

研究亚甲蓝光化学法病毒灭活对血浆有效成分的影响

何锐洪

(广东中山市中心血站, 广东中山 528403)

摘要:目的 探讨亚甲蓝光化学法病毒灭活对血浆主要质量指标的影响及亚甲蓝残留情况。方法 分别于病毒灭活前和病毒灭活后无菌留取血浆标本,对凝血因子 V、Ⅷ、Ⅸ、血浆纤维蛋白原(Fg)、血浆总蛋白(TP)的含量及病毒灭活血浆亚甲蓝残留量进行测定。结果 亚甲蓝光化学法病毒灭活对血浆蛋白浓度无明显影响,而凝血因子、纤维蛋白原含量均有一定程度的降低,但仍然符合国家标准,经过滤除去亚甲蓝,其亚甲蓝残留量小于 0.3 μmol/L,符合质量标准。结论 亚甲蓝光化学法是一种安全、有效、实用的单袋血浆病毒灭活的方法。

关键词:血浆病毒灭活; 亚甲蓝; 血液凝固因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1721-02

成分输血在临床上的应用日益广泛,血浆用量大,尽管血液检测的水平在不断提高,但因检验方法与试剂灵敏度局限、窗口期、病毒检测种类局限、新病毒的出现等原因,经血传播病毒的危险性依然存在。病毒灭活可以降低经血传播疾病的风险,因此寻找有效的病毒灭活方法,是保证血浆安全应用的重要措施。亚甲蓝光化学是一种单袋血浆病毒灭活方法,该法灭活血浆中病毒的效果已被证实,我国部分地区血站已推广应用。本血站自 2012 年 7 月起,采用该法对血浆进行病毒灭活,为分析亚甲蓝光化学法对血浆主要质量指标的影响,以及亚甲蓝残留量的情况,我们检测了血浆病毒灭活前后血浆主要质量指标的变化及亚甲蓝残留量,现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 一般资料 2012 年 7 月至 2012 年 10 月,每月分批次随机抽取新鲜血浆 100 袋,分别于病毒灭活前和病毒灭活后无菌留取血浆标本各 1 mL,置专用冰箱待测。

1.2 试剂与仪器 费森尤斯传统血袋;中保康一次性使用病毒灭活装置配套用输血过滤器(ZBKMB03);中保康医用血浆病毒灭活柜(ZBK-YBM-01);大容量离心机(日立 CR7);无菌接驳机(费森尤斯);半自动生化分析仪(上海科华);总蛋白试剂盒(中生北控);Coatron-1800 型全自动血凝仪(德国美创公司);凝血因子 V、Ⅷ、Ⅸ、Fg 含量的测定试剂盒(德国美创公

司);亚甲蓝标准品(山东中保康公司);甲醇(色谱纯);冰乙酸(色谱纯);去离子水;萃取小柱 Waters OASIS HLB;真空泵(天津恒奥)。

1.3 方法

1.3.1 新鲜血浆制备 三联采血袋采血后,3 h 内的血液经 3 800 r/min,5 min 两次离心,分离出新鲜血浆。

1.3.2 病毒灭活血浆制备 上述新鲜血浆通过无菌接驳机接通病毒灭活装置,血浆经亚甲蓝壶冲入血浆病毒灭活装置,血浆亚甲蓝浓度约 1 μmol/L,热合断原血浆袋后,血浆置病毒灭活柜中照射 35 min,光照度 30 000~40 000 光照单位,摆动频率 60 次/分,温控 4~6 ℃,病毒灭活后经过滤器除去亚甲蓝,速冻,制得病毒灭活血浆。整个过程于采血后 6 h 内完成。

1.3.3 检测方法 凝血因子及血浆纤维蛋白原(Fg)含量采用凝固法在全自动血凝仪上测定,血浆蛋白浓度采用双缩脲在半自动生化仪上测定,亚甲蓝残留量采用分光光度法,严格按仪器及试剂说明书操作。

1.4 统计学处理 检测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 新鲜血浆病毒灭活前和病毒灭活后,凝血因子 V、Ⅷ、Ⅸ、Fg 和血浆总蛋白(TP)的含量测定结果见表 1。

表 1 部分凝血因子和血浆总蛋白含量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=100$)

