

· 临床研究 ·

亚甲蓝光化学照射法可降低血浆 IgM 抗-A 抗-B 血型抗体效价

肖瑞卿, 隆晓秋, 刘凤君, 林武存[△], 赵树铭, 王甜甜, 王泽荣

(第三军医大学西南医院输血科, 重庆 400038)

摘要:目的 了解血浆经亚甲蓝/光化学照射后血型 IgM 抗体效价与积分的变化。方法 使用一次性血浆病毒灭活输血过滤器, 将含亚甲蓝血浆的光照袋及滤器放入医用病毒灭活箱, 灭活血浆病毒。比较光化学照射前后抗-A、抗-B 抗体效价的变化。结果 A 型血浆抗-B 照射前后比较效价下降明显, 差异均有统计学意义($P < 0.004$ 、积分 $P < 0.001$); B 型血浆抗-A 效价下降明显, 差异有统计学意义($P < 0.010$)。结论 血浆经亚甲蓝/光化学照射后, 血浆血型抗体均受影响, 活性降低。

关键词:亚甲蓝/光化学; 病毒灭活; 血型 IgM 抗体; 新鲜冷冻血浆

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.23.045

中图分类号: R457.1

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)23-3252-02

Effect of photochemical irradiation by methylene blue on the titers of anti-A and anti-B IgM antibody in plasma

XIAO Rui-qing, LONG Xiao-qiu, LIU Feng-jun, et al.

(Department of Blood Transfusion, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To investigate the change in the titer and scoring of the blood type IgM antibody in plasma after the photochemical irradiation by methylene blue. **Methods** One-off blood transfusion filter with plasma virus inactivation was employed. The filter and the illuminating bag containing plasma and methylene blue were placed in virus inactivation box for the killing of the virus in plasma. The changes in the anti-A and anti-B antibody titers before and after the photochemical irradiation were compared. **Results** The difference in anti-B antibody titer in type A plasma before and after the irradiation was obvious ($P < 0.004$) and the score difference was evident ($P < 0.001$). But the difference in anti-A titer in type B plasma before and after the irradiation was remarkable ($P < 0.010$) and the score difference was obviously ($P < 0.001$). **Conclusion** After the plasma was irradiated by methylene blue/ photochemical ray, the blood antibodies in plasma were significantly weakened.

Key words: methylene blue/photochemistry; virus inactivation; IgM antibody of blood type; fresh frozen plasma

随着输血技术的不断提高, 人们在关注治疗效果的同时, 对输血传染疾病日渐重视。为了防止病毒的传播, 预防血浆传播疾病, 20 世纪欧美发明了一种经亚甲蓝/光化学照射血浆灭活病毒, 现已广泛用于临床。为了解灭活后血浆血型抗体的变化, 作者对血浆中的血型 IgM 抗体进行照射前后效价的检测比较分析, 现将结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 耗材 一次性血浆病毒灭活输血过滤器, 主要由亚甲蓝(MB)原件、照射袋、过滤部件和血浆贮存袋等组成(上海输血技术有限公司与山东中保康技术有限公司提供)。

1.2 血浆与亚甲蓝混合 将用 CPD 保养液采集的全血液按常规方法离心分出血浆, 在无菌操作台内, 将一次性血浆病毒灭活输血过滤器拔去插袋针护套, 将针头插入血浆袋输血插口隔膜管, 高置血浆袋, 少量血浆流进亚甲蓝添加原件中停留约 1 min 后, 血浆直接放入光照袋, 摇动血袋使亚甲蓝与血浆在光照袋内混匀, 排尽光照袋内的空气, 热合导管去掉亚甲蓝元件。留取原血浆袋内血浆 2 mL 作备用。

1.3 血浆病毒灭活 将含亚甲蓝血浆的光照袋及滤器放入医用病毒灭活箱, 设置光照强度 30 000~38 000 $1 \times$ 温度 2~8 $^{\circ}\text{C}$, 摆动频率 60 次/分, 光照 30~35 min, 灭活血浆病毒。

