

• 论 著 •

过敏原检测的光化学灭活病毒液态质控物的制备及稳定性观察

明德松, 邱晓东

(福建医科大学附属泉州第一医院检验科 362000)

摘要:**目的** 制备过敏原检测光化学灭活病毒液体质控物。**方法** 收集外观清晰、无溶血的标本每次测试完后剩余的新鲜血清,用复合保护剂及光化学灭活病毒法制备过敏原检测的液体质控物并观察其稳定性。**结果** 用复合保护剂及光化学灭活病毒法制备过敏原检测的液体质控物与人血清的性状相近,不需复溶,储存时间长,在 4~8 ℃ 及 -20 ℃ 的条件下至少可达 85 周。**结论** 该液体质控物不需复溶,且稳定时间长。

关键词:观察; 液体质控物; 制备; 光化学灭活病毒

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 10. 007 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)10-1035-01

Preparation and stability analysis of a photochemistry virus inactivation liquid quality control material for allergens detection

Ming Desong, Qiu Xiaodong

(Department of Laboratory Medicine, Quanzhou First Hospital Affiliated to Fujian

Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China)

Abstract:**Objective** To prepare a stable photochemistry virus inactivation liquid quality control material for allergens detection. **Methods** Human serum, positive with allergens, was manipulated to prepare the liquid quality control material by being mixed with protectant and treated by photochemistry virus inactivation. Then the stability of it was analyzed. **Results** The physic properties of prepared liquid quality material were same as human serum, which did not need pretreatment and was stable for more than 85 weeks when being stored at 4-8 ℃ and -20 ℃. **Conclusion** Liquid quality control material prepared in this research does not need pretreatment and is very stable.

Key words:observation; liquid quality control material; preparation; photochemistry virus inactivation

特异性过敏原检测对变态反应疾病的防治具有重要意义,常用的过敏原体外检测方法很多^[1-2]。但目前特异性过敏原检测的质控物供应很少,作者借鉴生化液体质控血清的制备方法^[3-4]。采用复合保护剂制备过敏原检测的光化学灭活病毒液体质控物,共观察 19 个月,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 外观清晰、无溶血的标本每次测试完后剩余的新鲜血清(尘螨阳性)。

1.2 试剂 复合保护剂:丙三醇、乙二醇等。亚甲基蓝为 Sigma 公司产品。

1.3 方法 向新鲜血浆中加入亚甲基蓝,使其终浓度为 1 μmol/L,振荡混匀后置医用血浆病毒灭活柜中,经光照强度为 3.8×10⁴ Lux 的可见光照射 30 min^[5]。按体积比 2:3 向光化学灭活病毒血浆中加入复合保护剂^[5]。

1.4 稳定性观察 取刚制备好的过敏原检测的光化学灭活病毒液体质控物,上机测定,重复 20 次,共 20 个值,计算各项均值($\bar{x}$)、标准差(s)、CV%,确定质控范围($\bar{x} \pm 2s$)。将已制备并测值的液体质控物,分成 4~8 ℃ 及 -20 ℃ 2 组,每个月从每组取 1 份,随日常标本一起测定,每份重复 2 次,6 个月后不定期测定,一直到液体质控物的量测定使用完,统计各组的 CV%。

1.5 过敏原检测 Mediwiss 敏筛定量过敏原检测系统,按其说明书操作。

2 结 果

2.1 制备过敏原检测的光化学灭活病毒液体质控物的即刻测定结果的浓度分别为 3.1、3.1、3.1、3.1、3.4、3.3、3.1、3.2、3.3、3.3、3.2、3.4、2.7、2.9、3.1、3.1、3.5、3.4、3.6、3.6, $\bar{x}$ =

3.2, s = 0.21, $CV\%$ = 6.57%; $\bar{x} \pm 3s$ = 3.2 $\pm$ 3 $\times$ 0.21 = 2.8~3.6。

表 1 液体质控物的稳定性(尘螨)