项目	V (IU/mL)	Ⅷ (IU/mL)	Ⅸ (IU/mL)	Fg(g/L)	TP(g/L)
灭活前	0.97±0.28	0.98±0.30	0.99±0.32	2.35±0.72	57.8±6.42
灭活后	0.80±0.26	0.80±0.36	0.82±0.29	2.01±0.65	56.4±6.79
<i>t</i> 值	12.68	13.11	2.57	9.88	1.02
<i>P</i> 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05
回收率	82.7%	81.8%	82.8%	85.5%	98.3%

2.2 病毒灭活血浆的亚甲蓝残留量检测结果见表 2。

表 2 病毒灭活血浆的亚甲蓝残留量检测结果($\bar{x} \pm s, n=100$)

	血浆亚甲蓝浓度(μmol/L)	亚甲蓝滤除率(μmol/L)
过滤前	1	—
过滤后	0.07±0.03	93%

—:无数据。

3 讨论

随着检测技术的进步和血液管理措施的完善,因输血导致

病毒感染的几率已经大大降低了,但目前的病毒检测技术也存在以下局限:(1)感染早期,病毒血清标志物出现以前,现行的检测方法不能将病毒检出;(2)由于技术、时间与费用的限制,病毒检测的种类是有限的;(3)病毒变异以及不断发现的新病毒。有些不常见的病毒如人类 T 淋巴细胞白血病病毒(HTLV)、西尼罗病毒(WNV)、EB 病毒等在大多数国家均未被列入血液常规检测,仅仅依靠献血者筛选和血液检测不可能完全杜绝输血相关的病毒感染。再者由于我国人群中肝炎病毒携带者所占比例明显高于发达国家,输血传播肝炎病毒的风

险亦会相应增高,个别地区输血传播 HBV 的风险甚至高达 1 : 9 000^[1]。因此,对血浆进行病毒灭活处理,是进一步降低输注血浆传染病病毒危险性的必要措施。

亚甲蓝是一种碱性生物染料,可与病毒的核酸与脂质包膜相结合,在可见光的作用下,产生单态氧,破坏病毒蛋白和核酸的结构及功能,能杀灭大多数的脂质包膜病毒和部分非脂质包膜病毒^[2]。德国等欧洲国家早在上世纪 90 年代就已研发成功亚甲蓝光化学血浆病毒灭活的第一代技术,自 1992~1999 年部分欧洲国家至少已使用了亚甲蓝光化学病毒灭活血浆 300 万单位以上,临床效果良好。我国上海血液中心在 20 世纪 90 年代中期,开发成功以荧光照射光源和配置亚甲蓝去除滤器为特点的亚甲蓝光化学血浆病毒灭活技术,随后该项技术在我国被逐步推广,使用该技术的单位也逐年增多。2004 年亚甲蓝光化学血浆病毒灭活技术被列入世界卫生组织“人血浆制品病毒灭活或去除指南”。欧盟和英国输血指南亦均纳入了该项技术。

本血站自 2012 年 7 月起,采用亚甲蓝光化学法对血浆进行病毒灭活,亚甲蓝光化学法病毒灭活可能对血浆的主要质量控制指标有不同程度影响,考虑到在新鲜血浆所含的诸成分中,以不稳定的凝血因子对理化作用较为敏感^[3-4],故为研究亚甲蓝光化学法病毒灭活对血浆有效成分的影响,我们以不稳定凝血因子 V、Ⅷ、Ⅸ、Fg 灭活前后的含量对比及回收率作为指标。本试验表明(表 1),经 1 μmol/L 亚甲蓝加荧光(30 000~40 000 Lux)照射 35 min 后,血浆 V、Ⅷ、Ⅸ、Fg 等凝血因子的含量与灭活前相比,均有一定程度的降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),但回收率均大于 80%,在国际公认的可接受范围内,含量也符合国家质量标准,对临床输注效果不会产生大的影响,与国内外其他的实验所得的结果相似^[5]。同时,经甲蓝光化学法病毒灭活后血浆总蛋白质的含量没有明显变化($P > 0.05$),回收率达到 98.3%,也与国内外其他的实验所得的结果相似^[6]。我们分析,灭活过程中的热效应和光化学反应是凝血因子活性及 Fg 含量改变的重要因素^[7],除了热效应和光化

