

• 论 著 •

两种方法对献血前血液筛查效果的对比分析

郑井滨, 张 丽, 毕聪玺

(大连市血液中心质控科, 辽宁大连 116001)

摘要: 目的 分析硫酸铜目测法与血细胞计数仪在献血筛查中的实际应用效果。方法 对 1 500 名献血者献血前标本分别应用硫酸铜目测法和血细胞计数仪进行筛查, 以血细胞计数仪检测结果为参考, 计算硫酸铜目测法筛查献血者血红蛋白(Hb)的灵敏度、特异度及两种方法对异常标本的总体检出率等指标, 并进行统计学对比分析。结果 硫酸铜目测法共筛选出 29 名(占 1.9%)献血者因 Hb 水平低于标准而不适宜献血。采用硫酸铜目测法进行献血前 Hb 筛查的总灵敏度为 99.7%、特异度为 82.8%, 与计数仪法比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。利用血细胞计数仪共筛选出标本异常献血者 336 名(占 22.4%), 以血细胞计数仪为参考, 硫酸铜目测法筛选出的异常标本数占全部异常标本数的 8.6%(29/336)。结论 硫酸铜目测法可以用于献血者献血前 Hb 项目的筛查, 但该方法特异度较低, 筛查项目不够全面, 条件允许时应在献血前进行血细胞计数仪检测。

关键词: 硫酸铜; 血红蛋白测定; 血细胞计数仪; 血液筛查

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.013

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2016)05-0611-03

The comparative analysis on effects of two methods for blood screening before blood donation

Zheng Jingbin, Zhang Li, Bi Congxi

(Department of Quality Control, Dalian Blood Center, Dalian, Liaoning 116001, China)

Abstract: Objective To investigate the practical application values of copper sulfate method and hemocyte analyzer in blood donation screening. **Methods** A total of 1 500 blood samples of donors were randomly collected and determined by using both copper sulfate method and hemocyte analyzer. Taking hemocyte analyzer as the reference method, the sensitivity and specificity of copper sulfate method for detecting hemoglobin(Hb) were calculated. The overall detection rates of abnormal blood samples determined by the two methods were calculated, as well. Statistical comparisons were performed on the test data from both methods. **Results** A total of 29 donors(accounted for 1.9%) with unacceptable Hb value were found by using copper sulfate method. For all blood donors, the sensitivity and specificity of copper sulfate method for Hb screening before blood donation was 99.7% and 82.8%, respectively. And there were no statistically significant differences in sensitivity and specificity between the two methods for Hb estimation($P > 0.05$). There were 336 donors with abnormal blood samples detected by using hemocyte analyzer. Taking hemocyte analyzer as the reference method, only 8.6% of donors with abnormal blood samples were screened out by using copper sulfate method.

Conclusion The copper sulfate method could be used for Hb screening before blood donation. While because of its limitations, such as relatively low specificity and inadequate screening items, the hemocyte analyzer shoud be utilized before blood donation if the conditions permit.

Key words: copper sulfate; hemoglobin estimation; hemocyte analyzer; blood screening

《献血者健康检查要求》及《血站技术操作规程》中都要求献血前必须对献血者进行健康征询与一般检查, 献血前对血液血红蛋白(Hb)项目的筛查一般应用硫酸铜目测法(以下简称硫酸铜法)或试纸条比色法^[1]。在捐献血小板(PLT)前因需要确定 PLT 计数、血细胞比容(Hct)等指标, 往往采用血细胞计数仪(以下简称计数仪法)来确定献血者是否适宜献血。硫酸铜法因其操作简单, 不需要特殊设备, 检测成本较低等原因, 被广泛运用于献血前筛查, 但此方法在临床诊断中却早已被淘汰^[2]。为确定硫酸铜法在献血者筛查中的实际应用价值, 本文以计数仪法分析结果为参考进行对比分析, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 血标本来自 2014 年 3~6 月自愿无偿献血者 1 500 名, 男 872 名, 女 628 名, 年龄 18~57 岁, 均经献血前健康征询、一般检查合格后, 采集乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血标本 5 mL。

1.2 仪器与试剂 血红蛋白测定试剂购自北京望升伟业科技发展有限公司[(20±2)℃; 比重: 男 1.052 0, 女 1.051 0]; XT-

1800i 全自动血细胞计数仪及其配套试剂购自日本 Sysmex 公司, 仪器校准、检定合格, 国家卫生和计划生育委员会临床检验中心空间质评结果满意。

1.3 方法 血液标本充分混匀后分别用硫酸铜法和计数仪法进行检测。

1.3.1 硫酸铜法 根据献血者性别分别选取男 1.052 0、女 1.051 0 比重的硫酸铜对应试剂, 在标示的使用温度下进行检测。将受检者血液 1 滴, 距硫酸铜液面垂直距离约 1 cm 滴入, 15 s 内观察, 血滴很快下沉或血滴在液面中段悬浮 10~15 s 后下沉判为适宜献血, 15 s 内不下沉判为不适宜献血。

