



全血分析在疾病筛查中的应用*

李建平 何立栋 胡意立 温建明 马继杰 万 嫩**

(浙江师范大学工学院, 金华 321004)

摘要 人的生命体征变化会引起血液成分与质量的改变, 血液分析作为评估人体健康状况的基础筛查项目, 在健康监测、疾病诊断和康复评估等方面得到了广泛应用。随着中国经济的快速发展与国民生活水平的不断提高, 人们的健康意识日益增强, 极大地推动了简单、快速以及灵敏化的疾病筛查技术发展。现阶段, 针对疾病筛查, 研发适用于血液快速分析的装置已成为医疗领域关注的热点。现有研究种类繁多, 却尚未对全血分析进行系统整理和分类, 本文系统回顾了全血分析的主要研究成果和最新进展, 将全血分析分为全血直接分析和全血间接分析两种途径, 阐明了目前基于全血直接分析的设备方法及其应用, 归纳了基于全血间接分析的核心处理技术和检测技术及原理, 探讨了现阶段全血分析装置不便携、效率不高以及价格昂贵等问题, 并对全血分析在集成化、智能化以及低成本研制方向上的发展前景进行了总结和展望, 为快速血液分析的未来研究方向提供新思路。

关键词 血液, 全血直接分析, 全血间接分析, 处理技术, 检测技术

中图分类号 TP212.3, R318

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0551

血液由血浆和血细胞组成, 约占人体体重的13%, 广义上被定义为一种包含液体和细胞的结缔组织。血液在人体中进行规律性、系统化的循环, 与人体各个组织器官密切相关, 通过神经体液调节和联合, 与机体构成了一个完整的个体, 具备运输、维持内环境稳态以及防御保护等功能, 保障机体正常的生理活动。血液的成分和质量会随人的生命体征变化而改变, 包括机体的生理变化和病理变化, 由此衍生出了全血分析的概念, 例如血常规化验^[1-2]这种门诊及住院病患的基础检验项目。全血分析不仅能够为各类血液系统疾病的诊断提供依据, 诸如贫血^[3-5]、溶血^[6-7]现象等, 对于其他类型疾病的诊治也具有重要意义, 例如感染性疾病^[8-11](细菌、微生物、病毒)、代谢性疾病^[12-16](糖尿病、脂质异常、高尿酸血症等)以及内分泌疾病^[17-19](胰岛素分泌异常、甲状腺疾病)等。因此, 全血分析在医学诊断领域占据着举足轻重的地位。

现阶段, 全血分析的研究方法种类繁多, 但是至今尚未归纳、总结和建立相应的分类系统, 基于上述问题, 本文提出将全血分析分为全血直接分析

以及全血间接分析两种形式(图1)。其中, 全血直接分析是通过抽取人体肘部静脉血或者指尖末梢血, 无需进行预处理操作或是样品制备, 直接放入检测设备即可进行相关潜在病理分析, 例如血常规、血糖、血凝时间等检查。此类诊断方式具有简单快捷, 对于医疗操作人员的能力要求不高, 但目前全血直接分析技术尚未成熟, 仍有众多关键性问题亟待解决, 例如无法直接进行微量成分筛查。全血间接分析作为目前医疗诊断的主流方式以及科学研究的主要方向, 需要对抽取血液做预处理以削弱试验条件以及环境因素带来的测量误差影响, 例如分离血细胞、添加细胞裂解液等。对于预处理手段可分为多种形式, 传统的全血处理存在耗费时间和成本偏高的弊端, 对血液的高效处理是现阶段快速分析或是床旁检测的关键技术难题。

毫无疑问, 通过对患者的表象症状判断以及体

* 国家自然科学基金(52105564)和浙江省重点研究开发项目(2021C01181)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 17805898198, E-mail: wannen@zjnu.cn

收稿日期: 2022-12-02, 接受日期: 2023-02-06

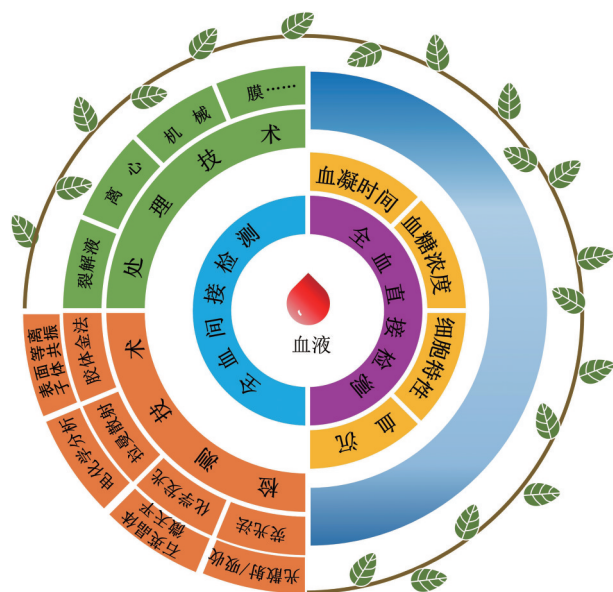


Fig. 1 Research status of whole blood analysis

图1 全血分析研究现状

液的指标检测，能够有效地为患者身体状况评价提供可靠信息，实现医疗的精确诊断并帮助主治医师制定正确的治疗计划。近年来，基于全血分析的技术快速发展，部分疾病的检测技术已趋于成熟并研发成产品广泛应用于市场之中，成熟的全血分析设备对于身体康复和生命健康监测及分析有着重要作用。提升设备的检测限度、灵敏度和特异性等指标的准确性已成为血液分析设备发展的重要环节。因此，采用间接过滤、离心等方式处理血液后进行分析是目前医疗领域以及临床检验的常用手段。但是，检测中的处理方式一般依靠大型的离心设备，操作流程繁琐且耗时长，对疾病的快速诊断有一定的滞后性；便携、集成装置虽然依靠膜过滤等形式缩短了处理时间，但多数分析仍需要精密的光学设备检测或显微镜观察，一方面是分析时间较长，另一方面是高昂检测成本，在一定程度上都制约了全血分析在现场快速筛查的应用。

综上所述，血液作为众多疾病诊断中最重要的体液之一，对血液进行高效、高分辨的分析将有利于众多疾病诊断、护理或者公共卫生领域。这篇综述系统地概述了全血分析技术以及设备目前的应用现状与未来的发展方向。第一部分梳理了全血直接分析，重点介绍目前相对成熟的全血分析设备及其应用。第二部分介绍了全血间接分析，将分析过程分为两个步骤，首先是分离技术，其次是检测技

术，两者相结合构成了全血间接分析，具有广泛的研究背景。第三部分在总结已有研究结果基础上，针对全血分析的研究仍然受制于繁琐的操作流程，沉重的分析仪器和高昂的检测费用等现状问题进行了探讨，提出将全血间接分析进行有效的集成，以解决大体积的离心设备带来的不便利，进一步将全血间接分析转换为全血直接分析，通过对血液各类状态（温度、红细胞压积等）进行有效的智能算法补偿，消除其影响，以实现全血中微量分子的定量表征，最终，降低材料成本、加工成本或设备成本，例如纸片离心，以完成低成本的全血快速分析。

1 全血直接分析

全血直接分析，无需预处理即可快速分析血液状况，包括各类细胞、蛋白质、代谢物、盐、激素等生物标志物，全血直接分析可以在很大程度上对患者健康状况进行评估以及相对应的疾病诊断，特别是在一些资源有限的地区。随着时代的更替，技术日新月异，成熟的全血直接分析技术随之而生，目前主要体现在以下4个方面：a. 活化凝血时间（activated clotting time, ACT），一种用于临床血液体外循环手术时的血凝时间监测指标；b. 血糖监测，目前小型化、便携化、智能化以及家庭化的血糖仪已经广泛应用；c. 细胞特性检测，例如三大细胞（红细胞、血小板、白细胞）计数、循环肿瘤细胞（circulating tumor cells, CTCs）等重要单细胞检测技术趋于成熟，主要代表设备为流式细胞仪，采用光电式技术进行特异性识别以区分细胞种类；d. 血沉检测也是比较有代表性的一个病理判断指标。

1.1 活化凝血时间检测

在体外循环中，如果没有合适的抗凝治疗手段，在回路中就会快速形成血栓，这类情况是致命的，为了预防重大不良事件，阻止血栓凝块的形成，ACT被认定为快速可靠衡量全血凝固能力的指标之一。从1966年Paul^[20]提出凝血时间这一概念开始，研究人员经过数年的探索，利用机械、光学、电学（磁珠振幅、柱塞位移、血液黏稠度）等技术^[21-23]成功检测ACT指标，成熟的检测技术被应用于设备研发，现如今成型设备主要有MAX-ACT（Helena）、ACT Plus（Medtronic）、Hemochron Jr.（ITC）、Hemochron Response（ITC）、SCT-CenturyClot（世纪亿康）以及i-STAT

(Abbott) 等。现有的 ACT 检测方式是从活化剂到反应终点的系统检测功能, 致使 ACT 的可重复性问题一直未能解决^[24], 但 ACT 仍然是心血管手术、重症监护以及血液透析等领域监测肝素活性的主要指标。

1.2 血糖检测

血糖的定期检测可以对患者的生活规律、运动饮食以及药物治疗有着重要指导意义, 快速的血糖检测有助于使用者随时发现异常身体状况, 及时就医。从 1968 年开始 Tom Clemens 针对血糖检测提出血糖仪的概念, 血糖仪在技术上经过了水洗式、擦血式、光声式、光电式、比色式以及电化学式等研究历程^[25], 从起初的血液离心检测到现如今的全血直接分析经历了数十年。目前, 血糖仪主流的检测方式分为以下三种: 全血光声式/光电式检测^[26-28]、全血电化学式检测^[29-30], 以及体液(唾液、汗液、尿液等)电化学分析检测^[31]。随着科