1.4 血浆过滤 光照灭活后, 启动过滤程序, 一手轻轻挤压光照袋, 一手倒提过滤器, 见血浆从过滤器出口流出后, 立即停止挤压光照袋, 放下过滤器, 高置血浆袋使血浆自然流入血浆储存袋, 过滤结束后, 排净储存袋内气体, 热合导管, 按常规保存血浆。留病毒灭活后滤过血浆 2 mL 备用。

1.5 标本留取 随机抽取无偿献血分离血浆 100 份, A、B 型各 50 份, 将照射前后留取的血浆标本各 2 mL 做好记录。

1.6 标准细胞制备 筛选 A、B 型红细胞 3~5 人份混合, 洗涤 2 次, 分别配成 2%~5% 红细胞混悬液备用。

1.7 完全抗体检测 试管从 1~10 编号, 第 1、2 管分别加入血浆各 2 滴, 从第 2 管开始做倍比稀释到第 10 管。每管加入 2%~5% 对应 A、B 型红细胞各 1 滴摇匀。置离心机 1 000 r/min 离心 1 min 后取出, 肉眼观察结果, 不凝集的前一管为效价。积分的计算: 4+ 为 12 分, 3+ 为 10 分, 2+ 为 8 分, 1+ 为 5 分。

1.8 统计学处理 各指标照射前后比较采用配对 t 检验, 两组间比较先作方差齐性检验, 方差齐性作两组 t 检验, 方差不齐作两组 t' 检验(两组间比较, 方差齐性 $P > 0.05$)。辐照前、后两组间比较作 Mann-Whitney 秩和检验。

2 结果

2.1 检测 100 例血浆血型 IgM 抗体。 A 型血浆 50 例, 抗-B 抗体效价(灭活前例数)灭活后例数为 256(1)1 例、128(3)4 例、64(15)9 例、32(20)10 例、16(9)23 例、8(2)2 例、4(0)1 例; B 型共 50 例, 抗-A 128(2)0 例、64(5)5 例、32(8)9 例、16(17)8 例、8(15)26 例、4(2)1 例、2(1)1 例。

2.2 统计学结果 A 型血浆抗-B 效价, 照射前、后比较, 差异有统计学意义($P < 0.004$, 积分 $P < 0.001$); B 型血浆抗-A 效价照射前、后比较差异有统计学意义($P < 0.010$, 积分 $P < 0.001$)。见表 1、2。

[△] 通讯作者, E-mail: xiaorq@sina.com。

表 1 辐照前、后完全抗体效价比较

组别	n	辐照前几何均数	辐照后几何均数	Wilcoxon 符号秩和检验 z	P
A 型抗-B 抗体	50	37.79	28.25	2.851	<0.004
B 型抗-A 抗体	50	16.45	13.55	2.591	<0.010
Mann-Whitney 秩和检验 z		-4.738	-4.269		
P		<0.001	<0.001		

表 2 辐照前、后完全抗体效价积分比较

组别	n	辐照前几何均数	辐照后几何均数	Wilcoxon 符号秩和检验 z	P
A 型抗-B 抗体	50	60.61	55.06	4.244	<0.001
B 型抗-A 抗体	50	45.05	41.78	3.567	<0.001
Mann-Whitney 秩和检验 z		4.910	4.182		
P		<0.001	<0.001		