1.3.2 计数仪法 测定白细胞(WBC)计数、红细胞(RBC)计数、Hb、Hct、红细胞平均体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、PLT 计数。根据文献[3-4]结合 XT-1800i 计数仪的参考范围, 血细胞分析各项目判定标准如下: WBC(3.6~10.0)×10⁹/L; RBC 男(4.0~5.7)×10¹²/L, 女(3.5~5.1)×10¹²/L; Hb 男 120~172 g/L, 女 110~151 g/L; Hct 男 0.38~0.54, 女 0.34~0.47; MCV

80~100 fL; MCH 27~34 pg; MCHC 320~360 g/L; PLT (100~320) $\times 10^9$ /L。

1.3.3 观察指标 以计数仪法为参考,计算硫酸铜法的灵敏度、特异度。计算两种方法对异常标本的总体检出率。灵敏度=适宜献血人数/(适宜献血人数+误筛人数);特异度=不适宜献血人数/(不适宜献血人数+漏筛人数)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据与统计分析,计数资料以例数或百分率表示,采用 χ^2 检验进行比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种方法对 Hb 项目的筛查性能比较 采用硫酸铜法进

行检测,共筛查出 29 名(占总筛查人数的 1.9%)不适宜献血的献血者,其中男性献血者 3 名(占男性献血者的 0.4%),女性献血者 26 名(占女性献血者的 4.1%)。硫酸铜法检测灵敏度、特异度,见表 1。以计数仪法为参考,男性献血者两方法结果完全一致;女性献血者两方法检测结果比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.09, P>0.05$)。两种方法的检测灵敏度及特异度比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 计数仪法筛查献血者各项目情况 采用计数仪法共筛查出血细胞分析异常者 336 名(占总筛查人数的 22.4%),其中男性献血者 138 名(占男性献血者的 15.8%),女性献血者 198 名(占女性献血者的 33.2%)。血细胞各项目异常情况,见表 2。

表 1 硫酸铜法筛查献血者 Hb 项目的灵敏度和特异度

献血者	<i>n</i>	适宜献血人数(<i>n</i>)	不适宜献血人数(<i>n</i>)	漏筛人数(<i>n</i>)	误筛人数(<i>n</i>)	灵敏度(%)	特异度(%)
男	872	869	3	0	0	100.0	100.0
女	628	596	21	6	5	99.2	80.8
合计	1 500	1 465	24	6	5	99.7	82.8

表 2 血细胞分析各项目异常情况

项目	男性献血者(<i>n</i> =872)			女性献血者(<i>n</i> =628)			总异常率 [<i>n</i> (%)]
	过低	过高	血细胞异常者所占百分比[<i>n</i> (%)]	过低	过高	血细胞异常者所占百分比[<i>n</i> (%)]	
WBC	9	27	36(4.1)	6	24	30(4.8)	66(4.4)
RBC	2	40	42(4.8)	0	13	13(2.1)	55(3.7)
Hb	2	35	37(4.2)	15	8	23(3.7)	60(4.0)
HCT	1	2	3(0.3)	5	2	7(1.1)	10(0.7)
MCV	6	5	11(1.3)	17	5	22(3.5)	33(2.2)
MCH	14	5	19(2.2)	45	4	49(7.8)	68(4.5)
MCHC	18	1	19(2.2)	122	0	122(19.4)	141(9.4)
PLT	2	23	25(2.9)	1	53	54(8.6)	79(5.3)

2.3 硫酸铜法检出异常标本百分比 硫酸铜法筛查出的异常标本数占全部异常标本数的 8.6%(29/336)。

3 讨 论

硫酸铜法因其操作简单、不需要特殊设备及检测成本较低等原因,在献血初筛时作为一种推荐方法使用^[1,5],但该方法比较粗糙,干扰因素较多,很难得出精确的结果。例如:(1)当自配硫酸铜试剂时,因硫酸铜含有结晶水,易风化潮解,不易准确配制各种浓度溶液;(2)测量时由于多次血液的加入,硫酸铜溶液的比重有所变化。(3)血浆成分(如血脂、血浆蛋白)质和量的改变及血细胞的病理变化都会对结果产生影响^[1];(4)测试时受温度、血液加入时的初速度、血液滴入时的高度、气泡等因素影响。为此,该方法在临床诊断中已被淘汰。本试验也同样显示,虽然硫酸铜法在献血者初筛时灵敏度(99.7%)较高,但特异度较低(82.8%),女性献血者筛查特异度仅为 80.8%,结果略高于文献^[6],但仍不理想。硫酸铜法筛查男性献血者的灵敏度和特异度均较高,可能与男性献血人群整体 Hb 水平较高有一定关系,本次抽检献血男性 Hb 95% 参考范围为 135~175 g/L,远高于献血者筛查所要求的 120 g/L。

