

和无偿献血现场采血前检测乙肝标志物提供了便利条件。但是该方法灵敏度不高,HBsAg的检测限一般为1 ng/mL,对于HBsAg弱阳性标本的检出率不高,容易出现假阴性。本实验结果显示,入选的86例疑似HBsAg假阴性标本,最终确认有35例为HBsAg弱阳性,占40.70%(35/86),对51例HBsAg阴性标本进一步检测分析,发现还有29例抗-HBs弱阳性,占33.72%(29/86),因此GICA检测乙肝两对半,只能作为筛查方法,对于疑似HBsAg假阴性标本需要用更准确的方法进行复查后方能发出报告。

ELISA灵敏度较高、特异性较好,操作方便且不需要很精贵的仪器,各诊断指标都比较理想且成本较低,基本满足了临床需求,是目前国内基层医院检测HBsAg最常用的方法。但该方法的操作步骤较多,整个实验过程持续时间长,而且国产ELISA试剂盒的灵敏度一般在0.5 ng/mL,对HBsAg临界标本检测的正确率并不理想,对一些低水平的HBsAg检出能力有限,仍有漏检,会产生一定的假阴性。在本实验中,最终确认的35例HBsAg弱阳性标本,ELISA仅检出26例阳性。标本溶血、标本污染、标本放置过久、标本凝集不全、操作中的因素(孵育时间、洗板、加样量等)都有可能造成ELISA结果为假阳性。在本实验中,ELISA检出的28例HBsAg弱阳性标本,有2例为假阳性。

TRFIA HBsAg定量试验HBsAg检测的灵敏度、特异性明显提高,使HBsAg滴度表达很低的标本得以检出,灵敏度一般在0.2 ng/mL,并能检测变异的HBsAg,对临床诊断及流行病学调查有着重要意义。全自动时间分辨免疫荧光仪EasyCuta从标本加样到结果全部由仪器自动化完成,从而避免了人为误差产生,做到了自动、准确、快速。有研究者提出,对于低浓度的HBsAg应引起足够的重视^[2-5]。本实验中,HBsAg水平低的标本,GICA和ELISA灵敏度不够而漏检的,经TRFIA检测后均被检出,并经HBsAg抗体中和确认试验最终确认,符合率100%。李金明^[3]提出应重视对弱反应性标本的

· 临床研究 ·

确认,排除假阳性,得出一个正确的结果,对患者负责。ELISA不仅因灵敏度的原因会出现假阴性结果,且存在一定程度的假阳性,在操作中需要注意防范,对弱阳性标本也需要进一步复查确认,确保结果准确可靠。曹树正等^[6]曾以微粒子酶免发光法(MEIA)来确认ELISA检测HBsAg产生假阴性的标本,经抗体中和确认试验确认,MEIA也存在一定的假阳性,其低反应标本仍要经过抗体中和确认试验来验证。而TRFIA结果准确、灵敏度高、特异性好,对HBsAg弱阳性标本有较好的检出率,检测变异的HBsAg能力也强。因此,GICA对乙肝两对半检测时,对其中单抗-HBc阳性,或单抗-HBe为阳性,或抗-HBc和抗-HBe同为阳性,而HBsAg、抗-HBs、HBeAg均为阴性的疑似HBsAg假阴性标本可用TRFIA HBsAg定量试验进一步检测确认,核定结果后再发正式报告。

参考文献

- [1] 王海刚,丁磊,潘航,等.3种HBsAg检测方法的比较[J].国际检验医学杂志,2014,35(12):1614-1615.
- [2] 王蕾,刘华,王雯静,等.低水平乙型肝炎表面抗原的检测及其临床价值评估[J].微生物与感染,2009,4(1):9-12.
- [3] 王文武,曹树正,杨杰,等.对乙型肝炎表面抗原弱阳性结果进行确认试验的应用研究[J].检验医学,2010,25(4):301-303.
- [4] 李金明.感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):577-580.
- [5] 康炜,辛娜,尤涛,等.ROC曲线对ELISA检测HBsAg阳性判断值的确定及应用评价[J].现代检验医学杂志,2010,25(6):49-50.
- [6] 曹树正,王文武.乙型肝炎表面抗原ELISA检测假阴性样本的分析[J].现代检验医学杂志,2012,27(1):9-10.