学技术的进步, 便携式、低成本的床旁血糖监测系统概念的提出, 小型化、智能化、高效精准的血糖监测设备被不断开发。Zhang 等^[32] 研制了一种基于光声式的小型血糖检测设备(图 2), 与传统的光声(photoacoustic, PA)仪器相比较, 拥有体积小、灵敏度高以及较好的稳定性等优势。Dai 等^[33] 介绍一种基于凝胶的全血血糖比色检测方法, 无需预先分离血浆即可进行比色检测, 误差范围小于 9%, 与商用血糖仪相比较误差更小。基于酶的生物传感器是目前较为流行的电化学传感器, 葡萄糖氧化酶或葡萄糖脱氢酶是用于葡萄糖检测最为广泛的酶, Thapa 等^[34] 介绍了一种基于酶的电化学生物传感器, 用于检测单滴全血中的葡萄糖和乳酸含量。迄今为止, 便携式血糖仪(中国三诺(Sino)、美国强生(Johnson)、瑞士罗氏(Roche)、德国拜尔(Bayer)等)已经广泛应用于家庭之中, 微量血液即可快速分析且设备操作性较强。

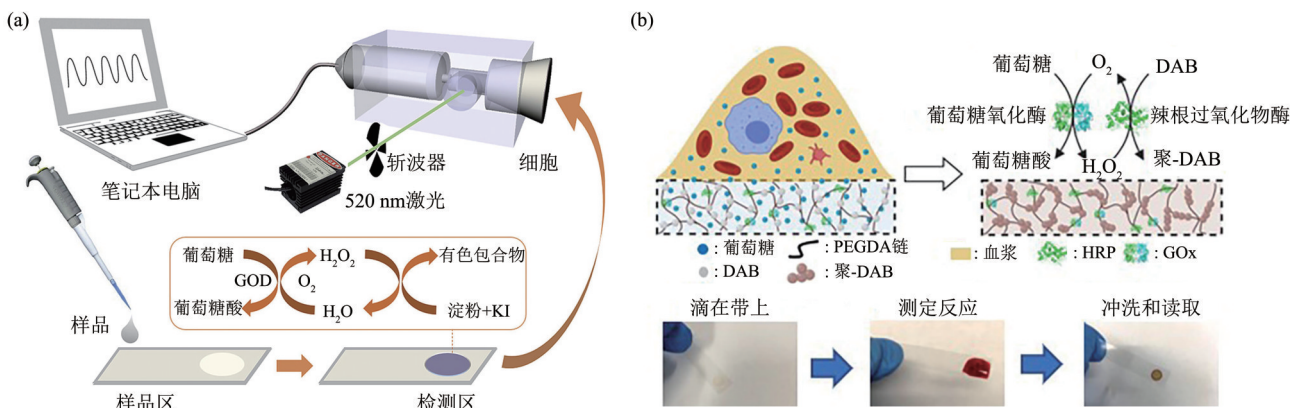


Fig. 2 Blood glucose detection
图2 血糖检测

(a) 用于全血葡萄糖即时检测的小型光声仪器原理示意图^[32]; (b) 基于凝胶的全血糖比色检测的工作原理图^[33]。GOD: 葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase); KI: 碘化钾 (starch-potassium iodide); PEDGA: 光聚合聚乙二醇-二丙烯酸酯 (photopolymerized poly (ethylene) glycol diacrylate); DAB: 3,3'-二氨基联苯胺 (3,3'-diaminobenzidine); HRP: 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase); GOx: 葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase)。

1.3 细胞特性检测

细胞数量以及细胞状态是衡量身体状况的重要指标, 发现突变细胞或异常病变细胞是预防和诊断疾病的前提, 这就使细胞特性检测尤为重要。自 20 世纪 30 年代初, 研究人员提出细胞计数概念, 之后的数十年里, 随着光电技术和计算机技术的快速发展, 单细胞检测技术经历了飞速发展阶段。现如今, 高通量、高灵敏度的细胞技术被研究者用于全血细胞计数^[35] 以及全血中病变细胞甄别^[36] 等方面。Zheng 等^[37] 对氨基酸和聚合物进行了系统

性研究, 以开发细胞选择性荧光标记物聚乙烯亚胺-钝化生物分子衍生碳点 I 型 (PEI-passivated biodots type I), 用于快速无裂解细胞的血液分析。Xu 等^[38] 设计了一种近红外光驱动的荧光纳米电机, 能够有效检测全血环境中的循环肿瘤细胞, 无需预处理程序, 并且能高效 (93.75%~98.75%) 捕获 CTCs 并以荧光的形式进行表征。Suzuki 等^[39] 介绍了一种基于微流体收缩和电流传感系统的机械低通过滤技术(图 3), 用于全血中的 CTCs 检测, 识别全血 CTCs, 数十毫秒内准确率大于 95%。

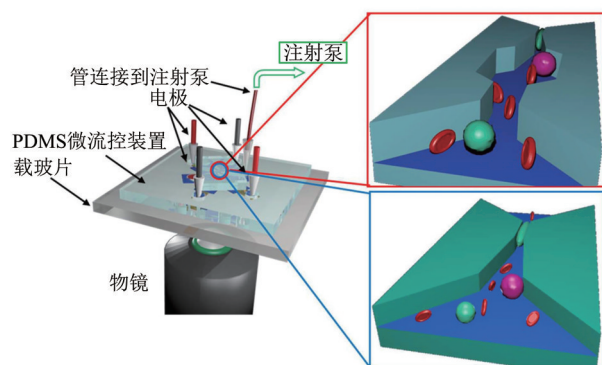


Fig. 3 Detection of cell characteristics: mechanical low-pass filtration technology based on microfluidic shrinkage and current sensing system^[39]

图3 细胞特性检测：基于微流体收缩和电流传感系统的机械低通滤波技术^[39]

1.4 血沉检测

红细胞沉降率（erythrocyte sedimentation rate, ESR）又称血沉，其沉降快慢、黏度与红细胞间的聚集力密切相关，临床上常用血沉作为红细胞间聚集性的指标，虽然它是一项非特异性检查指标，无

法精确检查以确诊某种疾病，但是被广泛用作筛查测试和监测多种炎症性疾病的非特异性疾病指数。在诊断颞动脉炎^[40]、风湿性多肌痛、骨髓炎以及追踪结核病^[41]、类风湿性关节炎和霍奇金病的疾病状态中，已有许多红细胞沉降的临床应用^[42-43]。在某些非炎症性疾病（包括中风、心脏病和前列腺癌）中，被认为是关键的预后因素。ESR在1921年由Febreaus Westrygren^[44]创立，历经几十年，仍被广泛应用，目前测定方法主要由魏氏（Westergren）法、斜管法、快速发、微量法、阻抗法以及血沉仪自动测定法（光学）等。传统的血沉检测以离心后血细胞为检测液，操作繁琐，随着技术的改进，血沉的测定已经从传统的魏氏法向全血自动测定发展。多数检验科室对现有的血沉自动分析仪进行有效的评估，选择合适的ESR检测设备对病情诊断辅助十分关键。相对于比较成熟的光学检测手段，新颖的技术也在逐步研发，Li等^[45]提出一种基于生物电阻抗谱（electrical impedance spectroscopy, EIS）的全血血沉检测技术（图4），特制的T形容器对血沉的EIS测量，提取的多频参数电抗 X_c 和沉降比 R_{sc} 呈现出良好的线性关系。

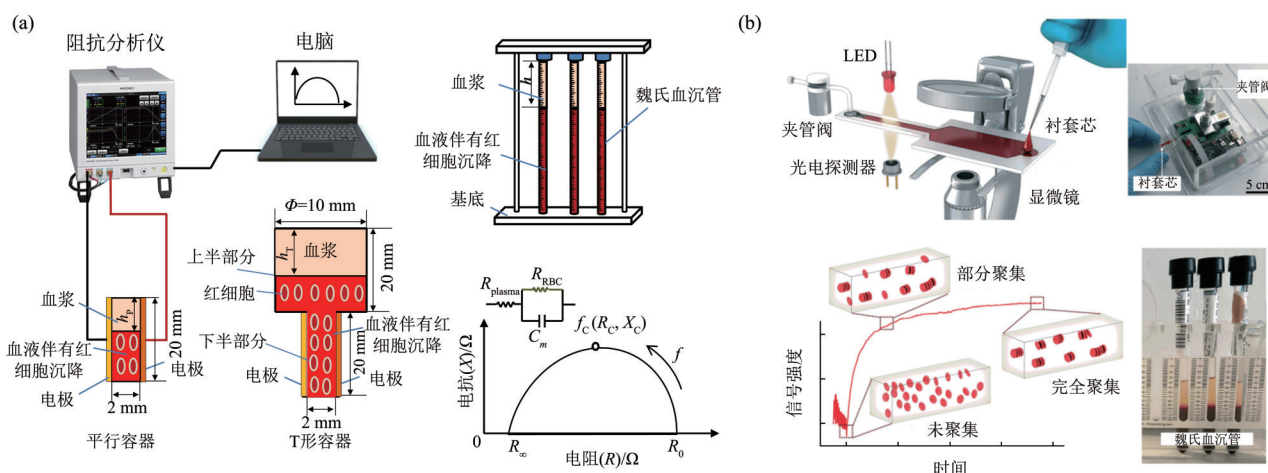


Fig. 4 ESR detection

图4 血沉检测

(a) 基于生物电阻抗谱的ESR检测试验系统^[45]；(b) 用于超快ESR测量和红细胞聚集监控的微流体系统^[46]。

2 全血间接分析

全血间接分析，是一种血液采集后需进行特殊预处理的分析技术。在医学领域，大部分生化、免疫的项目检测都是提取血液中的液体成分进行分

析，传统的免疫测定很少采用全血直接分析，普遍需要分离步骤，提取血液中的血浆或血清成分进行免疫分析或其他相关疾病诊断，所谓血浆是指去掉血细胞的血液，血清是指的去掉纤维蛋白原以及某些凝血因子的血浆，对血浆或血清中的抗原和抗

