后动脉及其肌间隙支穿出点，如无条件，轴点一般设计在内踝上7 cm处[1]。携带肌肉时最好切取腓肠肌内侧头远端全部带上，包含腓肠内动脉远端穿支，这样能很好保证肌肉血供。切取骨块时应注意保护骨周围软组织，防止骨与周围组织分离，影响血供。皮瓣蒂部下移时应考虑蒂部血管口径，如果口径太小，血供可能不足以营养大面积皮瓣，导致皮瓣远端坏死。皮瓣切取较长时，远端尽量向腘窝方向延长，保证链型血管的连续性，防止皮瓣远端坏死，本组1例因为小腿后侧外伤，皮瓣远端被迫切取到髌骨中段，术后远端部分坏死。因此在术前设计皮瓣时应考虑小腿上段外伤情况，否则皮瓣长轴不宜太长，皮瓣远端有坏死风险。

关键词：外科皮瓣；链型皮瓣；胫后动脉；复合组织瓣；修复
中图法分类号：R658.3 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] 魏在荣，王玉明，王达利，等. 胫后动脉内踝上肌间隙支逆行岛状皮瓣的解剖观察及临床应用[J]. 中华整形外科杂志，2007，23(4)：293－294.
[2] Salvana J, Rodner C, Browner B D, *et al*. Chronic osteomyelitis: results obtained by an integrated team approach to management[J]. Conn Med, 2005, 69(4): 195－202.
[3] Le-Fourn, Caye N, Pannier M. Distally based sural fasciomuscular flap: anatomic study and application for filling leg or foot defects[J]. Plast Reconstr Surg, 2001, 107(1): 67－72.
[4] 郑和平，徐永清，张世民. 皮神经营养血管皮瓣[M]. 天津：天津科学技术出版社，2006：174－177.

（编辑 王小寒）

经验交流

文章编号：1000-5404(2009)21-2162-02

－80 ℃冰箱冷冻保存恶性血液病患者自体外周血造血干细胞的临床应用

陈月宽，谭成孝，张绍基，袁 钟 （贵州省遵义医学院附属医院输血科，贵州 遵义 563003）

自体干细胞移植(autologous peripheral blood stem cell transplantation，APBSCT)是治愈某些恶性血液病的有效手段之一。除采集的干细胞$CD34^+$细胞数是否达到最低阈值[(1～2)×10^6/kg]以上外，干细胞冻存方法直接影响造血干细胞存活率的高低，是APBSCT是否成功的关键技术。我科自2007年1月至2008年5月为7例APBSCT患者进行了12次自体干细胞采集，平均采集次数1.7次/例，每次采集干细胞均用造血干细胞低温保护剂保护并直接在－80 ℃冰箱冷冻保存，取得了很好的效果，现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

7例患者进行APBSCT，男性5例，女性2例，年龄17～46岁，平均31.5岁。体质量45～72 kg，平均58.5 kg。其中急性淋巴细胞性白血病(ALL)1例，急性单核细胞性白血病2例，恶性淋巴瘤(Ⅲ～Ⅳ期)4例。干细胞采集前均做骨髓穿刺涂片镜检，证实白血病已缓解、淋巴瘤患者无肿瘤细胞浸润骨髓。

1.2 仪器与试剂

CS-3000plus血细胞分离机、医用冷冻保存袋(Baxter公司)，KJX型冰冻血浆解冻箱，GZR-I型自动高频热合机(苏州生物仪器)，－80 ℃深低温冰箱(日本三洋)，造血干细胞低温保护剂(成分：二甲基亚砜、右旋糖酐、白蛋白、营养素。上海三生生物技术有限公司)，血液保存液-Ⅰ(四川省南格尔医学股份有限公司)，Facscalibur型流式细胞仪，检测$CD34^+$细胞试剂盒(ProcoUNT progenitor cell enumeration，美国BD公司)，SW-CJ-IFD净化工作台(苏州安泰空气技术有限公司)。

1.3 APBSC动员与APBSC采集

联合化疗加粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员，白细胞(WBC)降至最低点后开始恢复时给G-CSF(150 μg，皮下注射，每天1次，5～7 d)，当WBC≥5.0×10^9/L，血小板(PLT)≥50×10^9/L时，用血细胞分离机对患者行外周血干细胞采集[1]。

