

• 检验技术与方法 •

红细胞参数中 MCH 指标筛查地中海贫血比 MCV 指标更可靠*

李恋湘, 肖奇志, 周玉球[△]

(珠海市妇幼保健院检验科/珠海市医学遗传研究所, 广东珠海 519001)

摘要:目的 对红细胞指标红细胞平均体积(MCV)和红细胞平均血红蛋白(MCH)筛查地贫的可靠性进行比较。方法 将一份 MCV 处于临界值的新鲜静脉血于 1 d 内送到珠海市 21 家医疗机构进行全血细胞分析, 然后统计分析得出室间和室内 MCV 和 MCH 的变异系数(CV)和偏倚值。此外, 另抽取 EDTA 抗凝静脉血 10 份, 一分为二, 观察温度和放置时间对此两个指标的影响。结果 该市室间 MCV 的 CV 值(4.1%)明显大于 MCH 的 CV 值(2.8%), MCH 检测结果的合格率(100%)明显高于 MCV(66.7%)($P < 0.05$)。全血标本在两种温度条件(室温与冷藏)下保存 72 h, MCH 指标变化不大($P > 0.05$)。血液标本冷藏 72 h 时, MCV 与即测值比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 室温保存 48 h 时, MCV 显著升高($P < 0.05$)。在室温和冷藏保存 48 h 时, 两者的 MCV 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在室间以及在不同温度保存的条件下, MCH 指标较 MCV 重复性好且更稳定, MCH 指标作为临床一线地贫筛查指标比 MCV 指标更可靠。

关键词:地中海贫血; 筛查; 红细胞平均体积; 红细胞平均血红蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)14-1914-03

More reliable erythrocyte parameter MCH than MCV for screening thalassaemia trait*

Li Lianxiang, Xiao Qizhi, Zhou Yuqiu[△]

(Department of Clinical Laboratory, Zhuhai Municipal Research Institute of Medical Genetics, Zhuhai Municipal Maternal and Child Health Care Hospital, Zhuhai, Guangdong 519001, China)

Abstract: **Objective** To compare the reliability of erythrocyte parameter mean corpuscular volume(MCV) and mean corpuscular hemoglobin(MCH) for screening thalassaemia trait. **Methods** A fresh venous blood sample with the cut-off value of MCV was sent to 21 hospitals of Zhuhai city for conduct the full blood cell analysis within 1 d. Then the inter- and intra- coefficient of variation (CV) as well as bias values of MCV and MCH were calculated and compared. In addition, 10 EDTA- anticoagulant venous blood samples were divided into two parts, the effects of stored temperature and time on MCV and MCH were observed. **Results** The coefficient of variation(CV) of MCV (4.1%) was significantly greater than that of MCH (2.8%) among 21 laboratories, the qualification rate of MCH detection results was 100%, which was significantly higher than 66.7% of MCV ($P < 0.05$). When the whole blood samples were stored under 2 kinds of the temperature condition(room temperature and refrigeration) for 72 h, MCH changed little ($P > 0.05$). When these samples were stored under the refrigerated condition for 72 h, MCV had no statistically significant difference compared with the instant detection results of MCV ($P > 0.05$), when stored at the room temperature for 48 h, MCV was significantly increased ($P < 0.05$), MCV had statistical difference in storage for 48 h between the room temperature and the refrigeration. **Conclusion** Among laboratories and under different temperature conditions, the reproducibility of MCH is better than that of MCV and is more stable than MCV. MCH as the clinical first-line screening for thalassaemia is more reliable than MCV.