体进行相关检测,是诊断乙肝、疟疾、艾滋病等感染的关键步骤。本综述将全血间接分析分为两个部分,处理技术和检测技术两个方面进行展开叙述。

2.1 处理技术

血液属于结缔组织,其组成成分非常复杂,在机体内发挥着多方面的功能,它的主要成分包含细胞(红细胞、白细胞和血小板等)与血浆。各类细胞分别起到不同的功能,例如红细胞含有血红蛋白起输送氧气的作用,白细胞主要起机体抗感染的非特异免疫作用,血小板协同凝血因子起到凝结防止大量失血作用。血浆中又富含营养物质,代谢产物以及不同种类的蛋白质成分,例如凝血因子用于凝结产生纤维凝块的纤维蛋白原成分等。血液的复杂成分导致对其的整体分析有阻碍作用,在临床或者免疫方面,从全血中提取部分有用信息是诊断疾病更有效的方式,另外在检测过程中也发现,使用全血进行部分疾病的诊断,红细胞等因素会严重影响测量的准确性。因此,在大多数常规检测,疾病预防、医疗诊断、康复治疗过程中,采取的血样都需要经过一定的技术处理。本综述将处理技术简要分为四种技术进行叙述,分别是膜过滤^[47-53]、特殊结构过滤^[54-55]、离心^[56-57]以及裂解液^[58-60]方式。

2.1.1 膜过滤

血液的过滤有助于更好地分析内部成分,在血

液分析中,血细胞的存在往往会影响检测的结果,不管是比色法还是光学法,因为血细胞是血液的主要成分,对于吸光以及视线传达都产生影响,从而导致测量结果存在误差。膜作为一种较为便捷的过滤方式被研究人员广泛应用于全血分离的试验中,对膜孔大小的参数设计能够很好地筛选大小不一的细胞,从而达到分离的目的。本综述根据膜过滤的受力形式,将其分为主动式过滤和被动式过滤。

a. 主动式膜过滤

主动式膜过滤,定义为依靠血液重力驱动,自主分离达到过滤效果,也可以称为重力过滤,是一种比较常见的方式。Osemwengie等^[61]提出一种利用新型重力驱动的血浆分离装置,基于错流微滤技术,有效地将全血分离成血浆和富含血小板的红细胞,回收率均高达80%以上。Morita等^[62]提出依靠重力作用进行自由落体运动来过滤全血,对膜的直径控制在8~10 μm以达到筛选目的,可以达到15%的分离率提取CTC模型。众所周知,单纯控制膜孔的直径达到高效过滤效果是不够完善的,过滤器往往会因为个别体型较大细胞或细胞堆积引起堵塞问题。Zhao等^[63]为克服这一挑战,提出新的高选择性、友好性、高效的超级过滤器(图5),在过滤过程中选择性的改善抗体修饰的微孔壁与细胞的接触面积,达到高效和选择性捕获CTC。

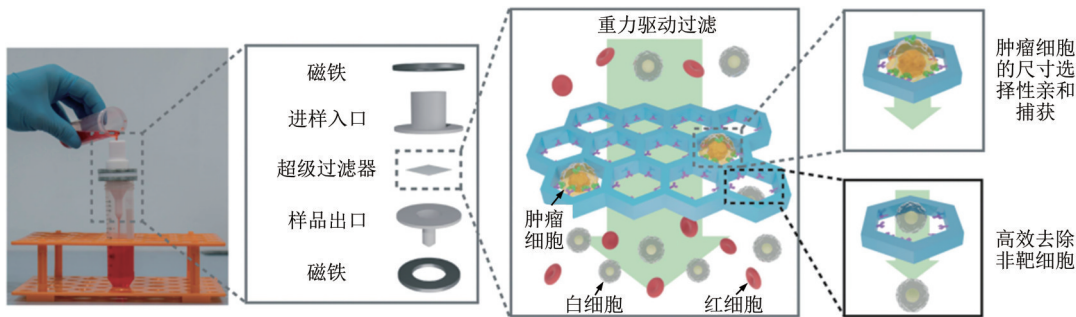


Fig. 5 Diagram of active super filter for affinity capture of tumor cells in complex body fluids^[63]
图5 主动式超级过滤器用于复杂体液中亲和捕获肿瘤细胞示意图^[63]

b. 被动式膜过滤

被动式膜过滤,定义为血液受外力驱动,被动分离达到过滤效果。以往的研究都是利用简单的膜孔过滤,分离的效果并不是特别好,主动式过滤往往会因为堵塞又不能快速疏通,不能连续性工作,无法达到高效率回收和精确检测的目的。被动式过

滤采用新型的外驱动力,能有效解决上述问题,Gonzalez-Suarez等^[64]设计一种主动混合功能的系统(图6a),用于快速检测微量全血中的葡萄糖,基于膜孔结构,采用毛细力输送以及正负气压分离进行血液的过滤。随着过滤膜以及材料改性的快速发展,纸基式检测装置迅速发展,Gao等^[65]基于

功能性的过滤膜组件,实现了血浆的分离以及蛋白质检测(图6b)。Xu等^[66]、Wang等^[67]以及Komatsu等^[68]利用血液分离垫、吸收垫与NC膜组成实现了血浆的分离,组装装置依靠毛细力驱动,成功在全血中分别检测了两种肝胆疾病相关标志

物、螺旋旋毛虫以及锂离子含量。相较于主动式膜过滤,被动式膜过滤因操作简单、成本低廉以及耗时短等优势在床旁检测或者早期自我检测方面被广泛采用,随着微流控的快速发展,微流控纸基分析设备在全血分析也将全面普及。

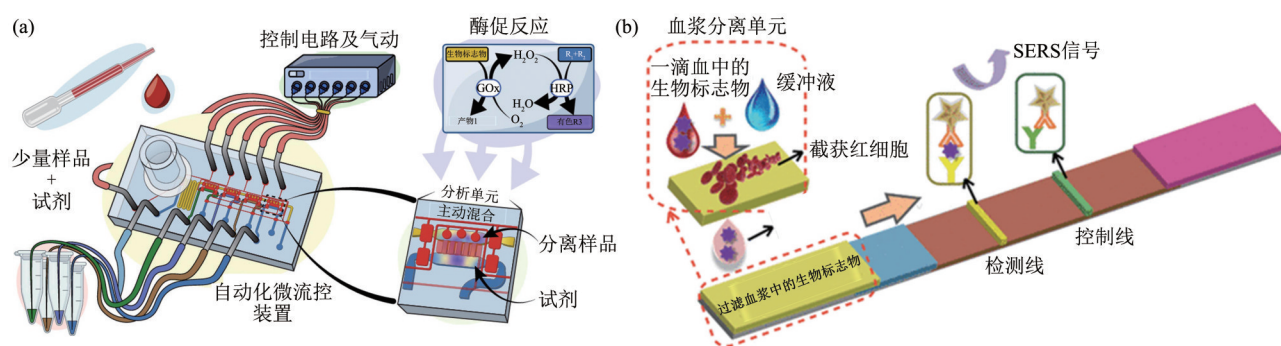


Fig. 6 Passive membrane filtration

图6 被动式膜过滤

(a) 用于血浆分离和生物标志物分析的自动微流体装置^[64]; (b) 纸基侧流条(PLFS)功能化的滤膜组件^[65]。

2.1.2 特殊结构过滤

基于传统过滤膜的想法,研究人员在特殊结构与流体技术相结合方面,做了不少的研究。过滤膜一直是一种静态的结构,其形状大小设计取决于不同种类细胞的固定属性,即使是外力驱动也会存在难过滤、阻力大等问题。如何克服静态膜带来的问题,实现高效高通量过滤全血是一个重要的课题,Fukuyama等^[69]提出一种机械结构和流体技术相结合微过滤器(图7),根据流体的流速和压力动态改变机械结构过滤孔的大小,实现全血中的癌细胞

检测。新式的动态检测在一定程度上有利于血液的快速流动及分离,未来智能化与特殊结构相结合,对细胞的快速筛选有着重要的意义。

2.1.3 离心

离心是血液分离的主要手段之一,离心技术随着科技的发展日新月异,本综述中将离心分为两种形式,分别是分布式离心和集成式离心(图8)。所谓的分布式离心,是基于传统离心机,利用物体高速旋转,使得离心管体中的物质之间因密度、形状或大小差异受到不同离心力,达到浓缩或是与其他成分分离等目的,这种高过滤效果的传统离心方式被广泛应用于生物学、医学等领域。在目前的医院中,临床化学和临床免疫大都是依靠离心机器对血液进行前期的处理,提取血液中的血清进行筛查。这种分布式离心的方式,操作复杂,且过程繁琐,耗费较长的时间,在偏远或医疗条件匮乏的地区,大型的离心设备更加无法得到很好地应用。集成式离心的产生,有效地解决成本高和测试时间长等问题,所谓的集成式离心是将离心技术与微流控技术相结合,制成便携式、小型化装置。Yang等^[70]基于离心微流体平台,有效地从全血中提出纯化的血浆;Zhou等^[71]采用微流体盒,通过离心的方式对全血中的金黄色葡萄球菌进行检测;Kim等^[72]同样基于离心微流体设备,成功提取了高纯度(>99%)的血小板。微流体技术的发展给传统血液