(收稿日期:2016-06-12 修回日期:2016-09-02)

血液温度和贮存时间对去白细胞血液质量效果分析*

鲁国勇,朱荣华[△],李维锦,陈兆庆,谢函凌,段志燕

(云南省保山市中心血站 678000)

摘要:目的 了解血液的温度、采血后贮存时间对去白细胞血液制备的影响,寻找白细胞滤除的最佳温度和贮存时间,为临床提供更加优质的血液制品,让更多患者受益。**方法** 按照血液温度、采血后贮存时间,对滤后白细胞残存量、红细胞回收率效果进行统计分析。**结果** (1)血液温度的影响,通过397份标本的观察,血液温度在10℃及以下172份,合格率86.62%(149/172);10℃以上225份,合格率61.77%(139/225)。2组白细胞滤过合格率经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=30.22, P<0.05$)。(2)采血后贮存时间的影响,通过545份标本的观察,采血后贮存时间4 h内滤除208份,合格率59.13%(123/208);4~12 h内滤出189份,合格率87.30%(165/189);12~48 h内滤除148份,合格率86.48%(128/148);3组白细胞滤过率经过 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=18.16, P<0.05$)。**结论** 结合当地实际,云南保山无偿献血血液白细胞去除工作最佳滤出温度,血液温度控制在2~10℃。兼顾到冷沉淀的制备时效(8 h内),血液贮存4~8 h内进行白细胞滤出工作为最佳过滤时间。

关键词:白细胞; 时间; 温度; 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3334-03

临幊上由输血引发的各种疾病越来越引起人们的重视,输注过滤去除白细胞血液避免因输入献血者的白细胞而引起的

非溶血性发热性输血反应(FNHTR)和同种免疫反应,防止输血相关性移植物抗宿主病(TA-GVHD)的发生预防巨细胞病

* 基金项目:云南省保山市科技立项项目(保科字[2016]19号)。

△ 通讯作者,E-mail:77531164@qq.com。

毒(CMV)感染,减少输血引发的病毒性传染病和血小板输注无效等,是提高输血疗效和安全的有效手段,在临床治疗中,对输血安全、临床治疗效果、成分血的保存起着十分重要的作用。去除白细胞血液质量又有明确规定 GB18469-2012^[1],保山市对去除白细胞工作无数据可查,为保证质量,保山市中心血站开展滤除白细胞最佳温度和最佳贮存时间观察,以弥补保山少白细胞血液工作数据的空缺。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 全血;一次性使用去白细胞多联采血袋;大容量 Nageotte 血细胞计数板;普通显微镜;迈瑞 BC-5300 全自动血液细胞分析仪,温差电偶温度仪。

1.2 方法 随机抽取采血时间在 48 h 内(采血时在血袋外用记号笔标明采血时间 T0)用去白细胞多联袋采集的全血,在滤除白细胞前测量全血温度(三明治夹心法),记录测量温度,在过滤开始时记录时间(T1),结束时记录时间(T2),过滤时间 $T = T_2 - T_1$,血液的贮存时间 $T = T_1 - T_0$ 。根据血液不同的测量温度值、血液的贮存时间,白细胞、红细胞计数,统计分析温度对白细胞滤除效果(白细胞残留量)以及对红细胞的影响(红细胞回收率)。

1.3 红细胞、白细胞计数及过滤后白细胞验证 过滤前、后用全自动血细胞计数仪计数白细胞、红细胞。验证白细胞:50 μL 大容量 Nageotte 血细胞计数板计数。