Key words: thalassemia; screening; mean corpuscular volume; mean corpuscular hemoglobin

地中海贫血(简称地贫)是一组由于珠蛋白基因缺陷所引起的单基因遗传性血液病。我国长江以南是该病的高发区, 其中广东、广西、海南三省区尤甚, 如广东和广西两省区人群中地贫的基因携带率分别超过 11.07% 和 23.98%^[1-2]。地贫主要有 α 和 β 两种。严重类型(包括重型和中间型)地贫是一种致死性或致残性疾病。该类地贫胎儿的出生, 已成为上述地区一个严重的公共卫生问题, 地贫难治但可预防。有资料提及早在 80 年代地中海沿岸国家的塞浦路斯和意大利以及 90 年代我国的香港和台湾在地贫的人群预防方面取得了举世瞩目的成绩, 中国大陆近几年也进行了成功的尝试^[3]。从 2012 年开始,

珠海市将地贫筛查作为免费婚前检查和免费孕期保健的项目之一, 在全市实施大人群的地贫预防控制计划。该项目离不开大人群筛查, 而 MCV 是国际上公认的临床一线地贫特征的初筛指标, 也是世界地贫联合会(TIF)推荐的地贫筛查指标。但由于该指标易受到体内外各种因素的作用而影响其测定的准确度, 进而影响地贫筛查的可靠性。为此, 作为珠海市地贫诊治中心, 很有必要对该指标进行重新的评估, 以期临床一线地贫筛查实验室提供更可靠的地贫筛查指标, 其中 MCH 则是另一个地贫筛查可选指标之一。现将珠海市 21 个临床实验室检测 MCV 和 MCH 的结果以及此两个指标的稳定性报道

* 基金项目:广东省科技计划项目(2009A030301002);广东省自然科学基金(04101691)。 作者简介:李恋湘,女,主管检验技师,主要从事分子遗传学研究。 [△] 通讯作者:E-mail:zhzhouyq@126.com。

如下。

1 材料与方法

1.1 设备

1.1.1 参比实验室检测系统 美国 BECMAN 公司 COULTER GEN,S 全自动血细胞分析仪,使用原机配套的试剂和三个水平的室内质控品并由上岗培训合格的专业技术人员操作。

1.1.2 参评临床实验室检测系统 21 家临床实验室共 36 台全自动血细胞分析仪,包括 Coulter 5-diff 3 台、日本 Sysmex 公司系列产品 13 台、美国雅培公司系列产品 2 台、深圳迈瑞公司系列产品 11 台、法国 ABX7 台,其中 7 台设备使用原机配套试剂,其余 29 台设备使用珠海贝索生物技术有限公司试剂。拥有 2 台及以上设备的实验室共有 9 家,10 家临床实验室拥有同一厂家同一型号的血细胞分析仪。

1.2 红细胞指标定值的确定 抽取 MCV 和 MCH 处于临界值的静脉血标本,用 EDTA-K₂ 抗凝,参照文献[4]对红细胞指标进行定值。

1.3 临床实验室现场测定 用上述已定值的新鲜血标本当日送达珠海市 21 家临床实验室共 36 台全血细胞分析仪进行现场检测,重复检测 3 次,取均值即时报告。

1.4 温度和保存时间对 RBC 指标的影响 另采用 EDTA-K₂ 抗凝的、正常成人全血标本 10 份,按常规进行全血细胞分析得即刻值,再一分为二。一份在室温(20~22 ℃)保存,另一份在冰箱冷藏(4~6 ℃)保存,分别于采血后的 2、4、8、16、24、48、72 h 进行红细胞指标的测定。

1.5 统计学处理 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据均值的比较采用配对 t 检验,率的差异用 χ^2 检验。所有数据均采用 SPSS 软件 11.0 进行数据处理和统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义(双侧)。另外,还参照国家卫生部临检中心室间质量评价标准计算各实验室的偏倚值。偏倚(%)=[(各实验室测得值-RBC 指标定值)/RBC 指标定值]×100%,偏倚不大于±7%判为合格。