• 检验技术与方法 •

学反应是凝血因子Ⅷ含量变化的重要影响因素之外,还与时间、温度、耗材和测量的方法等诸多因素有关。

亚甲蓝为国家药典收录的静脉注射药物,药典规定一次用量不超过 200 mg,24 h 总量不超过 500 mg。本研究结果(表 2)显示,亚甲蓝残留量为(0.07±0.03)μmol/L,远低于国家标准的 0.3 μmol/L,即使患者大量输注亚甲蓝病毒灭活血浆,所接受的亚甲蓝剂量也远低于安全用量范围。因此,亚甲蓝光化学法是一种安全、有效、实用的单袋血浆病毒灭活的方法。

参考文献

- [1] 欧阳玲,黄建国,谢秀华,等. 核酸检测技术在深圳地区献血者血液病毒筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):764-765.
- [2] Epe B, Pflaum M, Boiteux S, et al. DNNA DAM damage by Photo-sensitizers in cellular and cell-free system[J]. Mutation Research, 1993,299(3/4):135-145.
- [3] Piet MPJ, Chin S, Prince AM, et al. The use of tri(n-butyl) Phosphatedetergent mixture to inactivate hepatitis viruses and human immunodeficiency viruses in plasma and plasma fractionation[J]. Transfusion, 1990,30(4):591.
- [4] Wagner SJ, Cifone MA, Murli H, et al. Mammalian genotoxicity assessment of methylene blue in plasma: implications for virus inactivation[J]. Transfusion, 1995,35(3):407.
- [5] 陈镇周,肖明星,陈湘屏,等. 亚甲蓝光化学法病毒灭活对血浆质量的影响[J]. 中国输血杂志,2011,24(6):490-491.
- [6] 古醒辉,马兰,王飞,等. 亚甲蓝光化学法血浆病毒灭活前后血浆总蛋白的变化分析[J]. 中国自然医学杂志,2009,11(5):379-380.
- [7] 程玉根,柏则蓉,贾红志. 亚甲蓝光化学法灭活血浆病毒对血浆成分的影响[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版),2007,4(1):169-170.

(收稿日期:2013-01-11)

自制红细胞检测低频率抗“Mur”抗体的临床探讨

蔡葵

(佛山市第一人民医院输血科,广东佛山 528000)

摘要:目的 目前国内应用于基层医院的 3 种意外抗体筛查谱细胞,大部分缺乏对低频抗“Mur”抗体的检测。本文研究探讨自制红细胞检测低频率抗 Mur 抗体的临床可行性,以便为待输血者选择相合的血液成分,预防输血反应,确保输血安全。**方法** 用上海血液生物医药责任公司的谱细胞(一套 10 种,含 Mur 抗原)对我院输血前传染病学检测阴性患者进行抗“Mur”抗体检测,然后取抗体滴度大于 128 的血清对 O 型健康献血者进行普选,取抗原抗体反应阳性超过 3+ 的红细胞作为筛查细胞,与 3 种意外抗体筛查谱细胞一起对该院输血患者进行意外抗体筛查,阳性者再以 10 种谱细胞进行抗体确认。**结果** 4 000 例抗体筛查中抗“Mur”抗体阳性 32 例,阳性率为 0.8%。**结论** 在国内基层医院缺乏对低频抗“Mur”抗体的检测的情况下,自制红细胞检测低频率抗“Mur”抗体某种意义上弥补了这方面的空白,保证了输血安全,为未来运用到基层医院的意外抗体筛查谱细胞的商品化生产提供临床信息,在临床实践中具有一定的实用价值。

关键词:意外抗体; 谱细胞; 抗 Mur 抗体; 输血反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1722-03

国际输血协会(ISBT)对原归类于 Miltenberger 血型系列的,已经研究清楚了其抗原表位、基因及其相关分子的一些抗原归类于 MNS 血型系统,其中 Mur 抗原,命名为 MNS10(002.010)^[1]。研究显示,Mur 抗原在西方人群中为低频率抗

原,临床意义小^[2],但在亚洲人群中却具有较高的分布频率(5%~10%),泰国人为 9.7%,我国香港和台湾地区人群分别为 6.28%和 7.3%^[3]。邓诗桢等^[8]报道番禺地区 Mur 抗原发生频率为 0.21%,说明 Mur 抗原在我国有较高的分布频率,抗