时间	温度	浓度分级
2007 年 5 月 23 日	4~8 ℃	3.3、3.2
	-20 ℃	3.4、3.2
2007 年 6 月 25 日	4~8 ℃	3.4、3.5
	-20 ℃	3.4、3.6
2007 年 7 月 28 日	4~8 ℃	3.6、3.4
	-20 ℃	3.4、3.5
2007 年 8 月 29 日	4~8 ℃	3.2、3.1
	-20 ℃	3.4、3.2
2007 年 9 月 28 日	4~8 ℃	3.3、3.2
	-20 ℃	3.2、3.3
2007 年 10 月 26 日	4~8 ℃	3.5、3.2
	-20 ℃	3.4、3.2
2007 年 11 月 14 日	4~8 ℃	2.8、2.7
	-20 ℃	2.7、2.9
2008 年 2 月 15 日	4~8 ℃	3.0、3.1
	-20 ℃	3.1、3.1
2008 年 4 月 19 日	4~8 ℃	3.4、3.5
	-20 ℃	3.4、3.4
2008 年 8 月 30 日	4~8 ℃	3.6、3.6
	-20 ℃	3.2、3.6
2008 年 11 月 22 日	4~8 ℃	3.1、3.1
	-20 ℃	3.1、3.1
2008 年 12 月 6 日	4~8 ℃	3.0、3.0
	-20 ℃	3.1、3.1

4~8 ℃: $\bar{x}$ = 3.2, $CV\%$ = 7.81%; -20 ℃: $\bar{x}$ = 3.3, $CV\%$ = 6.36%。

2.2 制备过敏原检测的光化学灭活病毒液(下转第 1038 页)

转录因子 FoxP3 是 CD4⁺CD25⁺T 细胞发育和功能维持的重要调节基因,特异性表达于 CD4⁺CD25⁺T 细胞,不因细胞活化方式而变化,是当今最为特殊的 CD4⁺CD25⁺T 细胞标志物^[13]。鉴于 FoxP3 在 CD4⁺CD25⁺T 细胞的发育和功能上是必需的,检测 URSA 孕妇 CD4⁺CD25⁺T 细胞中 FoxP3 的表达,对于进一步探讨 CD4⁺CD25⁺T 细胞在 URSA 中的作用具有更重要的意义,而目前少见此方面的报道。

本实验临床检测显示,URSA 患者外周血中 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T 细胞比例低于同期健康妊娠者。CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T 细胞水平下降可能导致母胎耐受,不能有效维持而发生病理妊娠,提示 T 细胞在妊娠期介导和维持母胎免疫耐受至关重要。

综上所述,Th17 细胞和 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T 细胞的关系是复杂的,Th17、T 细胞和细胞因子形成 1 个网络,在维持健康妊娠过程中发挥重要作用。Th17 数量增加而 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T 细胞数量减少可能下调母亲对胎儿的免疫抑制功能,导致母胎免疫耐受形成障碍,从而导致 URSA 的发生。故对 Th17/T 细胞平衡调控的深入研究,将为该病的临床治疗提供新的、重要的理论依据。

参考文献

[1] Feng NH, Wu HF, Wu J, et al. Immunology mechanism of CD4⁺CD25⁺T regulatory cells acting on effect or T cells[J]. Journal of Nanjing Medical University, 2004, 18(4): 178-182.

[2] Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Tolerance, suppression and the fetal allograft[J]. Mol Med, 2005, 83(2): 88-96.

[3] Korn T, Mitsdoerffer M, Kuchroo VK. Immunological basis for the development of tissue inflammation and organ-specific autoimmunity in animal models of multiple sclerosis[J]. Results Probl Cell Differ, 2009, 23: 43-74.

[4] Young DA, Hegen M, Ma HL, et al. Blockade of the interleukin-21/interleukin-21 receptor pathway ameliorates disease in animal models of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(4): 1152-1163.

[5] Johansen C, Usher PA, Kjellerup RB, et al. Characterization of the intedeukin-17 isoforms and receptors in lesional psoriatic skin[J]. Br J Dermatol, 2009, 160(2): 319-324.