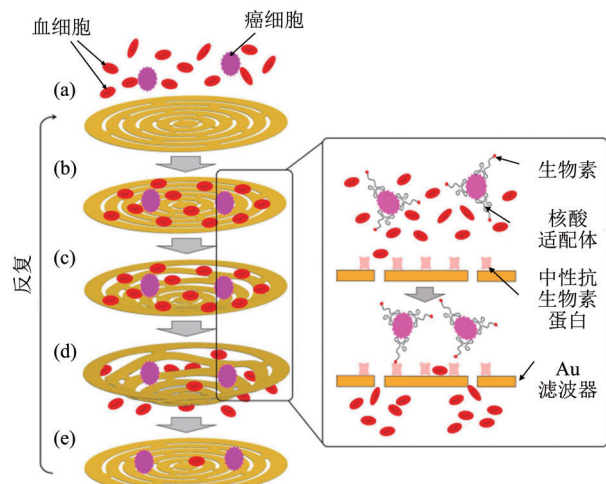


Fig. 7 Dynamic deformable microfilter schematic^[69]

图7 动态可变形微过滤器示意图^[69]

离心处理带来了较大的冲击,但是目前集成式离心技术还不够成熟,小型化的装置有赖于精巧的内部结构,例如虹吸阀,如何控制血液离心再到提取都

是需要经过严密的设计,包括小型化的各项技术融合同样是瓶颈,真正智能化、便携化还有赖于各项技术的不断发展。

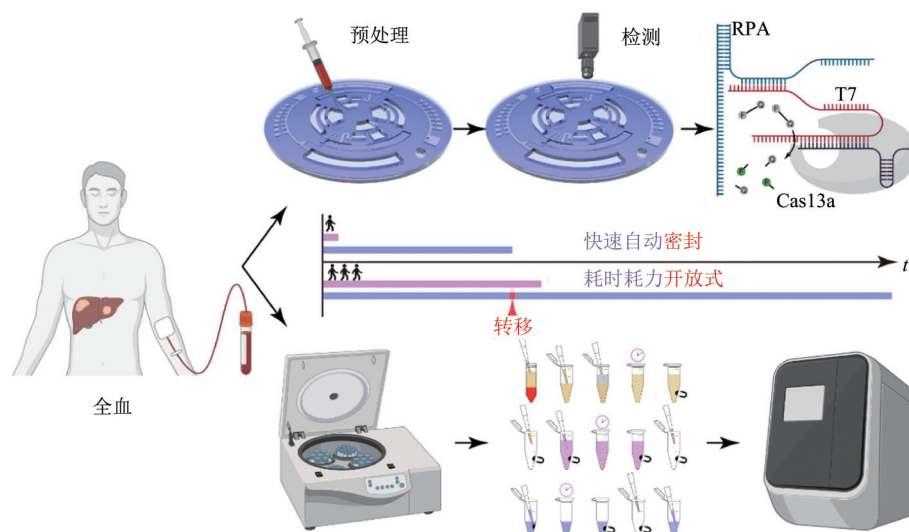


Fig. 8 Centrifugal microfluidic chip and traditional centrifuge process^[56]

图8 离心微流控芯片以及传统离心机工艺流程^[56]

2.1.4 裂解液

在特定细胞的分离提纯或者核酸提取实验中,往往会添加裂解液,以消除多余成分对检测的影响。裂解液一般采用的是化学裂解法和酶裂解法,常规的全血分析中,会使用到红细胞裂解液、白细胞裂解液等,例如蛋白质、核酸分离和提取,红细胞会严重影响纯度,因此添加裂解液,利用其无核特性以及细胞内外离子浓度差异达到膨胀裂解效果。Qiu等^[73]采用红细胞裂解液消除红细胞对光检测的影响,成功从全血中检测和鉴定脓毒症细

菌。Narayana Iyengar等^[58]基于选择性细胞裂解样品制备与高灵敏度光化学反应相结合,在全血样品中检测出脓毒症细菌(图9)。Zhu等^[74]利用红细胞裂解液在全血中提取白细胞,裂解模块可实现94.2%的高效混合。裂解液的使用已经广泛普及,包括各类流式细胞仪器设备中,都集合了各项裂解技术和试剂,以达到快速细胞区分等功能。裂解液的使用增进了全血快速分析的进程,但是化学试剂的使用需要考虑其对细胞活性的影响,严格遵守裂解液操作规范是检测准确的保障。

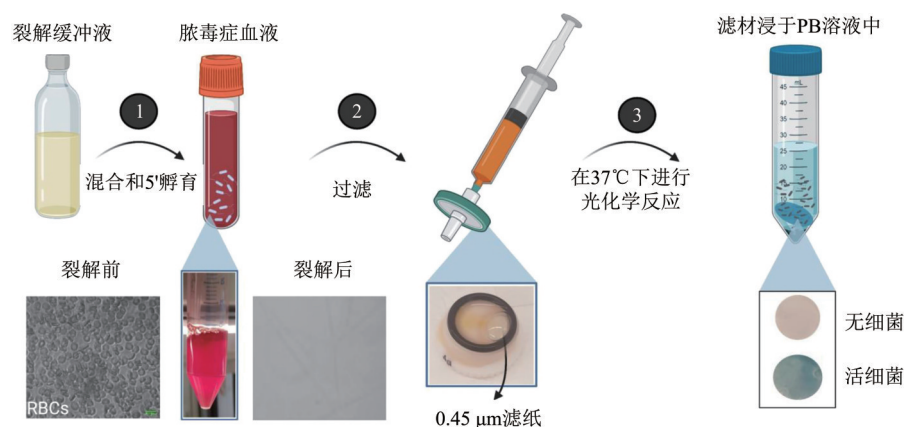


Fig. 9 Working principle of selective isolation and detection of bacteria in whole blood based on lysis buffer^[58]

图9 基于裂解缓冲液于全血中选择性分离和检测细菌的工作原理^[58]

2.2 检测技术

全血间接分析首先通过对血液的预处理或样品制备, 然后通过各类检测技术进行快速的成分分析和疾病诊断。本综述将现有主流的血液检测技术分点罗列并叙述, 分别是胶体金法^[75-76]、光散射和吸收法^[77-79]、电化学分析^[80-82]、表面增强拉曼散射^[83-88]、化学发光法^[89]、荧光法^[90]、表面等离子体共振^[91-92]、石英晶体微天平^[93]。

2.2.1 胶体金法

胶体金是氯金酸通过还原剂还原后聚合而成的金颗粒, 并通过静电作用形成胶体状态, 是免疫电镜技术中比较适用的免疫标记物。胶体金法可分为免疫胶体金电镜染色法以及胶体金免疫层析法。免疫胶体金电镜染色法是一种综合免疫技术、电镜技术以及胶体金染色技术的检测手段, 在碱性环境下, 胶体金与抗体吸附, 当标记后的抗体与抗原发生反应后, 会呈现樱红色从而达到特异性检测目的。免疫胶体金层析法是一种综合免疫技术、试纸条层析技术、胶体金染色技术的检测技术, 将血液样本滴在样品垫, 经膜过滤后, 流经胶体金标记抗

原/抗体的反应区, 根据显色反应判断患者是否感染, 其主要过程如图10所示。Ren等^[94]开发了一种快速检测试剂盒, 采用免疫胶体金层析法检测了心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)在血浆和全血中的含量, 其敏感性为1 μg/L, 特异性、稳定性均良好。Jiang等^[95]基于免疫胶体金层析法, 在全血样本中快速检测西罗莫司, 可见检测限和截止限分别为20 μg/L和100 μg/L。目前全世界仍在持续经历的新冠疫情, 对于新冠病毒的检测手段也层出不穷, 标准核酸诊断方式的假阴性率不可否定, Pan等^[96]提出基于免疫胶体金层析法诊断由严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)感染造成的新型冠状病毒感染(COVID-19), 敏感性在早中晚期分别达到11.1%、92.9%以及86.8%, 用以一种临床应用的补充方法。胶体金法通过显色反应判断患者是否阳性, 操作方便快捷, 用肉眼即可判断, 但是胶体金法普遍是定性或者半定量的检测方式, 在早期筛查过程中应用广泛, 更精确地检测仍需高精度的检测技术, 如酶联免疫等。

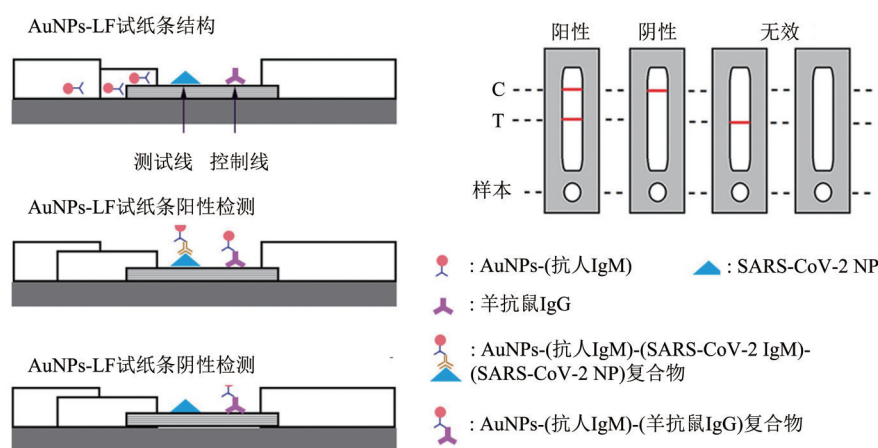


Fig. 10 Rapid detection of IgM antibodies against SARS-CoV-2 virus by cross-flow assay based on colloidal gold nanoparticles^[75]

图10 基于胶体金纳米颗粒的横流测定法快速检测针对SARS-CoV-2病毒的IgM抗体^[75]

2.2.2 光散射和吸收法

光散射和吸收法是一种通过生物介质固有光吸收以及散射特性形成的光学技术(图11)。目前比较熟知的红外光谱法(红外吸收光谱法)、免疫比浊法都是医学血液分析领域使用的方法。红外光谱法指的是将一定频率的红外光照射分子产生共振, 吸收红外光, 产生振动跃迁的现象。Rassel等^[97]