1.4 外周血干细胞冻存

从－20 ℃冰箱中取出造血干细胞低温保护剂，放入4 ℃冰箱中融化。在无菌环境下，把装有造血干细胞浓缩液的采集袋放入冰水浴中，用分浆器连接采集袋与保护剂袋，保护剂缓慢加入到干细胞浓缩液里，并不断摇晃采集袋，使干细胞浓缩液与低温保护剂充分混匀。干细胞低温保护剂与干细胞浓缩液按4∶1的比例混合，将混合液装入规格为100 ml医用冷冻袋中，每袋装入量为50～70 ml，为防止冷冻袋在冻融过程中气体膨胀导致冷冻袋爆裂，用50 ml规格注射器将冷冻袋内的空气抽净，严密封口后将分装有干细胞的冷冻袋直接平放于－80 ℃冰箱中保存。并留取少许干细胞浓缩液作外周血单个核细胞(MNC)计数与$CD34^+$细胞检测，同时用台盼蓝拒染法测定干细胞存活率。

1.5 外周血干细胞的复苏与回输

患者经临床预处理后行自体干细胞回输。回输前将冷冻袋从－80 ℃冰箱中取出，立即放入40 ℃水浴箱中快速复苏，并不断摇动冷冻袋，使其在1～2 min内完全溶解，将完全溶解的干细胞用输血器快速回输入患者体内，以防止时间过长导致二甲基亚砜对造血干细胞的损伤。回输前给患者注射抗组胺药物和地塞米松以预防过敏反应，回输时密切观察患者的生命体征，回输后立即将冷冻袋中剩余的干细胞残留液送检，作MNC计数、$CD34^+$细胞的检测与干细胞存活率测定[1]。

2 结果

采集的自体干细胞冻存21～69 d解冻复苏后回输，在回输

作者简介：陈月宽，男，贵州省仁怀市人，主管技师，主要从事临床输血检验方面的研究。E-mail：yuekuan822@126.com
收稿日期：2009-02-17；**修回日期**：2009-03-09

过程中,3 例发生呕吐,减慢输注速度后呕吐消失;1 例干细胞解冻后,其中 1 袋干细胞在输注时部分干细胞在输血器内发生凝集,更换输血器后继续输注凝集现象消失。7 例患者移植后造血功能均重建,其中中性粒细胞 $>0.5\times10^9$/L 和 PLT $>20\times10^9$/L 恢复的平均时间分别为 10 d 与 15 d,6 例患者康复出院,经 6 ~ 12 个月后随访持续完全缓解;1 例淋巴瘤患者移植后 3 个月复发。

7 例 APBSCT 患者所采集干细胞在冻存前与冻存后 $CD34^+$ 细胞、MNC 计数、干细胞存活率结果见表 1。

表 1　外周血自体干细胞采集冻存前及复苏后结果

病例	MNC(10^8/kg)		$CD34^+$(10^6/kg)		干细胞存活率(%)	
	冻存前	复苏后	冻存前	复苏后	冻存前	复苏后
1	12.45	10.56	10.36	8.9	94	82
2	4.3	3.6	1.47	1.22	96	82
3	6.67	5.29	1.89	1.2	93	85
4	2.7	2.4	1.11	1.05	96	87
5	2.66	2.2	1.9	1.87	96	87
6	2.9	2.67	1.11	1.04	97	86
7	5.87	4.95	1.39	1.28	97	88

3　讨论

造血干细胞冻存的关键主要在于选择合适的冻存保护剂,合适的冻存方法及适宜的冻存温度[2]。用程控降温仪冷冻细胞、然后将造血干细胞保存于液氮的经典方法已有几十年的历史,其效果较好,复苏的细胞损失少,细胞存活率及回收率均较高,但费用昂贵、操作复杂,融化后有一部分细胞易凝集,在一些基层单位不易开展[2]。自 Stiff 等[3] 于 1983 年应用 6% HEC、5% DMSO、4% 人血白蛋白(HSP)作为冷冻保护剂,经非程控降温冷冻保存造血干细胞,取得很好的效果。1997 年 Katayama 等[4] 应用上述方法对 PBHSC 直接冻存于 -80 ℃冰箱中,5 年后观察发现细胞活性为 80%,表明长期保存和短期冷冻保存没有多大的差别。文献[2]报道采用联合冷冻保护剂保存于 -80 ℃条件下,可以不经程控降温,造血干细胞的活性可以在 1 年内无明显下降。