1.4 判定合格标准 白细胞残留量小于 $2.5 \times 10^6 / U$;红细胞回收率为 ≥85%。

1.5 统计学处理 采用统计软件 SPSS17.0 分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 温度对滤除白细胞的影响 通过 397 份标本的观察,血液温度在 2~10 °C 172 份,通过滤除白细胞后,合格率 86.7% (149/172),红细胞回收率为 92.9%;10~15 °C 150 份,合格率 74.0% (111/150),红细胞回收率为 89.9%;15 °C 以上 75 份,合格率 37.3% (28/75),红细胞回收率为 91.2%;3 组白细胞滤过率经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 63.97, P < 0.05$);滤前温度 10~15 °C、15 °C 以上两组白细胞滤过合格率经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 28.47, P < 0.05$)。

将滤前血液温度 2~10 °C 的 172 份分解为 2 组(2~8 °C 和 8~10 °C)进行白细胞滤过效果分析,其中 2~8 °C 组 35 份,合格 31 份,不合格 4 份,合格率为 88.57%,红细胞回收率 97.40%;8~10 °C 组 137 份,合格 118 份,不合格 19 份,合格率为 86.13%,红细胞回收率 92%;两组白细胞滤过合格率经 χ^2 检验,差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.143, P > 0.05$)。

2.2 过滤温度与过滤时间分析 血液温度高,过滤时间短;温度低,过滤时间长,见表 1。

表 1 过滤温度与过滤时间的关系($\bar{x} \pm s, \text{min}$)

过滤温度	200 mL	300 mL	400 mL
2~10 °C	10.40 ± 3.05	9.85 ± 3.22	12.54 ± 3.48
10 °C 以上	7.96 ± 2.34	8.50 ± 3.29	10.31 ± 3.35

2.3 贮存时间对滤除白细胞效果的影响 通过 545 份标本的观察,采血贮存时间 4 h(A 组)内滤除 208 份,合格率 59.13%;4~12 h(B 组)内滤出 189 份,合格率 87.30%;13~48 h(C 组)

148 份,合格率 86.48%,见表 2。3 组白细胞滤过率经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 18.16, P < 0.05$)。两两比较,A 组与 B 组白细胞合格率经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 39.44, P < 0.05$);A 组与 C 组白细胞合格率经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 31.11, P < 0.05$);B 组和 C 组白细胞合格率经 χ^2 检验,差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.05, P > 0.05$)。

表 2 贮存时间对滤除白细胞的影响

贮存时间 n	白细胞 不合格(n)	滤前红细胞		滤后红细胞		红细胞 回收率(%)
		\bar{x}	s	\bar{x}	s	
4 h 以内 208	85	3.59	0.62	3.28	0.52	91.36
4~12 h 189	24	3.75	0.66	3.43	0.52	91.47
13~48 h 148	20	3.68	0.63	3.28	0.44	89.13

2.4 贮存温度与时间之间的关系 温度与贮存时间(8 h 内)之间存在着负相关,Pearson 相关系数 ($r = -0.691, P < 0.05$),其中 200 mL 相关系数 ($r = -0.753, P < 0.05$),300 mL 相关系数 ($r = -0.742, P < 0.05$),400 mL 相关系数 ($r = -0.396, P < 0.05$)。

3 讨 论

本课题主要研究同一白细胞滤器对血液温度和采血后贮存时间的影响。血液温度在 10 °C 及以下通过滤除白细胞后,合格率 86.6%(149/172),红细胞回收率为 92.9%;10 °C 以上合格率 61.7%(139/225),红细胞回收率为 90.2%。2 组白细胞滤过合格率经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 30.22, P < 0.05$)。说明血液温度低过滤后白细胞去除率显著提高,这与谢如锋等^[2]的研究结果相一致。效果较温度高好。因为血液放置在 2~6 °C 冰箱一段时间后白细胞、血小板和纤维蛋白凝聚形成微聚体从而容易被去除^[3]。另外白细胞在 4~6 °C 中变形能力差,容易被白细胞滤器拦截。在制备去白细胞血液过程中,去白细胞血液质量与滤器的材质也有很大关系。