发现, 中红外辐射在葡萄糖的分子指纹区域具有强烈的吸收峰, 利用量子级联激光器产生中红外光源, 成功检测了糖尿病患者全血中的血糖浓度。Dos Santos Cardoso等^[98]通过波长940 nm和805 nm的红外光分析和实现了无创血糖监测仪。免疫比浊法又可以细分为免疫透射比浊法、免疫散射比浊法以及免疫乳胶比浊法, 一般用于抗原抗体

结合动态测定,一定波长的光对溶液进行照射时,光吸收程度或光的散射(偏转角度)与复合物量大小以及含量多少密切相关,这种现象统一称为免疫比浊法。Zeng等^[99]利用比浊法研究了不同凝血条件下的纤维蛋白凝块形成,Pieters等^[100]解释和验证了血浆凝块的浊度分析。光学检测方法是目前医

学领域较为主流的检测方式,因其无创、便携、操作简单等优势,在免疫分析、临床诊断得到广泛应用。血液的复杂性在一定程度上限制了光学技术的伸展,目前成熟的光学技术普遍采用去除血细胞的方式,未来攻克全血直接分析检测将是光学检测的重大突破。

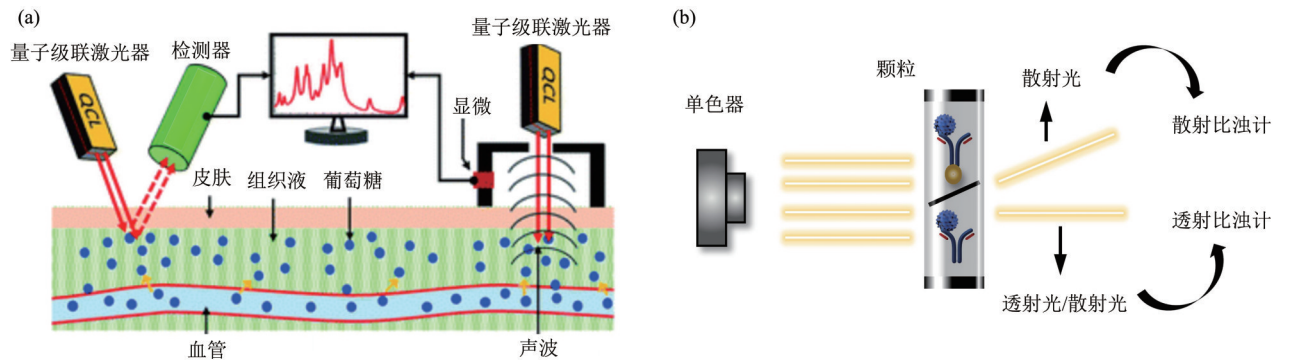


Fig. 11 Light scattering and absorption method
图11 光散射和吸收法

(a) 中红外光谱检测血糖浓度^[97]; (b) 免疫比浊法原理。

2.2.3 电化学分析

电化学分析是一个比较广泛的研究领域,涉及工业能源、化学分析等领域。在医学诊断上,电化学分析方法在疾病免疫测定方面起着重要作用。电化学分析检测原理是将检测物的物理/化学信号转化为检测电极的电信号(图12)。在分析化学领域,电化学分析主要分为电流式、阻抗式以及电位

式,在各类免疫应用(免疫层析法、酶联免疫吸附等)中作为主要的检测手段。例如,Ahmadi等^[101]描述了一种基于纤维素纳米纤维CNs的新型电化学纸基分析设备,在葡萄糖氧化酶成功固定在CN层,采用电化学分析方法(循环伏安法CV,电化学阻抗谱EIS)成功检测全血样品中的葡萄糖浓度,检测限为0.1 mmol/L。Kim等^[102]制造一种红

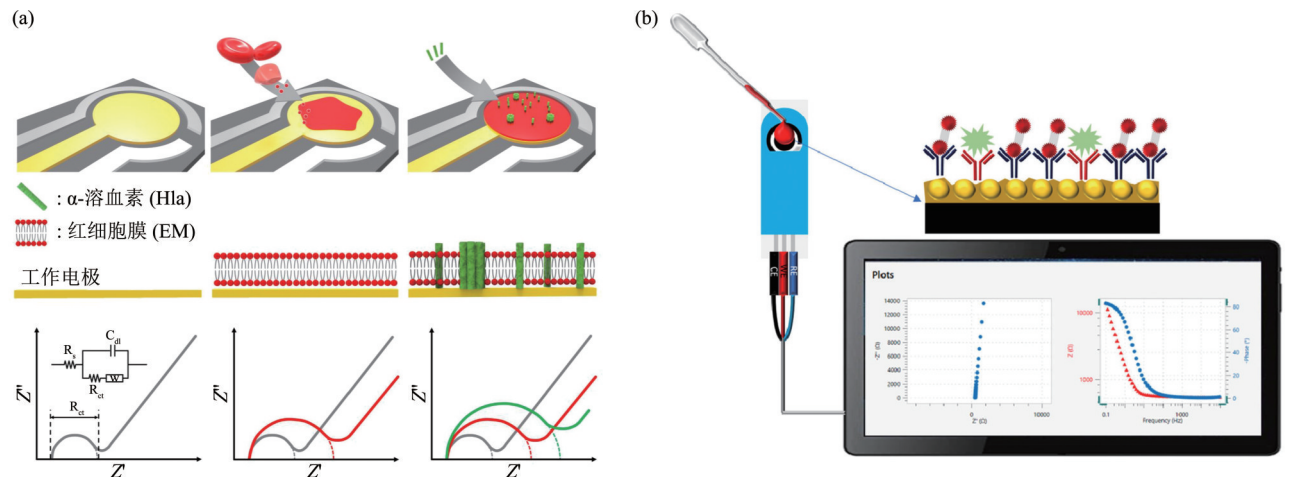


Fig. 12 Electrochemical analysis
图12 电化学分析

(a) 基于 α 溶血素检测的红细胞伪装生物传感器^[102]; (b) 基于抗原抗体特异性吸附的免疫生物传感器^[82]。

细胞伪装的生物传感器, 采用电化学分析方法对于全血样品中细菌分泌的 α 溶血素进行检测, 检测限为 $1.9 \mu\text{g/L}$, 动态范围为 $0.000 \sim 1 \text{ g/L}$ 。上述研究侧重于检测物质的变化, 例如抗原抗体结合, 引起的电极表面电荷转移速率的改变。Li等^[103]根据EIS在区分细胞甚至蛋白质信息方面的优势, 提出利用EIS进行血栓的定量测量和评估。Wen等^[104]基于EIS定量研究了红细胞聚集对脉动流动过程中正常血液介电特性(非凝血)的影响。这种研究侧重于细胞/组织的电学特性, 根据待检测样品的成分变化或状态改变, 引起整体检测区域的电特性转变, 是一种区别于传统EIS检测的研究方法。综上所述, 电化学分析在医学领域, 尤其是血液分析中有着重要的地位, 对于血液状态, 血液中的细菌、抗体、抗原等生物物质检测有着较高的灵敏度, 对生物个体无创、无辐射, 是一种比较常规、热门的检测技术。

2.2.4 表面增强拉曼散射

拉曼散射, 是1928年由印度物理学家拉曼发现, 他在实验中观察到单色的入射光投射到物质中产生散射, 发现散射光中存在与入射频率不同的散射光, 其强度大约入射光的 $10^{-6} \sim 10^{-9}$ 。随着研究的深入, 研究者发现, 在少数基体表面(金、银、铜或半导体), 吸附物质后会增强拉曼散射强度, 并将这种现象称为表面增强拉曼散射(surface

enhancement of Raman scattering, SERS)(图13)。例如, 金属电极表面修饰抗原/抗体、金纳米颗粒结合抗体/抗原等方面均可利用SERS技术进行高灵敏检测, 并且SERS采用光谱检测方式, 具有无创、无标记等优势, 逐渐成为化学、生物医学分析、免疫测定的主要技术之一。Lei等^[105]基于SERS和荧光双模式法, 对金纳米颗粒修饰的聚苯乙烯微球作为等离激元偶联微腔适配子, 分别以 3 cfu/ml 和 2 cfu/ml 的超灵敏检测限度实现了全血中金黄色葡萄球菌以及大肠杆菌的检测。Sun等^[106]开发了一种通用的SERS水凝胶丸, 当血糖出现时, 发生银镜反应, $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{OH}]$ 分子可由葡萄糖醛基还原生成AgNPs, 原位产生的AgNPs可沉积在AuNPs表面, 可显著增加先前负载在AuNPs上的4-MBN的SERS信号, 实现葡萄糖的定量测量, 最低检测限为 $10 \mu\text{mol/L}$ 。Zhu等^[107]提出了一种基于疏水组装纳米梭子(HANA)的SERS吸附传感器, 在全血样品中以高灵敏度和良好的重现性(相对标准偏差(RSD) $<7\%$)分析了人表皮生长因子受体和3种外泌体蛋白。SERS技术在不同领域得到了广泛应用, 但是对于SERS技术的使用限制还存在很大挑战, 例如受制于极个别材料的SERS效应, 材料表面粗糙度处理以及SERS产生机理理论等问题, 这些将是未来SERS得到更广阔的应用领域亟待解决的难题。