硫酸铜法所能够筛选的 Hb 项目也仅是对 Hb 偏低血液有屏蔽作用,对于 Hb 过高标本却没有作用。在男性献血者中有 5 名献血者 Hb>180 g/L,另有 2 名 RBC>6.5 $\times 10^{12}$ /L,2

名 Hct>0.54,虽然均为单一项目过高,尚不满足真性红细胞增多症的诊断标准^[7],但不排除有真性红细胞增多症倾向的患者可能参加献血。红细胞增多症患者献血可能带来的风险至今尚未见相关报道,但病理性血液无法达到临床用血的目的。另外,本研究显示 WBC 计数异常血液(4.4%)与 PLT 计数异常血液(5.3%)均占较高比例。对 RBC 项目而言,RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 超过参考范围的标本数均占有较高比例,尤其是 MCHC 异常血液在女性献血者中所占百分比高达 19.4%。此外,硫酸铜法筛选出的异常标本仅占总异常标本数的 8.6%。按照标准要求,Hb 异常的血液在后续检测中有机会再次被筛选出,但 WBC、PLT 计数及 RBC 形态等项目异常的血液在后续检测中并没有相应的质量控制方法和要求^[8]。血细胞分析异常者的血液一旦被采集将有很大概率被输入至患者体内,这对献血者和患者的身体健康都将产生一定影响。

综上所述,采用硫酸铜法进行献血者初筛具有一定的筛选效果,可以对明显贫血人群起到暂时屏蔽献血的作用。但此方法对女献血者特异度较差,对于 Hb 过高者无法排除,WBC、PLT 计数及 RBC 形态异常标本同样无法得到有效控制。为了更好地保证血液质量,避免有自身异常状况的志愿献血者参加献血,保障其身体健康^[9],建议有条件的采供血机构在献血前增加血细胞分析,用更科学的方式来评价献(下转第 615 页)

体肿瘤组织均具有明显的细胞毒活性。由 IL-12 治疗诱导出的 NK1.1⁺V142J α 281⁺ NKT 细胞可以介导肿瘤排斥, 过往输注经 IL-12 活化的 V α 14 NKT 细胞可有效阻止小鼠 B16 黑色素瘤肝脏转移灶的形成^[2]。研究证明, NKT 细胞被 α -GalCer 激活后分泌的 IFN- γ 在肿瘤排斥反应中起着关键作用^[3]。V α 24⁺ NKT 细胞的细胞毒性是通过穿孔素介导的, 并且 T 淋巴细胞受体(TCR)V α 24⁺、CD1d 和 α 2 脑苷脂也起一定作用^[4]。NKT 细胞并不直接杀伤肿瘤细胞, 而是通过 IFN- γ 介导下游效应细胞, 如 NK 细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞的积聚并提高其对肿瘤的敏感性而发挥抗肿瘤效应^[5]。 α -GalCer 和 IL-12 激活的 NKT 细胞可增强 NK 和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的抗肿瘤活性, 也可促进抗原呈递细胞(APC)活化与上调 CD40L 表达, 从而进一步促进 IL-12 的产生, 使肿瘤免疫得到加强^[6]。 α -GalCer 可抑制许多肿瘤的肝转移, 且为激活的 NKT 细胞的肿瘤杀伤效应。NKT 细胞既可通过识别靶细胞上的 CD1d-ligand 复合物直接介导抗肿瘤反应^[6], 亦可通过分泌白细胞介素-2(IL-2)和 IFN γ 激活 NK 细胞, 间接介导抗肿瘤反应^[7]。

本文实验结果证明, NKT 在体外进行混合培养时, 可发挥对 B16F10-luc-G5 细胞的杀伤效应, 该杀伤效应具有时间性, 随时间的延长达到更大的靶细胞杀伤作用。通过与 NK 细胞的平行比较发现, NKT 与其有相似的抗肿瘤功能。NK 细胞是细胞复杂的免疫调节网络中的重要组分, 而 NKT 细胞是免疫细胞中一个具特定标志的 T 淋巴细胞亚群, 不同于 NK 细胞, 两者均有抗肿瘤细胞效应。虽然 NKT 细胞在抗肿瘤能力上弱于 NK 细胞, 两者在机体内的功能和作用机制是否与体外实验相似, 还需进一步研究。