2 结 果

2.1 RBC 指标的定值 RBC 指标 MCV 定值为 83.6 fL, MCH 定值为 27.8 pg。

2.2 各临床实验室现场测定的结果

2.2.1 MCH、MCV 的结果分析 据现场调查,MCV 小于 80 fL 的设备有 19 台,MCH 小于 27 pg 的设备有 8 台,MCV 偏倚大于±7%的 12 台设备分别来自 8 家临床实验室,MCH 偏倚均小于±7%,两个指标的合格率之间差异有统计学意义($\chi^2 = 12.1, P < 0.05$)。结果分析见表 1。

表 1 21 家临床实验室现场检测 MCH 和 MCV 的结果分析

指标	实验室数(n)	仪器数(n)	95%CI(%)	合格率(%)
MCH	21	36	2.8	4.7~5.8
MCV	21	36	4.1	-12.2~8.1

2.2.2 不小于 2 台设备的 MCH 与 MCV 的 CV 比较 无论是同一实验室内,还是不同实验室同一类型的设备,以及使用设备原机配套试剂与否,其所测得的 MCV 和 MCH 的 CV 差异均无统计学意义(t 值分别为 0.203、0.752、0.327, $P > 0.05$)。

2.3 保存温度和保存时间对 MCV 和 MCH 的影响 从图 1 (见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)可知,MCH 在

两种温度(室温与冷藏)保存条件下 72 h 时与即刻值差异无统计学意义(t 值分别为 1.872、0.950, $P > 0.05$),由图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)可知:MCV 在冷藏条件下 72 h 时与即刻值差异无统计学意义($t = 0.663, P > 0.05$),在室温条件下 48 h 时与即刻值开始差异有统计学意义($t = 6.368, P < 0.05$)。在室温和冷藏保存 48 h 时,两者的 MCV 也有明显的差异($t = 8.430, P < 0.05$)。

3 讨 论

地贫特征,又叫轻型地贫、地贫杂合子和地贫携带者,一般表现为小细胞低色素症。临床实验室就是利用此特点来进行地贫初筛的。对于一个有完整的检测系统和严格的质量控制体系的临床实验室,MCV 和 MCH 有同等的地贫筛查效力^[5],但此两个指标在大人群众地贫筛查中,特别是在水平参差不齐的各实验室间是否有同等效能,有待评估。

珠海市 21 家临床实验室 MCV 和 MCH 现场检测的结果显示:各实验室间 MCV 的 CV 值明显大于 MCH 的 CV, MCV 检测的合格率大大低于 MCH($P < 0.05$)。有三分之一的设备测定的 MCV 值存在较大偏倚(大于±7%),如用这些设备测定 MCV 值筛查地贫时,就会漏筛或误筛地贫个体,从而有可能造成严重类型地贫胎儿的出生或增加病人不必要的经济负担。值得一提的是:在该现场调查中,虽然有 2/3 的设备测定的 MCV 偏倚在允许范围内,但仍有 52.8%的设备测得的结果小于 80 fL,直接影响地贫筛查的效率。而 MCH 指标相对较稳定,偏倚均在允许范围内,结果小于 27 pg 的设备仅占 22.2%。由此可见,MCH 较 MCV 重复性好、准确度高,受检测系统等因素的影响较小,这是由于两者所采用的测定方法不同所致。因几乎所有的全自动血细胞分析仪均采用氰化高铁血红蛋白法测定血红蛋白浓度,该法是测定血红蛋白的参比方法。而 MCV 测定则采用阻抗法或流式细胞术/二维激光散射法,易受电压、RBC 团块^[6]和稀释液的渗透压^[7]等外界因素的影响。此外,MCV 还受到体内各种因素的影响。如高血糖^[7]、慢性乙肝^[8]和肠炎^[9]等也会引起 MCV 升高。而肝细胞疾病、阻塞性肝病、酒精肝、某些肾功能衰竭和铅中毒患者等则会引起 MCV 降低。