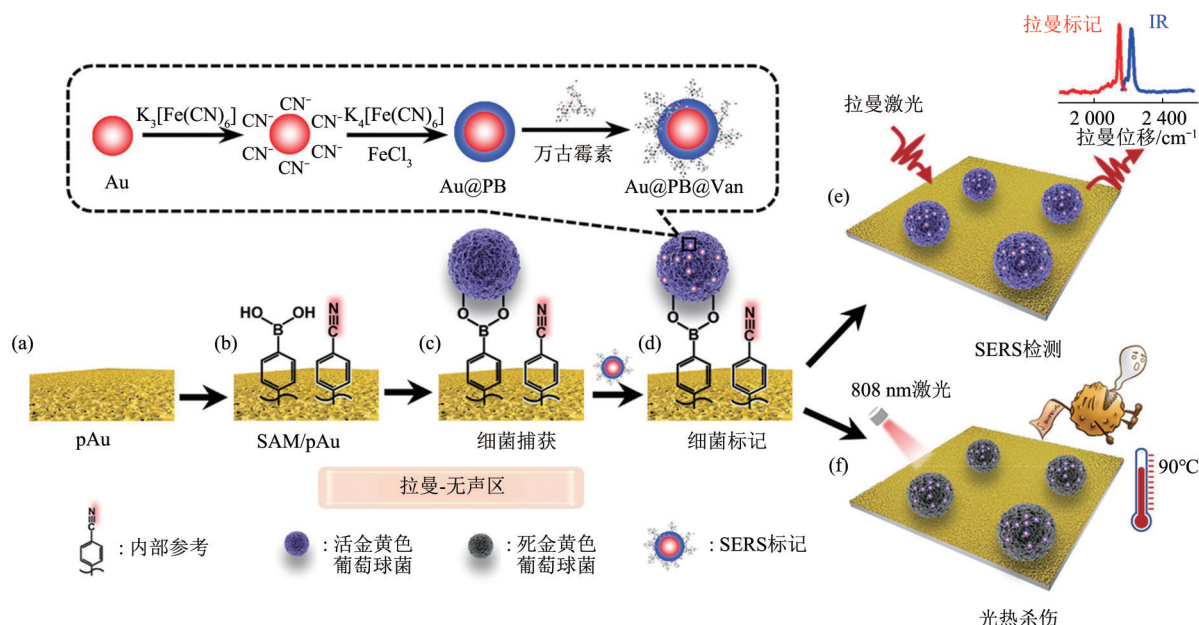


Fig. 13 Working principle of multifunctional SERS platform^[86]

图13 多功能表面增强拉曼散射平台的工作原理^[86]

2.2.5 化学发光法

化学发光法 (chemiluminescence, CL) 是光谱分析中的一类, 主要依据化学检测体系中发光强度与检测物质浓度之前的量化关系。化学发光一般指某种物质分子吸收化学能后产生的光辐射, 通过检测光辐射强度表征物质分子含量, 一般包含化学激发和发光两个步骤 (图 14)。研究领域多数为氧化还原反应, 常常依靠几种高效发光剂, 例如鲁米诺及其衍生物, 光泽精、吖啶酯等。Zhao 等^[108]采用吖啶酯发光剂, 报道了一种 HbA1c/Hb 检测的新型时间分辨率化学发光测定方法, 通过区分两种化学发光峰值即可确定 HbA1c/Hb 浓度。Saito 等^[109]基于鲁米诺化学发光反应, 检测犯罪现场的痕量血液, 成功区分全血产生的化学发光和六氰基

高铁酸钾 (III) 引起的化学发光。除去传统的发光试剂, 研究人员发现, 一些荧光试剂同样可以用来替代 CL 试剂产生光辐射, Huang 等^[110]根据钙黄绿素化学发光现象, 提出 calcein-H₂O₂-Au@BSANCs-Cu²⁺ 体系用于全血种谷胱甘肽 (GSH) 的检测, 其检测限达到 0.29 mmol/L。CL 是一种功能强大的检测技术, 具有高灵敏度, 低噪声比信号以及简易设备等优势, 促进了其在生物工程、临床诊断 (肿瘤标志物、感染性疾病、过敏反应以及治疗药物浓度监测等)、分子生物学环境监测等领域的广泛应用, 但是 CL 在选择性较差, 发射强度取决于外部因素, 对于设备光线环境要求比较严格。

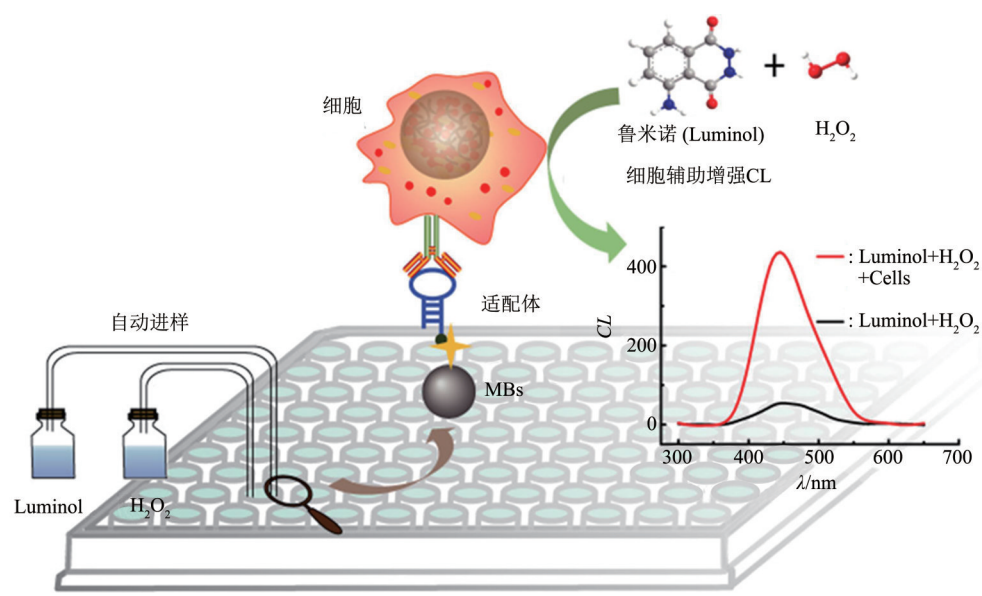


Fig. 14 Strategy of cell-assisted enhanced CL^[89]
图14 细胞辅助增强型化学发光策略^[89]

2.2.6 荧光法

所谓的荧光是指物体经过短波长的光照射后辐射出较长波长的光。荧光法, 是根据每一种物质的荧光效应存在特定吸收光的波长和发射的荧光波, 利用这一特性以达到鉴定不同物质的目的。在医学诊断中, 一般将小的、化学稳定性好的荧光基团 (荧光素) 作为抗体和其他生物分子的标记物, 将其修饰于蛋白质、核酸和其他生物分子上, 再通过荧光显微镜、流式细胞仪或其他荧光检测设备进行检测。目前比较流行的聚合酶链式反应 (PCR) 技术结合荧光技术可以实现实时荧光标记物定量检

测。如 Chinnappan 等^[111]提出使用荧光置换测定法可以检测少数乳腺癌 microRNA 序列, 最低下限可低至 1 pmol/L 水平的 miRNA。Xu 等^[112]利用全血 CTC 中催化发夹组件系统与细胞内 microRNA-21 相互杂交诱导荧光基团 (ATT0488) 产生强烈的荧光现象, 实现了全血中 CTC 的原位检测 (图 15)。荧光法应用广泛, 具有良好的选择性, 能够避免不乏荧光的成分干扰, 但是背景荧光或者说猝灭效应等干扰对于样品的测定影响程度需要列入主要考虑的范畴。

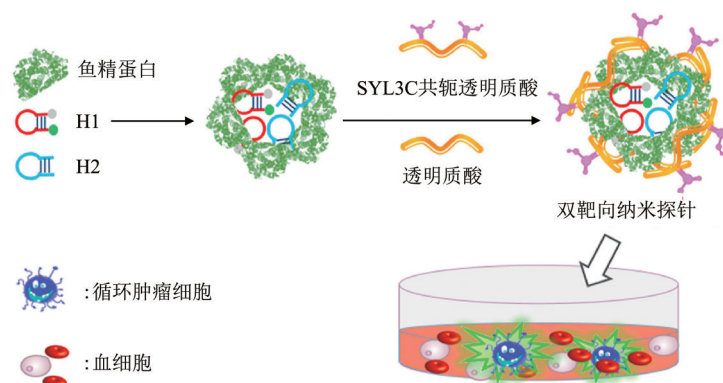


Fig. 15 Working principle of CTC detection in whole blood based on fluorescence^[112]

图15 基于荧光法的全血循环肿瘤细胞检测工作原理^[112]

2.2.7 表面等离子体共振

在1902年Wood的光学实验发现表面等离子体共振 (surface plasmon resonance, SPR) 现象, 经过近70余年的沉淀积累, SPR在传感器方面才得到了初步应用 (图16)。SPR基于消逝波以及等离子波发生共振原理, 检测发射光强度大小判断生物分子之前相互作用的信号, 这种方法具有无标记、无损伤等优势, 广泛应用于研究结合特异性、抗体选择、小分子间相互作用等。Qu等^[113]基于开发的FO-SPR设备, 测试了一种无需样品预处理或稀

释的全血样本检测阴性样本的功能, 证实了其可行性。Kotlarek等^[114]提出基于SPR的3种凝血酶适配体, 用于检测分析10%血液种的凝血酶浓度。Heidarzadeh等^[115]采用不同形状的银等离子体纳米颗粒来检测人体血液种的血红蛋白浓度, 根据等离子体共振产生光的折射率来量化实际浓度。在复杂的血液环境中, 尤其是混浊甚至不透明的样本中, SPR传感技术发挥了其显著的优势, 但是与传统的免疫检测手段相比, 其在稳定性、检测效率、检测成本方面还有待提升。