另外, NKT 细胞可下调机体的免疫监视能力, 导致肿瘤的发生。Moodycliffe 等^[8]发现, 从紫外线照射的小鼠分离得到的 NKT 细胞, 作为抑制性 T 淋巴细胞在调节紫外线诱发的皮肤癌细胞生长中具有重要作用, 可抑制体内获得性免疫的产生。紫外线辐射的致癌作用及引起的免疫抑制是通过 NKT 细胞来实现的^[8]。本次实验结果显示, 在 MLC 系统中, NKT 可以抑制总淋巴细胞对 B16F10-luc-G5 细胞的杀伤效应, 在培养 24~48 h 内可达到一定的抑制效应, 但培养时间超过 48 h 后, 该抑制效应明显减弱, 通过与经典的调节 T 细胞(CD4⁺ CD25⁺ T 细胞)进行平行比较, NKT 亦具有相似的抑制总淋巴细胞杀伤效应的作用。本次实验可初步显示 NKT 具有双向效应, 既具备抗瘤作用又有免疫抑制作用。因此, 笔者认为需要对 NKT 进行更深入的研究, 特别是其释放的细胞因子的浓度及相关蛋白质组的变化, 以期将针对 NKT 细胞的相关检测

数据应用于临床医学检验实验室, 以利于临床疾病的有效诊治。

综上所述, NKT 细胞在肿瘤免疫调节及肿瘤杀伤中起一定作用, 国外临幊上已有针对 NKT 进行的肿瘤免疫靶向治疗, 已达到良好的效果, 说明 NKT 细胞在抑制某些肿瘤的发生、发展机制中起着重要作用。

参考文献

- [1] Kawano T, Nakayama T, Kamada N, et al. Antitumor cytotoxicity mediated by ligand-activated human V alpha 24 NKT cells[J]. Cancer Res, 1999, 59(20): 5102-5105.
- [2] Schmieg J, Yang G, Franck RW, et al. Superior protection against malaria and melanoma metastases by a C-glycoside analogue of the natural killer T cell ligand alpha-galactosylceramide[J]. J Exp Med, 2003, 198(11): 1631-1641.
- [3] Gehrmann U, Hiltbrunner S, Näsland TI, et al. Potentiating anti-tumor immunity with α GC-loaded exosomes[J]. Oncoimmunology, 2013, 2(10): e26261.
- [4] Nakamura T, Yamazaki D, Yamauchi J, et al. The nanoparticulation by octaarginine-modified liposome improves α -galactosylceramide-mediated antitumor therapy via systemic administration [J]. J Control Release, 2013, 171(2): 216-224.
- [5] Smyth MJ, Crowe NY, Pellicci DG, et al. Sequential production of interferon-gamma by NK1.1(+) T cells and natural killer cells is essential for the antimetastatic effect of alpha-galactosyl ceramide [J]. Blood, 2002, 99(4): 1259-1266.
- [6] Fujii S, Shimizu K, Smith C, et al. Activation of natural killer T cells by alpHa-galactosylceramide rapidly induces the full maturation of dendritic cells in vivo and thereby acts as an adjuvant for combined CD4 and CD8 T cell immunity to a co-administered protein[J]. J Exp Med, 2003, 198(2): 267-279.
- [7] Fujii S, Shimizu K, Okamoto Y, et al. NKT cells as an ideal anti-tumor immunotherapy[J]. Front Immunol, 2013, 4(4): 409.
- [8] Moodycliffe AM, Nghiêm D, Clydesdale G, et al. Immune suppression and skin cancer development: regulation by NKT cells[J]. Nat Immunol, 2000, 1(6): 521-525.

(收稿日期: 2015-12-26)



(上接第 612 页)

血者状态, 通过严格的筛查、检测, 为临床患者提供安全、有效的血液。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 卫医政发[2012]1号附件 血站技术操作规程: 2012 版[Z]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [2] 丛玉隆. 淘汰血红蛋白硫酸铜比重试验及沙利目测法的原因及替代试验(上)[J]. 中级医刊, 1993, 28(7): 50-52.
- [3] 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: 136-140.
- [4] 熊立凡, 李树仁. 临床检验基础[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 12-85.
- [5] Roback JD, Grossman BJ, Harris T, et al. Technical manual[M]. 17th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks,

2011: 965.

- [6] Tondon R, Verma A, Pandey P, et al. Quality evaluation of four hemoglobin screening methods in a blood donor setting along with their comparative cost analysis in an Indian scenario[J]. Asian J Transfus Sci, 2009, 3(2): 66-69.
- [7] 许文荣, 王建中. 临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 208-210.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB18469-2012 全血及成分血质量要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [9] 李宁. 无偿献血者血常规检测必要性的探讨[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(1): 38-40.

(收稿日期: 2015-09-21)