从过滤时间看,200、300、400 mL 3 种规格型号的血袋,血液温度 2~10 °C 组过滤时间均较 10 °C 以上组均有延长 1~2 min。当血液温度降低时,血液黏度增加,流速减小,白细胞因重力惯性过滤机理穿过滤材的减少,使血液过滤材料中滞留的时间增长,有利于白细胞被滤材截留^[4]。另外,当温度降低时,细胞膜脂质双分子层的流动性减弱,细胞的变形能力变差,使白细胞更容易被过滤材料截留^[2]。

温度与贮存时间(8 h 内)之间存在着负相关,Pearson 相关系数 ($r = -0.691, P < 0.05$),其中 200 mL 相关系数 ($r = -0.753, P < 0.05$),300 mL 相关系数 ($r = -0.742, P < 0.05$),400 mL 相关系数 ($r = -0.396, P < 0.05$)。血液在 4 °C 贮存 5 h 后,血液温度已均匀降至 8 °C 左右^[5]。本次观察 127 份血液贮存在(4±2)°C 冰箱 5 h 后温度,血液温度降至 10 °C 以下 97 份,占 76.38%,与相关研究基本一致。

4~8 h 组与 13~48 h(隔夜)组比较,红细胞回收率 13~48 h 组稍有降低外,白细胞滤除效果并无显著提高。过滤时间有一定延长。因此,对本文所使用的滤器而言,其过滤机制可能是以筛滤为主,血液温度对白细胞滤除有显著影响。增加贮存时间未能产生进一步的影响,仅使红细胞回收率略有下降,其机制有待进一步研究。

白细胞在(4±2)°C 只能保存 5~8 d,全血在 4 °C 储存 7 d,

25%的粒细胞已不完整。随着细胞的死亡和裂解,细胞碎片增加,它们中有些仍然含有HLA-II类抗原,不能被去白细胞滤器滤除,同样可引起同种免疫反应。现在许多研究者普遍认为,贮存前去除白细胞比贮存后去除白细胞更为优越,Yaprak等^[6]研究了贮存前去除白细胞和贮存后去除白细胞的血液中生物活性物质的变化,细胞外髓过氧化物酶(MPO)、嗜酸性粒细胞阳离子蛋白(BCP),组胺(HIS)和Ⅰ型纤溶酶原激活物抑制因子(PAI-1)在未滤除白细胞的血液中均呈现时间依赖性累计增加,贮存前滤除白细胞可预防这些物质的产生。

血液的贮存时间、贮存温度、血浆的量、过滤前白细胞的量、过滤时间的长短、滤过时血液的流速等都会影响白细胞的去除效果^[7]。本次研究的一次性滤除白细胞血袋,在保山市的最佳滤过时间为采血后4~8 h为最佳时间,最佳滤除温度为2~10℃。在今后的工作中找出各种型号滤器血液滤除白细胞效果好、操作简单的制备方法,掌握血液的最佳滤除白细胞时机是今后努力的方向。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 全血及成分血质量要求[M]. 北京: 卫生部, 2004.
- 临床研究 •

京: 中国标准出版社, 2012.

- [2] 谢如锋, 李云, 戴勇超, 等. 血液温度、贮存时间制备去白细胞全血的影响[J]. 临床输血与检验, 2005, 7(3): 196-197.
- [3] 杨成民, 李家增, 季阳. 基础输血学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2001: 444-446.
- [4] 柯勤飞. 非组造滤材白细胞过滤膜型研究[J]. 中国纺织大学学报, 2000, 26(3): 23-28.
- [5] 孟莉, 黄庆香. 影响去白细胞滤器效果的因素分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(9): 1133.
- [6] Yaprak I, Yercen N. A comparison of different filters for white cell reduction[J]. Turk, 35(3): 113-115.
- [7] 刘加军, 伍新尧, 潘祥林, 等. 去白细胞输血治疗对恶性血液病化疗患者细胞免疫功能的影响[J]. 实用诊断与治疗杂志, 2004, 18(1): 6-7.