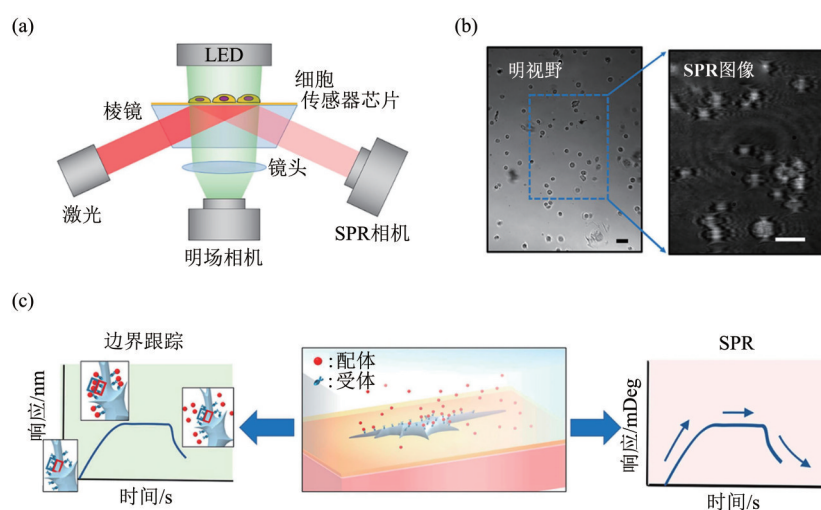


Fig. 16 Quantitative characterization of whole-cell protein binding based on SPR imaging^[91]

图16 基于表面等离子体共振成像的全细胞蛋白质结合定量表征示意图^[91]

2.2.8 石英晶体微天平

石英晶体微天平 (quartz crystal microbalance, QCM), 发展始于20世纪60年代初期, 是一种非

常灵敏的检测设备, 该技术原理是基于石英晶体的压电效应, 所谓的压电效应是指在石英晶体表面施加机械外力, 内部会产生极化现象, 在相对表面出

现正负相反的电荷形成电场 (图 17)。ŞahİN Sadik 等^[116]提出一种使用 QCM 的传感器系统, 在全血中提取血清进行血糖水平检测, QCM 传感器表现出较高的检测精度, 平均误差为 3.25%。Atar 等^[117]开发出一种新型 QCM 免疫传感器, 能够应用于高选择性的 IL-6 游离血浆样品, 最低检测度

为 3.33 pg/L。QCM 是一种无标记、高灵敏度、低成本的设备, 在医学免疫质量分析上具有很大的潜力。但是如何将检测物均匀地涂覆在检测表面上, 实现准确的结果和可重复性是 QCM 发展面临的最大挑战之一。

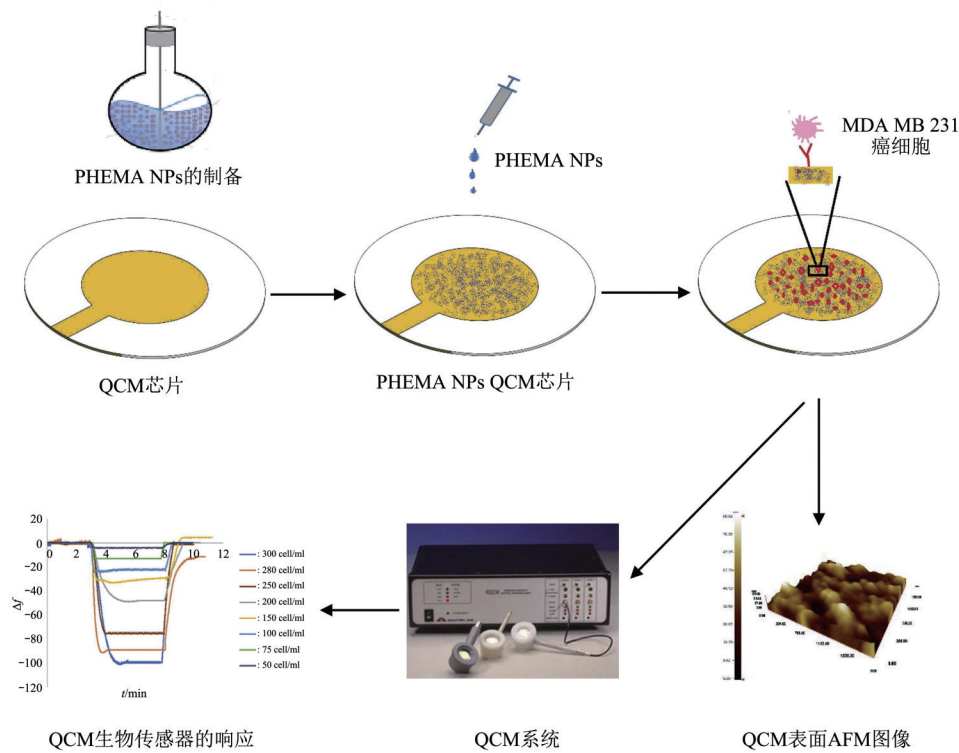


Fig. 17 Working principle of QCM^[93]
图17 石英晶体微天平工作原理^[93]

PHEMA NPs: 聚(2-羟乙基甲基丙烯酸酯)纳米颗粒 (poly(2-hydroxyethyl methacrylate) nanoparticles); AFM: 原子力显微镜 (atomic force microscope)。

3 总结与展望

很多人体内部的疾病变化是难以通过肉眼去观察发现, 全血分析是前期疾病筛查的重要手段之一, 医生可以通过患者血液的成分变化和经验来推测可能会预发的疾病, 也可以通过精确的检测技术来判断是否患有某种疾病。目前全血分析有两种方式, 全血直接分析以及全血间接分析, 全血直接分析技术适用于血液状态 (黏度和凝聚等) 以及常规细胞 (红细胞、白细胞、血小板和淋巴细胞等) 计数监测, 全血间接分析普遍应用于微量成分 (细菌、病毒和病变细胞等) 筛查。

现阶段, 除去常规血液成分分析外, 全血分析

在多数疾病筛查项目中, 由于送检过程久、样本排队费时长、样本前期处理复杂、报告反馈时间长等缺陷导致检测流程过长, 无法做到疾病的及时监测, 可能贻误患者治疗时间。如何实现现场采样即刻分析、快速得到检验结果, 形成检测方法简单易行、设备便携、无需固定场所、检测耗时短等优势, 达到“早检测, 早发现, 早治疗”的目的, 是全血检测技术研究中一个亟待发展的领域。

根据目前的研究现状, 本综述对于全血分析现存问题以及相应的未来发展有如下评述:

a. 研制集成化、便携化装置。疾病的前期快速筛查对生命健康保障尤为重要, 基于全血间接分析技术发展趋势, 处理技术以及检测技术在单方面已

经比较完善,但是多步骤操作过程(分布式)带来的人为或系统误差在一定程度上影响检测的精确性,如离心过后的血液分层提取很大程度上受制于人主观意识的影响,导致提取的试样存在纯度不足问题,亟待研究集成化装置;集成化、便携化装置的普及,能够大幅度降低患者连接医院的消费成本以及时间成本,以预防为前提,自测自检,提高就诊效率,同样为有限的医疗资源得到充分的利用,在保障个人的生命健康,同时也节省大量费用支出,装置的集成化、便携化已成为一个必然趋势。至于集成化装置如何做到联合,设计便携微型尺寸又能集成分离效率结构,高灵敏度、高响应时间检测技术,例如研制精密的机械结构用于血液前期预处理,结合生物与医学方面的免疫、临床等知识,采用生物相容性较好的材料,搭配互联通信技术,实现自我医疗诊断,这有待于机械、生物、医学、材料、计算机等领域共同推进。

b. 研制智能化装置。全血直接分析技术目前应用范围较为局限,到目前为止,全血直接分析技术在很大程度上仍受制于血液成分干扰,例如血细胞在血液含量较多,发生非凝血聚集或其他状态改变都会影响检测精度,前期的研究表明^[45],血细胞的沉降会影响分析结果,需要对其进行定量表征以排除影响;又如前期对血液温度规律的研究表明^[118],血液温度变化与阻抗特性有良好的线性关系,这就说明对于实时环境温度的补偿将利于提高检测精度。在未来的血液分析方面,结合补偿技术、智能算法^[119-120]排除物质成分或环境因素等影响,对存在于血液中的微量成分进行快速分析提供有利支撑,将会对全血直接分析具有巨大的推进作用。

c. 研制低成本装置。分离或过滤系统需要离心机,这在便携化装置中难以实现,纸片离心机的出现^[121],在满足离心效果的前提下,实现了快速全血分离,操作方便且制作成本低廉,为后续推进低成本装置提供了新思路。检测系统如需要显微镜、泵、光源以及电源将很难应用于便携式设备中,上述微型化的检测系统又会加重成本,不适用于经济不发达、医疗措施不完善的地区,而电化学分析检测系统不同于光学系统,省去了部分硬件需求,有效降低成本,更适用于集成化装置,例如基于电化学分析的诸多免疫传感器。近年来,将样品预处理、分离、检测等操作单元集成,已经在生命科学领域快速发展,主要代表是微流控芯片,但是微流

控芯片综合了各项技术,包括光刻、控制芯片等等,研制成本较高,在商业领域还有很长一段路要探索。低成本装置的未来发展,从微流控芯片的角度出发,一方面,芯片设计如能达到模块化且其加工技术较为成熟将有更多的应用平台,大量研究精力和资金投入随之带来的相关配套产业将有利于成本的把控;另一方面,进一步研究探索新型加工技术或低成本平替材料,同样能够提高其应用价值。

