

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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2]</sup>。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<sup>[3-4]</sup>,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<sup>[5]</sup>。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<sup>[6]</sup>。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<sup>[7]</sup>,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)<sup>[1]</sup>。研究显示,Mur 抗原在西方人群中为低频率抗

原,临床意义小<sup>[2]</sup>,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%<sup>[3]</sup>。邓诗桢等<sup>[8]</sup>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

Mur 发生率也具有较高的比例,所以 Mur 血型抗原或抗体在我国不能称为“低频率”,Mur 血型抗体是具有临床意义的同种异体抗体。孙爱农等<sup>[1]</sup>认为在中国人群(大陆、台湾、港澳及海外华人)中开展不规则抗体检测时,应该有 GP. Mur(MiⅢ)表型红细胞,这样才能提高输血安全性。本院目前使用由上海血液生物医药责任公司提供的抗体筛选谱细胞(一套 3 种细胞)不能检测抗 Mur 抗体,本院输血科尝试应用自制红细胞检测低频率抗“Mur”抗体,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月至 2013 年 4 月本院 4 000 名输血患者。

1.2 试剂与仪器 试剂:上海血液生物医药责任公司提供的抗体筛选细胞(一套 3 种),上海血液生物医药责任公司的谱细胞(一套 10 种),抗人球蛋白反应卡(强生公司)。仪器:孵育仪(达亚美公司),卡式离心机(达亚美公司)。

1.3 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)对本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本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,同时用试管法做盐水法及低离子凝聚胺试验,以进行平行对照试验。

1.3.1 Mur 抗原红细胞配制 取抗原与抗“Mur”抗体反应阳性超过 3+ 的 O 型红细胞 1 mL + 400 μL ACD 保存液置于 4 ℃冰箱科保存。应用时用 5 mL Bliss 液加 50 μL 含“Mur”抗原红细胞配制成浓度为 8% 的悬液,制成第四球与另 3 种意外抗体筛查谱细胞一起对我院输血患者进行意外抗体筛查。

1.3.2 微柱凝胶法抗人球蛋白试验 向抗人球蛋白反应卡加入 50 μL Bliss 液和 8% 筛查谱细胞 13 μL,然后加入患者血清 50 μL,在孵育仪 37 ℃孵育 15 min,1 000 r/min 离心 10 min,肉眼观察结果,红细胞均匀沉于管底者为阴性,悬浮于凝胶表面或凝胶中段者为阳性。

1.3.3 自身抗体的排除 然后,对阳性标本先做 Coombs' 试验以排除自身抗体引起的假阳性,对自身抗体阳性的血清,用自身红细胞吸收自身血清至自身抗体阴性再行意外抗体筛查。

2 结果

4 000 例抗体筛查中,4 例自身抗体阳性,经吸收试验再鉴定意外抗体阴性;单一第 4 球阳性 32 例;第 4 球混合其他谱细胞阳性 3 例。以 10 种谱细胞进行抗体确认 32 例患者血清均符合抗“Mur”抗体反应格局,其他 3 例中,1 例为抗-E 抗体,1 例为抗-Ce 抗体,1 例为抗-s。32 例患者血清与红细胞分别用盐水法与抗人球法进行反应,有 11 例盐水法及抗人球法均阳性,21 例仅抗人球法阳性,说明 11 例抗“Mur”抗体含 IgM 型抗体。10 种谱细胞反应格局及自制红细胞加 3 种谱细胞反应格局见表 1、2。

表 1 10 种谱细胞反应格局

序号	Rh-hr					MNSs				Kidd			Duffy		Lewis		Diego		Kell		DO		P
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	Mur	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	Di <sup>a</sup>	Di <sup>b</sup>	K	k	Do <sup>a</sup>	Do <sup>b</sup>	
1	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	/	+	+
2	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	-	+	+
3	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	/	+	/	0	/	-	+	+
4	+	+	+	+	-	+	+	+	+	/	+	+	+	0	0	+	/	/	0	/	/	+	+
5	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	-	+	+
6	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	-	+	0
7	0	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	-	+	+
8	+	+	+	0	+	+	0	0	+	/	+	+	+	0	0	+	/	/	0	/	-	+	+
9	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	-	+	0
10	+	0	+	+	0	+	0	+	+	/	0	+	+	0	+	0	/	/	0	/	-	+	0