3 讨 论

输血是临床治疗疾病的重要手段之一,输血传播疾病,主要是供血者的血液中携带有感染性微生物,如肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒(HIV)、疟原虫、梅毒螺旋体等。在筛查过程中被检者若处于血清学抗体检测的窗口期,则其检测结果通常呈阴性,这在无明显临床症状时尤其容易引起漏诊^[1]。近年来,随着检测技术的提高,试剂敏感度的增强,病毒的检出率有很大提高,如 HIV 抗体的检出,由原来的 3 周缩短到现在的 4~11 d^[2]。但是窗口期感染始终是广大医务工作者关注的焦点,亚甲蓝/光化学照射血浆灭活病毒,得到国内外学者的认同^[3-5],现已广泛应用于临床。亚甲蓝/光化学照射血浆灭活病毒对凝血因子及血浆中 IgG 的影响已有报道^[6-8],但未见对血型 IgM 抗体的报道。本研究检测结果显示:A 型血浆抗-B,照射前、后比较效价、积分,差异有统计学意义($P<0.01$);B 型血浆抗-A 照射前、后比较效价、积分差异有统计学意义($P<0.01$)。抗体是一类具有共同结构和功能形式的糖蛋白,可与抗原发生特异性反应。抗体结构的微小变化可明显影响抗原抗体反应的强度^[9]。作者曾对 104 例肿瘤患者化疗前后进行血型抗体调查,A 型血型抗原、抗体化疗后明显低于化疗前,差异有统计学意义($P<0.05$)。O 型、B 型男女患者抗原抗体效价与积分进行比较,差异无统计学意义($P>0.05$)^[10],亚甲蓝/光化学照射血浆灭活病毒后,血浆 IgM 抗体,抗-A、抗-B 差异均有统计学意义。是否人的血型抗体容易受光化学与药物化疗的影响,导致抗体结构的微小改变,影响抗原抗体的结合能力,有待于进一步观察和研究。在临床工作中进行血型鉴定时,要加强责任心,防止因病毒灭活后血型抗体下降出现假阴性,导致血型鉴定错误,保障临床输血安全。

参考文献:

[1] 周宝桐,邓国华.输血传播的病毒性感染[J].内科理论与

实践,2007,2(4):249.

[2] 张麟,佐拉,秦光明,等.评估第 4 代 HIV 酶联免疫法诊断试剂对静脉吸毒者感染窗口期的检测能力[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):631.

[3] 刘静,刘军.亚甲蓝光化学法灭活血浆病毒的研究进展[J].临床输血与检验,2009,11(2):189.

[4] 齐村生,任会莹,曾凤芹.病毒灭活新鲜冰冻血浆的质控指标初探[J].临床输血与检验,2009,11(3):253.

[5] Wagner SJ. Virus inactivation in blood components by photoactive phenothiazine dyes[J]. Transfus Med Revl, 2002,16:611.

[6] 黄文杰,范恩勇,孙海英,等.亚甲蓝光化学法病毒灭活血浆对凝血因子的影响[J].实用医学杂志,2006,22(18):2193.

[7] 李建斌,单泓,王皎杰.病毒灭活对血浆成分的影响及临床观察[J].医学研究杂志 2009,38(7):80.

[8] 吕丽萍,张艳宇,马平,等.亚甲蓝/光化学法对血浆中 IgG 的影响[J].中国输血杂志,2004,17(1):17.

[9] 马平,周锡鹏,张艳宇,等.亚甲蓝/光化学灭活病毒法对血浆中抗体活性的影响[J].军事医学科学院院刊,2004,28(6):544.

[10] 肖瑞卿,林武存,赵树铭,等.恶性肿瘤患者化疗前后血型抗原和抗体分析[J].重庆医学,2003,32(12):1655.

(收稿日期:2010-06-25 修回日期:2010-07-05)

(上接第 3251 页)

[11] Yonemura Y, Fushida S, Bando E, et al. Lymph angiogenesis and the vascular endothelial growth factor receptor-3 in gastric cancer[J]. Eur J cancer, 2001, 37(7):918.

[12] Ristimaki A, Narko K, Enhholm B, et al. Proinflammatory cytokines regulate expression of the lymphatic endothelial mitogen vascular endothelial growth factor-C[J]. J Biol Chem, 1998, 273(14):8413.

[13] Enhholm B, Paavonen K, Ristimaki A, et al. Comparison of VEGF, VEGF-B, VEGF-C and Ang-1 mRNA regulation by serum, growth factors, oncoproteins and hypoxia[J]. Oncogene, 1997, 14(20):2475.

[14] 刘阳云,赵素萍.诱导型一氧化氮合酶在肿瘤组织中的作用[J].国际检验医学杂志,2008,29(5):434.

[15] Cianchi F, Cortesini C, Fantappie O, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in human colorectal cancer: correlation with tumor angiogenesis[J]. Am J Pathol, 2003, 162(3):793.

[16] Gelinas DS, Bematchez PN, Rollin S, et al. Immediate and delayed VEGF mediated NO synthesis in endothelial cells: role of PI3K, PKC and PLC pathways[J]. Br J Pharmacol, 2002, 137(7):1021.

(收稿日期:2010-06-09 修回日期:2010-08-17)