离体造血干细胞采集在体外 4 ℃保存 4 d,造血干细胞回收率就会下降到 50% 以下[5]。为了提高干细胞存活率,我们对 7 例 APBSCT 患者所采集的自体干细胞,均加入干细胞低温保护剂,直接放入 -80 ℃冰箱冷冻保存,解冻后干细胞存活率为 82% ~ 88%,达到了满意的效果。由于保护剂中含有二甲基亚砜,它在常温下对细胞具有毒性作用,同时加入速度过快,产生局部浓度过高,也会对细胞造成局部损伤。为避免上述不良现象发生,将装有干细胞的采集袋放入提前准备的冰水中,并控制加入保护剂的速度,缩短操作时间。我们认为用厂家生产的造血干细胞低温保护剂保护造血干细胞直接在 -80 ℃冰箱冷冻保存,具有操作简便、安全可靠、容易掌握、费用低廉、冻存时间短、融解后细胞不易团聚、易于质量控制、移植患者造血功能重建快、有较好的疗效、干细胞存活率高等优点。对恶性血液病患者实行自体干细胞移植提供了来源简便、存活率较高的干细胞,易于基层医院推广使用。

关键词:自体外周血造血干细胞;-80 ℃冻存;移植
中图法分类号:R457　　**文献标识码**:B

参考文献:

[1] 陈月宽,付书南,方　宁, 等. 自体外周血造血干细胞的采集[J]. 贵州医药, 2008, 32(9):836 - 837.
[2] 蔡永国, 张冀军. F68 及其联合 DMSO 对脐血造血细胞的低温保护作用[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(11): 1293 - 1295.
[3] Stiff P J, Murgo A J, Zaroulis C G, *et al*. Unfractionated human marrow cell cryopreservation using dimethylsulfoxide and hydroxyethyl starch[J]. Cryobiology, 1983, 20(1): 17 - 24.
[4] Katayama Y, Yano T, Bessho A, *et al*. The effects of a simplified method for cryopreservation and thawing procedures on peripheral blood stem cells[J]. Bone Marrow Transplant, 1997, 19(3): 283 - 287.
[5] 王秋实, 王　欢, 杨巧妮. 阶段降温冷冻保存淋巴瘤患者自体造血干细胞临床应用观察[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(1): 34 - 35.

(编辑　王小寒)

文章编号:1000-5404(2009)21-2163-02

经验交流

气管插管吸引抢救羊水胎粪污染新生儿的临床意义

倪飞英　　(贵州省遵义市妇女儿童医院妇产科,贵州 遵义 563003)

呼吸道内的黏液常是新生儿窒息的重要原因,清理呼吸道不仅可以降低新生儿窒息,而且还可以降低由它引起的呼吸道疾病。研究表明新生儿复苏率为 4% ~ 6%,但体质量低于 1 500 g 以下者复苏率可高达 80%。缺氧超过 3 min,常造成中枢神经系统损害,53% 在 1 周内死亡,存活的小儿也会留下神经系统后遗症[1]。而气管插管能在直视下通畅呼吸道,及时有效地改善新生儿缺氧状态。现将我院气管插管的经验介绍如下。

作者简介:倪飞英,女,贵州省遵义市人,副主任医师,主要从事妇科腹腔镜、妇科肿瘤方面的研究。电话:(0852)8823264, E-mail:nfeiying@163.com

收稿日期:2009-03-13;**修回日期**:2009-04-07

1　资料与方法

1.1　一般资料

将 2007 年 1 月 1 日至 2008 年 12 月 31 日在我院分娩的产妇共 4 290 例作为观察对象,其中剖宫产分娩 2 412 例,剖宫产率占 56.2%,阴道分娩 1 878 例,阴道分娩率占 43.8%。均为生育期女性,年龄 18 ~ 39(26 ± 3.5)岁;孕龄 31 ~ 43^{+5} 周,平均 39^{+5} 周;其中经产妇 2 608 例,占 60.79%;初产妇 1 682 例,占 39.21%。2 年间分娩的羊水Ⅱ ~ Ⅲ度胎粪污染者有 684 例,发病率为 15.94%。羊水胎粪污染的分度,按妇产科学分为 3