表 2 自制红细胞加 3 种谱细胞反应格局

序号	Rh					Kidd		MNSs				Duffy		Kell		Lewis		P	
	D	C	E	c	e	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	M	N	S	s	Mur	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	K	k	Le <sup>a</sup>		Le <sup>b</sup>
1	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	/	+	0	0	/	0	0	0
2	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	/	+	0	0	/	0	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	/	+	+	0	/	+	+	0
4	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/	/	/

3 讨论

4 000 例抗体筛查中抗“Mur”抗体阳性 32 例,阳性率为 0.8%。其中以 IgG 为主,占 65.6% 以上。在 32 例抗“Mur”抗体阳性的患者中,17 例有反复输血史,11 例有妊娠史,由于产生意外抗体而引起疑难配血的有 10 例。

在中国人群中红细胞血型意外抗体出现最多的是 Rh 血型系统,其次就是 Miltenberger 血型系统,这一点已在香港、台湾以及中国大陆多个实验室得到证实<sup>[6]</sup>,Mur 抗原在我国有较高的分布频率,魏玲等<sup>[4]</sup>报道广州地区无偿献血者 Mur 抗

原频率为 6.59%。邓诗桢等<sup>[8]</sup>报道番禺地区抗-Mur 频率为 0.21%。

目前无商品化的单克隆的抗 Mur 供应,人源抗 Mur 的使用必不可少。仅与 Mur 红细胞呈阳性而非 Mur 红细胞呈阴性反应的血清,则应属于抗“Mur”,须带引号,因为没有用 Mi 的谱细胞鉴定<sup>[1]</sup>。本院输血科尝试应用自制红细胞检测抗“Mur”抗体,其结果有很高的符合率,达 91%,保证了临床输血安全。但由于自制红细胞的抗原没有经过 Mi 的谱细胞鉴定,所以仅能作为临床配血的借鉴与筛查,不能作为最终诊断,只

是在市场推出适合我国基层医院输血患者意外抗体的试剂出来前,暂时弥补目前国内标准化及商品化筛查细胞缺乏对低频抗 Mur 抗体检测的缺陷,为未来运用在基层医院的意外抗体筛查谱细胞的商品化生产提供临床数据,在临床实践中具有一定的实用价值。

反复输血易产生意外抗体而发生迟发性溶血性输血反应,反复妊娠则易导致流产和新生儿溶血。输血前进行意外抗体筛查是安全输血的一个重要手段<sup>[5]</sup>。《临床输血技术规范》第十七条就规定输血前须做输血意外抗体筛查。输血前,核查输血意外抗体鉴定的历史记录非常重要<sup>[9]</sup>。Mur(MNS10)血型与 HDN 及胎儿水肿、溶血性输血反应以及疟原虫感染密切相关。Mur 抗原对于我国的临床输血有一定的现实意义,应当并已经越来越受到临床的重视。因此,在输血前检查项目中增加 Miltenberger 血型抗原抗体的检测对中国人群是十分必要的<sup>[7]</sup>。

参考文献

[1] 孙爱农,孙雯婷,李勇. Miltenberger 血型系列和 Mur(MNS10) 血型抗原及其临床意义[J]. 中国输血杂志,2010,12(5):403-405.  
[2] Broadberry RE, Lin M. The distribution of the MilIII(Gp. Mur)

phenotype among the population of Taiwan[J]. Transfus Med, 1996,6(2):145-148.  
[3] 刘忠,孙爱农,谭方圆,等. Mur 血型分子诊断方法的建立与应用[J]. 中国输血杂志,2009,24(10):793-795.  
[4] 魏玲,姬艳丽,莫春妍,等. 广州地区无偿献血者抗-Mur 筛查及 Mur 抗原基因型检测[J]. 南方医科大学学报,2012,32(12):1833~1835.  
[5] 郭伟,杨彦杰,孙泳. 输血前意外抗体筛查的意义[J]. 北京医学,2007,12(1):171.  
[6] 刘达庄,朱自严,Byrne P, et al. 低频率抗体抗-Mur 引起的溶血性输血反应[J]. 中国输血杂志,2000,12(1):8-10.  
[7] 刘达庄. 稀有血型工作在中国的发展状况[J]. 中国输血杂志,2001,14(1):12-16.  
[8] 邓诗楨,严康峰,谢敬文. 番禺地区 Mur 抗原与抗-Mur 频率调查[J]. 中国输血杂志,2010,23(3):218.  
[9] 蔡葵等. 输血患者的意外抗体筛查[J]. 医学检验与临床,2012,23(2):37-38.