(收稿日期: 2016-06-11 修回日期: 2016-09-01)

下肢骨折时间与血浆D-二聚体浓度及阳性率的关系

池继敏, 郭 莉, 邹 明, 黄玉霞

(四川省骨科医院检验科, 成都 610041)

摘要:目的 探讨下肢骨折患者骨折时间与血浆D-二聚体浓度及阳性率的关系。方法 选取377例下肢骨折患者, 测定血浆D-二聚体浓度, 并按骨折发生时间分为7组, 比较各组D-二聚体浓度及阳性率。结果 下肢骨折发生时间少于1 d的患者, 血浆D-二聚体浓度明显高于其余各组($P < 0.05$), 发生时间大于30 d的患者, 血浆D-二聚体浓度及阳性率均明显低于其余各组($P < 0.05$)。且下肢骨折发生10 d内, 血浆D-二聚体阳性率达89.6%。结论 下肢骨折发生10 d内, 患者血浆D-二聚体浓度及阳性率均明显升高, 临床需密切关注血栓发生风险。

关键词:下肢骨折; 骨折时间; D-二聚体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.038

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2016)23-3336-02

D-二聚体是纤维蛋白单体经活化因子Ⅲ交联后, 再经纤溶酶水解所产生的一种特异性降解产物, 是一个特异性的纤溶过程标记物。D-二聚体来源于纤溶酶溶解的交联纤维蛋白凝块。D-二聚体并非独特的血栓形成标记物, 但由于其存在较高的阴性预测价值, 故D-二聚体阴性可排除可能有的血栓形成。静脉血栓多发生于下肢、盆腔、阴道旁等部位的静脉中^[1]。有报道称, 骨创伤患者D-二聚体浓度明显高于健康对照组, 且多发骨折组、下肢骨折组、骨盆骨折组明显高于上肢骨折组^[2]。同时D-二聚体对下肢骨折术后并发深静脉血栓(DVT)具有早期诊断价值^[3]。本文通过对377例下肢骨折患者D-二聚体浓度比较, 分析不同骨折时间对D-二聚体浓度及阳性率的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院2015年1月至2016年3月下肢病区收治的377例下肢骨折患者, 其中男251例, 女126例, 年龄14~80岁, 平均37岁。

1.2 仪器与试剂 仪器使用上海合意检验设备有限公司生产的CB178血液检验多功能分析仪, 试剂使用上海捷门生物技术合作公司生产的D-二聚体测定试剂盒(胶乳增强免疫透射比浊法)。

1.3 方法 377例下肢骨折患者于入院次日空腹抽取静脉血于枸橼酸钠抗凝标准血凝管中, 离心机3 000 r/min离心10 min, 分离血浆层并于4 h内完成检测。测定血浆D-二聚体浓度, 同时记录该患者骨折发生时间。按骨折发生时间分组, 分为0~<1 d、1~<2 d、2~<3 d、3~<5 d、5~<10 d、10~<30 d与≥30 d共7组。以D-二聚体浓度>0.5 μg/mL判为阳性, 比较各组D-二聚体浓度及阳性率。

1.4 统计学处理 采用PEMS3.1标准版进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间两两比较采用SNK-q检验。计数资料以率表示, 比较采用多重比较(Scheffe法), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

下肢骨折发生时间为0~<1 d组的D-二聚体浓度明显高于其余各组, 骨折发生时间为>30 d组的D-二聚体浓度明显低于其余各组($P < 0.05$), 且其余各组间D-二聚体浓度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组阳性率比较, 下肢骨折发生时间为>30 d组的D-二聚体阳性率明显低于其余各组($P < 0.05$), 且其余各组间阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。经统计, 骨折发生10 d内, D-二聚体阳性率高达