从图 1、2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)可知,MCH 在室温和冷藏 72 h 时仍保持较稳定($P > 0.05$)。MCV 在冷藏 72 h 内也是如此($P > 0.05$),但从图 2 可看出,随着室温保存时间的延长,MCV 也逐渐升高,保存 24h 时增加约 3 fL,保存 48 h 时显著升高($P < 0.05$)。Old^[10]也观察到血液离体 24 h 时,MCV 就会增加 5 fL。因为糖酵解是红细胞能量的唯一来源,随着保存时间的延长,血液中的葡萄糖不断被酵解,致使 RBC 内 ATP 生成不足。而 ATP 是维持 RBC 膜上 Na-K-ATP 酶(钾钠泵)活性的能量来源。ATP 不足或缺乏,就会引起钠水潴留,因而 MCV 升高。可见,MCH 无论在室温还是在冷藏保存的条件下,均较 MCV 稳定。

综上所述,MCH 无论在体内或是体外,还是在不同实验室间或是采用不同的设备检测,均较 MCV 稳定,因此,将此指标应用于临床一线地贫筛查比 MCV 更可靠。

参考文献

[1] Xu XM,Zhou YQ,Liao C,et al. Molecular epidemiological survey for thalassemias in 5 cites from different regions(下转第 1918 页)

血,因此,将滴度小于 1 : 32 作为阴性,进行 χ^2 检验,结果表明,实验组的阳性率与国内孕妇检测的结果基本一致^[9],实验组的阳性率要高于对照组。许多研究认为,新生儿溶血容易发生在 O 型血孕妇,在研究中表现为实验组阳性检出率高。

由于流式细胞技术检测 IgG 型抗 ABO 抗体没有参考值范围,在对结果进行分析时,我们先对实验组和对照组的构成进行了统计分析,两组的检测值构成差异具有统计学意义($P<0.05$)。然后,我们参照 Stussi 等^[10]的研究将 MFIR <3 作为阴性结果,对不同检测值组别进行了分析,实验数据表明 MFIR >3 以上时,实验组的阳性数要明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。需要指明的是将 MFIR <3 定为参考范围,缺少临床数据支持,在流式细胞术应用于临床时,需要建立合适的参考值范围。

将流式细胞术和微柱凝胶技术的检测结果进行 Spearman 相关分析,两者相关系数 $r_s=0.694$, $P<0.05$,流式细胞术和微柱凝胶技术检测间存在很好的相关性。通过图 1 发现,一些样品微柱凝胶技术检测表现为高滴度,而流式细胞检测值并不高,其原因可能是受 IgM 型抗体的影响,未灭活的 IgM 抗体会导致红细胞凝集,使结果出现假阳性或检测的滴度升高^[11-12]。而流式细胞的检测不受标本中 IgM 型抗体的影响,因此 IgM 型抗体导致的微柱凝胶检测结果阳性的标本在流式细胞检测为阴性。在 β -巯基乙醇对 IgM 型抗体灭活不充分时,该情况将更加明显。因此,在用微柱凝胶技术进行检测时,血清灭活是影响实验准确与否的重要步骤。

在两种方法进行重复性评价的实验中,所用的试剂为同一批次试剂,微柱凝胶检测不同日期间滴度可以相差 2 个滴度,这也佐证了 Coombs 实验结果准确性不高,不同实验室的检测滴度能相差 4 个滴度^[1-2],容易对病情造成误判。在对两种方法的 CV 值进行统计分析时,研究中采用了两种方法:一种是用原始值求均值和标准差然后计算 CV 值的方法,结果见表 3;另一种是对检测结果取 Log 值后求均值和标准差然后计算 CV 值的方法,结果未给出。两种统计方法得出的结论一致,微柱凝胶技术检测的结果的 CV 值显著高于流式细胞检测,表明流式细胞的重复性要高于微柱凝胶检测。

综上所述,IgG 型抗体在 O 型血孕妇检出率高于非 O 型血孕妇,流式细胞的检测结果与微柱凝胶技术检测结果具有很好的相关性,流式细胞术的重复性要高于微柱凝胶技术。

参考文献

[1] Kumlien G,Wilpert J,Safwenberg J,et al. Comparing the tube and gel techniques for ABO antibody titration,as performed in three European centers[J]. Transplantation,2007,84(12 Suppl):S17-19.

