼, 等. 国产 EDTA-K<sub>2</sub> 真空采血管的临床试用[J]. 华西医学, 2001, 16(2): 218-219.
- [10] 赵翠霞. 影响凝血试验测定结果因素的探讨[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(15): 2652-2653.
- [11] 张伦军, 丁晓琳, 陈庆书, 等. 分离胶采血管对部分临床生化检验测定结果的影响[J]. 中华全科医学, 2010, 8(6): 773, 777.
- [12] 李勇, 陈大宁, 庄一义, 等. 分离胶制备的血清对常规生化指标测定结果的影响[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(4): 226-227.

- [13] 闫存玲, 李志艳, 燕容, 等. 分离胶采血管制备血清对血糖、补体 C3 和 NSE 测定结果及稳定性的影响[J]. 检验医学, 2009, 24(4): 260-263.
- [14] 柴永. 正确地认识和使用过程能力指数 Cp 和 Cpk[J]. 中国质量, 2007(2): 77-82.
- [15] 肖华勇. 肝素锂真空采血管内混入乙二醇四乙酸-2k 抗凝血液对血液生化检测结果的影响[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(11): 24-26.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. WS/T 225-2002, 临床化学检验血液标本的收集与处理[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [17] 陈玲, 牛华, 董云华, 等. 不同混匀时间对血细胞分析新鲜血定值结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(10): 1245-1247.
- [18] 王涛. 抗凝混匀不均血液标本对细胞计数的影响[J]. 中外医学研究, 2011, 9(34): 153-154.

(收稿日期: 2013-10-25)

• 综 述 •

## 趋化因子 CC 族受体 2 与动脉粥样硬化关系的研究进展

陈立强<sup>1</sup>, 王洋洋<sup>1</sup>, 林妙芬<sup>2</sup> 综述, 梁洁玲<sup>1</sup>, 李海珠<sup>1</sup> 审校

(1. 广东省肇庆市第一人民医院检验科, 广东肇庆 526060; 2. 广东医学院, 广东东莞 523808)

**关键词:** 动脉粥样硬化; 趋化因子受体; 单核细胞趋化蛋白-1**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.036**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2014)07-0883-03

动脉粥样硬化(AS)是一种血管炎症进展性疾病,其所致的心、脑血管疾病是严重危害人类生命健康的疾病之一。AS形成的确切机制未明确,但主要围绕脂质浸润、血栓形成和损伤反应 3 种学说。趋化因子 CC 族受体 2(chemokine receptor, CCR2)与其配体单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)结合后产生的下游细胞信号通路对 AS 的发生早期,即外周血中的单核细胞泡沫化并向动脉壁内膜损伤部位迁移、聚集、黏附及活化有重要作用,故 CCR2 与 AS 的发生与发展密切相关。本文对国内外关于 CCR2 在 AS 发生发展中的作用及研究进展进行综述。

### 1 CCR2 的基本特征

CCR2 属于 G 蛋白偶联受体,该受体均含有 7 个疏水性穿膜区段的单链受体,均由 3 个功能区,即胞外区(趋化因子结构区)、跨膜区(疏水性氨基酸富含区)和胞内区(信号转导区)组成,其 C 端区域位于胞质,含有多个丝氨酸和苏氨酸(Ser/Thr)的磷酸化部位,丝氨酸和苏氨酸的磷酸化作用激活受体下游的细胞信号通路<sup>[1-3]</sup>。其基因定位于 3 号染色体,相对分子质量为  $41 \times 10^3$ ,编码由 355 个氨基酸残基组成的蛋白,可以表达于单核细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、嗜碱性粒细胞、自然杀伤细胞和 T 细胞等。由于剪切方式不同,CCR2 分为 CCR2A 和 CCR2B 两种亚型。CCR2A 只与 MCP-1 特异性结合,而 CCR2B 除了与 MCP-1 结合外,还可与 MCP-2、MCP-3 和 MCP-4 结合,而 CCR2B 是单核细胞主要的趋化因子受体<sup>[4-6]</sup>。

### 2 CCR2 及其信号转导机制

CCR2 与 MCP-1 结合后通过细胞膜上 G 蛋白偶联受体的磷脂酰肌醇途径产生一系列反应,从而引起靶细胞效应,参与机体许多生理功能的调节。其信号传递过程包括:(1)配体与受体结合;(2)受体活化 G 蛋白;(3)G 蛋白激活或抑制细胞中的效应分子;(4)效应分子改变细胞内信使的含量与分布;(5)细胞内信使作用于相应的靶分子,从而改变细胞的代谢过程及基因表达等功能<sup>[7-8]</sup>。目前研究发现,CCR2 信号转导机制可能通过依赖于 G 蛋白的亚单位,去直接抑制腺苷酸环化酶的活性,减少细胞内 cAMP 水平,还可能通过活化磷脂酶 C 而增加三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)和甘油二酯(DAG)的产生,进而活化蛋白激酶 C,并引起胞质内 Ca<sup>2+</sup> 水平升高<sup>[9-10]</sup>。也有研究发现,酪氨酸激酶和丝氨酸蛋白酶诱导的受体降解与 MCP-1 激活 CCR2 后引起的下调有关,蛋白激酶 C $\beta$  在受体后的信号传导途径中起作用<sup>[11-13]</sup>。

### 3 CCR2 与 AS 的关系

**3.1 CCR2 在调节内皮增生中的作用** CCR2 对于 AS 发生发展所起重要作用的直接证据来源于对 CCR2 基因缺失小鼠的研究,通过对 CCR2 基因敲除小鼠股动脉损伤的研究,发现 CCR2<sup>-/-</sup> 小鼠动脉损伤处周围内膜面积比 CCR2<sup>+/+</sup> 的小鼠内膜面积小,其内皮/中层比值也比 CCR2<sup>+/+</sup> 的小鼠低,说明 CCR2 的缺失具有削减内皮增生的作用。而对 CCR2<sup>-/-</sup> 和 CCR2<sup>+/+</sup> 两种基因型的小鼠进行动脉损伤之后发现 CCR2<sup>-/-</sup> 小鼠的内膜增生较 CCR2<sup>+/+</sup> 小鼠明显减少,由此认为 MCP-1/CCR2 通路在 AS 斑块内血管平滑肌细胞增殖和迁移过程中发