[6] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF-β-induced FoxP3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing RORγt function[J]. Nature, 2008, 453(7192): 236-241.

[7] Tang Q, Bluestone JA. The FoxP3⁺ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation[J]. Nat Immunol, 2008, 9(3): 239-244.

[8] Brusko TM, Hulme MA, Myhr CB, et al. Assessing the in vitro suppressive capacity of regulatory T cells[J]. Immunol Invest, 2007, 36(5-6): 607-628.

[9] Heikkinen J, Mottonen M, Alanen A, et al. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua[J]. Clin Exp Immunol, 2004, 136(2): 373-378.

[10] 陈书恩, 杨小猛, 桑佩霞, 等. 外周血雌二醇水平和 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞与反复自然流产相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11): 1043-1045.

[11] 邱丽华, 林其德. 调节性 T 淋巴细胞与原因不明复发性流产的相关性研究[J]. 中华妇产科杂志, 2004, 39(12): 816-818.

[12] Yang H, Qiu LH, Chen GJ, et al. Proportional change of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in decidua and peripheral blood in unexplained recurrent spontaneous abortion patients[J]. Fertil Steril, 2008, 89(3): 656-661.

[13] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. Cell, 2008, 133(5): 775-787.

(收稿日期: 2011-02-03)

(上接第 1035 页)

体质控物的即刻测定稳定性结果,见表 1。

3 讨 论

制备的液体质控血清使用的是标本每次测试完后剩余的新鲜血清,一方面可以废物利用,节省费用;另一方面,由于使用人血清具有与正常血清同样的清晰度、黏稠度和色泽,性状与水平符合临床要求,因此可以更好地控制日常标本检测的质量。以复合保护剂作稳定剂制备的过敏原检测的液体质控血清,具有与健康人血清相近的性状,制备中又减少了因冻干和重建等因素的影响与干扰。表 1 结果表明,光化学灭活病毒技术制备的过敏原检测的液体质控血清的即刻测定结果稳定、变异较小,能满足临床检验质控要求。

丙三醇有较强的高渗抑菌和抗氧作用,再加上复合保护剂其他成分的保护,使制备的过敏原检测的液体质控血清稳定性很好,在 4~8 ℃ 及 -20 ℃ 的条件下至少可达 85 周,远多于普通液体质控血清的稳定时间(50 周)。

人液体质控血清的生物安全一直是液体质控血清制备中 1 个不易解决的重要问题。亚甲基蓝/光动力灭活病毒是近几年才发展起来的新技术,欧洲的一些国家从 1992 年开始在临床应用亚甲基蓝/光化学法处理冷冻新鲜血浆,亚甲基蓝/光化学法产生的单线态氧对病毒核酸、膜蛋白、膜脂都会造成损伤,光激活产生的自由基(比如羟自由基)可导致 DNA 单链断裂,

病毒已完全失去穿透、复制及再感染能力;同时,光化学法对血浆中的各种成分及抗体活性影响较小^[5-6]。作者将此技术引入过敏原检测的液体质控血清的制备,以保证液体质控血清的生物安全,表 1 结果表明,光化学法对制备的过敏原检测的液体质控血清的稳定性确实没有显著影响。

参考文献

[1] 李婷, 王国江, 张海清, 等. 神经性皮炎患者 61 例吸入性和斑贴过敏原检测结果分析[J]. 中国医学文摘: 皮肤科学, 2009, 26(5): 276-278.

[2] 李润祥, 朱慧兰. 特异性变应原体外检测的研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2007, 23(10): 890-892.

[3] 段勇, 王玉明, 赵滢, 等. 临床化学检验的液性质控血清的制备研究[J]. 昆明医学院学报, 2003, 24(2): 24-27.

[4] 刘静, 刘军. 亚甲基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): 189-192.

[5] 程玉根, 柏则蓉, 贾红志, 等. 亚甲基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, 2007, 4(4): 169-170.

[6] 吕丽萍, 张艳宇, 马平, 等. 亚甲基蓝/光化学法对血浆中 IgG 的影响[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(1): 8-10.

(收稿日期: 2011-01-10)