[2] Tanabe K. Interinstitutional variation in the measurement of anti-A/B antibodies;the Japanese ABO-Incompatible Transplantation Committee survey[J]. Transplantation,2007,84(12 Suppl):S13-16.

[3] 徐树良,田爱民,陈军浩,等. 流式细胞术检测抗体致敏红细胞方法的建立及初步应用[J]. 中国输血杂志,2002,15(2):98-100.

[4] 张弛,郭晓伟,向莹,等. 流式细胞术在人 ABO 血型特异性抗体检测中的应用[J]. 中华器官移植杂志,2011,32(1):24-27.

[5] Pins MR,Saidman SL,Cosimi AB,et al. Accelerated acute rejection of an apparent A2 renal allograft in an O recipient:report of a case with flow cytometric analysis[J]. Transplantation,1997,63(7):984-988.

[6] 尹凤媛,陈华波,刘居新,等. 两种方法测定孕妇 IgG 抗-A(B)效价的比较[J]. 中国输血杂志,2006,19(1):51-52.

[7] Cheng D,Hao Y. Comparative evaluation of the microcolumn gel card test and the conventional tube test for measurement of titres of immunoglobulin G antibodies to blood group A and blood group B[J]. J Int Med Res,2011,39(3):934-943.

[8] 孙小纯,欧兴义,林伟强,等. 孕妇 ABO 血型抗 A(B)抗体效价检测分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(6):719-721.

[9] 杨秀丽. O 型孕妇血清中 IgG 抗体效价与新生儿溶血病的关系[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(10):1037-1039.

[10] Stussi G,Huggel K,Lutz HU,et al. Isotype-specific detection of ABO blood group antibodies using a novel flow cytometric method[J]. Br J Haematol,2005,130(6):954-963.

[11] Yurugi K,Kimura S,Ashihara E,et al. Rapid and accurate measurement of anti-A/B IgG antibody in ABO-unmatched living donor liver transplantation by surface plasmon resonance[J]. Transfus Med,2007,17(2):97-106.

[12] Valli PV,Puga G,Yung Fehr T,et al. Changes of circulating antibody levels induced by ABO antibody adsorption for ABO-incompatible kidney transplantation[J]. Am J Transplant,2009,9(5):1072-1080.

(收稿日期:2014-01-08)

(上接第 1915 页)

in Guangdong Province of China[J]. J Clin Pathol,2004,57(5):517-522.

[2] Xiong F,Sun M,Zhang X,et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet,2010,78(2):139-148.

[3] 周玉球,商璇,尹保民,等. 1998-2010 年珠海市地中海贫血大规模人群的遗传筛查和产前诊断结果分析[J]. 中华妇产科杂志,2012,47(2):90-95.

[4] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版,南京:东南大学出版社,2006:99-112.

[5] 汪伟山,周玉球,张永良,等. 静止型 α -地中海贫血红细胞指标临界值的确定及其应用[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(2):147-149.

[6] 熊立凡,刘成玉. 临床检验基础[M]. 4 版,北京:人民卫生出版社,2007:106-112.

[7] 程翔,乐家新,郝晓柯,等. 血浆渗透压升高对不同类型血细胞分析仪 MCV 测定结果的影响[J]. 中国误诊学杂志,2010,10(8):1765-1767.

[8] 赵花,李娇颖. 病毒性肝炎患者 MCV、RDW 的变化及临床意义[J]. 中国误诊学杂志,2007,7(20):4742-4743.

[9] Yesil A,Senats E,Bayoglu IV,et al. Red cell distribution width:a novel marker of activity in inflammatory bowel disease[J]. Gut Liver,2011,5(4):460-467.

[10] Old JM. Screening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders[J]. Blood Rev,2003,17:43-53.

(收稿日期:2014-02-18)