(收稿日期:2012-11-23)

• 检验技术与方法 •

### 凝血因子检测工作中两种处理乳糜血方法的评价

张 健<sup>1</sup>, 厉淑青<sup>2</sup>

(1. 解放军第二六四医院检验科,山西太原 030001; 2. 浙江省东阳市巍山医院防保科,浙江东阳 322109)

**摘要:**目的 评价低温高速离心法和无水乙醚处理法消除高脂肪乳糜对凝血功能测定结果的影响。方法 使用 SYSMEX CA-7000 血液凝固分析仪检测 16 例非乳糜标本及 20 例高度乳糜标本经两种方法处理前后的结果。结果 16 例非乳糜标本经两种方法处理前后结果比较 ( $P > 0.05$ ), 差异无统计学意义; 20 例高度乳糜标本经两种方法处理后凝血酶原时间 (PT) 结果与初始结果比较有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 纤维蛋白原 (FIB) 处理前检测不出, 两种方法处理后均能检测出结果, 且都与患者病情相符。结论 高脂肪乳糜对 CA-7000 的测定结果有较严重的影响, 低温高速离心法和无水乙醚处理法均可有效消除高脂肪乳糜对 PT 和 FIB 检测结果的影响。

**关键词:** 乳糜血; 凝血酶原时间; 纤维蛋白原; 血液凝固

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1724-02

目前大多临床检验科在凝血因子检测中已使用全自动血液凝固分析仪,但血液凝固分析仪测定结果易受高脂肪乳糜的干扰。有文献结果表明,高脂肪乳糜对 CA-7000 血液凝固分析仪测定凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)的测定结果有明显的影响,可使 PT 测定结果偏高, FIB 结果检测不出<sup>[1]</sup>。本文就对高脂肪乳糜血液标本进行低温高速离心和无水乙醚处理去除脂肪乳糜干扰的两种方法进行了评价,现报道如下。

#### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 对照组:选取健康体检人员中非乳糜血标本 16 例,采用凝血功能专用真空抗凝管静脉采血 2 mL。乳糜组:选取 20 例 2012 年本院住院患者凝血检查中的高度乳糜血标本,采集方法同上。高度乳糜血标本的标准为:静脉采血分离血清后,血清外观呈乳白色,不透明,且三酰甘油含量大于 11.00 mmol/L。

**1.2 仪器与试剂** 日本 SYSMEX CA-7000 血液凝固分析仪,中佳 KDC-40 常温低速离心机,中佳 HC-2518R 低温高速离心机。采用 SYSMEX CA-7000 血液凝固分析仪原配套试剂和质控品。

**1.4 方法** 3 000 r/min 常规离心 15 min 后将对照组与病例组标本血浆分为 3 份,第一份不经处理直接检测结果,另一份

标本经低温高速离心机 12 000 r/min 离心 10 min 后,脂类与血浆分离,脂类在上层,吸取下方清亮血浆检测结果,最后一份标本吸取 0.5 mL 置于干燥清洁管中,加入无水乙醚 5 mL,充分混匀,静置 10 min 后再以 3 000 r/min 离心 10 min 后,脂类被吸附至上层乙醚层,吸取下层清亮血浆检测结果。

**1.5 统计学处理** 使用 SPSS 软件进行统计分析,采用组内配对 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

#### 2 结果

对照组:PT、FIB 初始结果与低温高速离心后结果及无水乙醚处理后结果之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1。乳糜组:20 例乳糜血中 PT 检测结果均出现不同程度偏高,偏高程度与乳糜程度正相关,经两种方法处理后,PT 检测结果结果均下降至正常范围,与初始结果差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。FIB 均检测不出结果,经两种方法处理后,均可检测出结果,见表 2。

表 1 对照组初始及处理后检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	n	初始结果	低温高速离心后	无水乙醚处理后
PT(S)	16	12.05±1.87	12.23±1.88*	11.90±1.69*
FIB(mg/dL)	16	362.33±211.3	363.55±214.0*	357.57±219.7*

\* :  $P > 0.05$ , 与初始结果比较。