参 考 文 献

- [1] 高梅,张凌峰,付永航.不同采血方法进行血常规检验在临床中的价值比较.中国医学创新,2014,11(24):46-48
Gao M, Zhang L F, Fu Y H. Medical Innovations of China, 2014, 11(24):46-48
- [2] 韩秋青,王爱玲,韩风杰.不同采血方法进行血常规检验在临床应用中的研究.当代医学,2010,16(26):85-86
Han Q Q, Wang A L, Han F J. Contemporary Medicine, 2010, 16(26):85-86
- [3] Antwi-Baffour S, Kyeremeh R, Annison L. Severity of anaemia has corresponding effects on coagulation parameters of sickle cell disease patients. Diseases, 2019, 7(4): 59
- [4] Dixit S, Jha T, Gupta R, *et al.* Practical approach to the interpretation of complete blood count reports and histograms. Indian Pediatrics, 2022, 59(6):485-491
- [5] Ejigu S, Haile D, Solomon Y. Effect of malaria and HIV/AIDS co-infection on red blood cell indices and its relation with the CD4 level of patients on HAART in Bench Sheko Zone, Southwest Ethiopia. PLoS One, 2022, 17(3): e0263865
- [6] Peng Z, Xiang W, Zhou J, *et al.* Hemolytic specimens in complete blood cell count: red cell parameters could be revised by plasma free hemoglobin. J Clin Lab Anal, 2020, 34(6): e23218
- [7] Delesderrier E, Cople-Rodrigues C S, Omena J, *et al.* Selenium status and hemolysis in sickle cell disease patients. Nutrients, 2019, 11(9): 2211
- [8] Latifi A, Ghanizadeh-Vesali S, Hosseini S, *et al.* Clinical significance of peripheral blood CD11b(+)/CD33(+)/HLA-DR(-) myeloid cells in infants and children with infectious diseases and increased CRP. Med J Islam Repub Iran, 2020, 34: 92
- [9] Kochan K, Bedolla D E, Perez-Guaita D, *et al.* Infrared spectroscopy of blood. Appl Spectrosc, 2021, 75(6): 611-646
- [10] Multari R A, Cremers D A, Nelson A, *et al.* The use of laser-based diagnostics for the rapid identification of infectious agents in human blood. J Appl Microbiol, 2019, 126(5): 1606-1617
- [11] Wang H, Cong F, Guan J, *et al.* Establishment of xMAP for the simultaneous detection of antibodies to Newcastle disease virus and avian influenza virus. Poult Sci, 2019, 98(3): 1494-1499
- [12] Cui X, Wei W, Qin X, *et al.* Comparison of routine hematological indicators of liver and kidney function, blood count and lipid profile in healthy people and stroke patients. PeerJ, 2020, 8: e8545
- [13] Wang C, Liu Y, Zhang X, *et al.* Phenotypic and genotypic analysis

- of children with methylmalonic academia: a single-center study in China and a recent literature review. *Clin Chim Acta*, 2021, **522**: 14-22
- [14] Chae J, Kim M, Lee J H, *et al.* Body fat composition enhances the predictive ability of changes in white blood cell levels associated with the risk of chronic disease development. *J Immunol*, 2021, **207**(2): 389-397
- [15] Liu Y, Lu X, Li X, *et al.* High-fat diet triggers obesity-related early infiltration of macrophages into adipose tissue and transient reduction of blood monocyte count. *Mol Immunol*, 2020, **117**: 139-146
- [16] Liu J, Shen P, Ma X, *et al.* White blood cell count and the incidence of hyperuricemia: insights from a community-based study. *Front Med*, 2019, **13**(6): 741-746
- [17] Richards K H, Monk R, Renko K, *et al.* A combined LC-MS/MS and LC-MS(3) multi-method for the quantification of iodothyronines in human blood serum. *Anal Bioanal Chem*, 2019, **411**(21): 5605-5616
- [18] Szczepanek-Parulska E, Adamska M, Korda O, *et al.* Changes in complete blood count parameters influenced by endocrine disorders. *Endokrynol Pol*, 2021, **72**(3): 261-270
- [19] Soffe R, Nock V, Chase J G. Towards point-of-care insulin detection. *ACS Sens*, 2019, **4**(1): 3-19
- [20] Paul G. Activated coagulation time of whole blood. *JAMA*, 1965, **196**(5): 436-440
- [21] Oshima S, Sankai Y. Evaluation of optical propagation in blood for noninvasive detection of prethrombus blood condition. *ASAIO J*, 2009, **55**(6): 550-555
- [22] Otaki Y, Ebana Y, Yoshikawa S, *et al.* Dielectric permittivity change detects the process of blood coagulation: comparative study of dielectric coagulometry with rotational thromboelastometry. *Thromb Res*, 2016, **145**: 3-11
- [23] Sweeney R E, Nguyen V, Alouidor B, *et al.* Flow rate and raspberry pi-based paper microfluidic blood coagulation assay device. *IEEE Sens J*, 2019, **19**(13): 4743-4751
- [24] Avendano A, Ferguson J J. Comparison of Hemochron and HemoTec activated coagulation time target values during percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Interv Cardiol*, 1994, **23**(4): 907-910
- [25] 钟振华. 上帝给我们身体的“预言机”——血糖仪的发展史. *中国处方药*, 2009, **3**: 2
Zhong Z H. *Journal of China Prescription Drug*, 2009, **3**: 2
- [26] Wang L, Lu W, Zhu W, *et al.* A photoelectrochemical sensor for highly sensitive detection of glucose based on Au-NiO_{1-x} hybrid nanowires. *Sens Actuators B Chem*, 2020, **304**: e127330
- [27] Yang L, Chen C, Zhang Z, *et al.* Glucose determination by a single 1535 nm pulsed photoacoustic technique: A multiple calibration for the external factors. *J Health Eng*, 2022, **2022**: 9593843
- [28] Alsunaidi B, Althobaiti M, Tamal M, *et al.* A review of non-invasive optical systems for continuous blood glucose monitoring. *Sensors (Basel)*, 2021, **21**(20): 6820
- [29] Zhao S, Guo D, Zhu Q, *et al.* Display of microbial glucose dehydrogenase and cholesterol oxidase on the yeast cell surface for the detection of blood biochemical parameters. *Biosensors (Basel)*, 2020, **11**(1): 13
- [30] Kong F Y, Gu S X, Li W W, *et al.* A paper disk equipped with graphene/polyaniline/Au nanoparticles/glucose oxidase biocomposite modified screen-printed electrode: toward whole blood glucose determination. *Biosens Bioelectron*, 2014, **56**: 77-82
- [31] Lin P H, Sheu S C, Chen C W, *et al.* Wearable hydrogel patch with noninvasive, electrochemical glucose sensor for natural sweat detection. *Talanta*, 2022, **241**: 123187
- [32] Zhang Y J, Chen S, Yu Y L, *et al.* A miniaturized photoacoustic device with laptop readout for point-of-care testing of blood glucose. *Talanta*, 2020, **209**: 120527
- [33] Dai J, Zhang H, Huang C, *et al.* A gel-based separation-free point-of-care device for whole blood glucose detection. *Anal Chem*, 2020, **92**(24): 16122-16129
- [34] Thapa M, Sung R, Heo Y S. A dual electrode biosensor for glucose and lactate measurement in normal and prolonged obese mice using single drop of whole blood. *Biosensors (Basel)*, 2021, **11**(12): 507
- [35] Li X, Deng Q, Liu H, *et al.* A smart preparation strategy for point-of-care cellular counting of trace volumes of human blood. *Anal Bioanal Chem*, 2019, **411**(13): 2767-2780
- [36] Odaka M, Kim H, Girault M, *et al.* Evaluation of imaging biomarkers for identification of single cancer cells in blood. *Jpn J App Phys*, 2015, **54**(6S1): 06FN04
- [37] Zheng X T, Tan Y N. Development of blood-cell-selective fluorescent biodots for lysis-free leukocyte imaging and differential counting in whole blood. *Small*, 2020, **16**(12): e1903328
- [38] Xu P, Yu Y, Li T, *et al.* Near-infrared-driven fluorescent nanomotors for detection of circulating tumor cells in whole blood. *Anal Chim Acta*, 2020, **1129**: 60-68
- [39] Suzuki T, Kaji N, Yasaki H, *et al.* Mechanical low-pass filtering of cells for detection of circulating tumor cells in whole blood. *Anal Chem*, 2020, **92**(3): 2483-2491
- [40] Jundt J W, Mock D. Temporal arteritis with normal erythrocyte sedimentation rates presenting as occipital neuralgia. *Arthritis Rheum*, 1991, **34**(2): 217-219
- [41] 王菊红, 张文艳. 外周血 T-SPOT 试验联合血沉检测对肺结核患者诊断效能的影响. *医药与保健*, 2021, **29**(9): 145-146
Wang J H, Zhang W Y. *Medicine and Health Care*, 2021, **29**(9): 145-146
- [42] 王晶, 王倩, 李远, 等. 两种方法测定红细胞沉降率的比较分析. *国际检验医学杂志*, 2015, **36**(23): 2
Wang J, Wang Q, Li Y, *et al.* *International Journal of Laboratory Medicine*, 2015, **36**(23): 2
- [43] Sonmez C, Dogan O C, Kaymak A O, *et al.* Test-1 analyzer and conventional Westergren method for erythrocyte sedimentation rate: a comparative study between two laboratories. *J Clin Lab Anal*, 2018, **32**(5): e22384

- [44] Westergren A L F. Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis I. *Acta Medica Scandinavica*, 2009, **54**(1): 247-282
- [45] Li J P, Brahim E M S, Wen J M, *et al.* Quantitative measurement of the erythrocyte sedimentation based on electrical impedance spectroscopy with modified HANAI theory and the multi-frequency parameter X_c . *IEEE Sens J*, 2021, **21**(23): 27084-27092
- [46] Isiksacan Z, Erel O, Elbuen C. A portable microfluidic system for rapid measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Lab Chip*, 2016, **16**(24): 4682-4690
- [47] Zhang H, Chen Z, Dai J, *et al.* A low-cost mobile platform for whole blood glucose monitoring using colorimetric method. *Microchem J*, 2021, **162**: e105814
- [48] Wang M, Lin J, Gong J, *et al.* Rapid and sensitive determination of doxorubicin in human whole blood by vertically-ordered mesoporous silica film modified electrochemically pretreated glassy carbon electrodes. *RSC Adv*, 2021, **11**(15): 9021-9028
- [49] Wu M, Lai Q, Ju Q, *et al.* Paper-based fluorogenic devices for *in vitro* diagnostics. *Biosens Bioelectron*, 2018, **102**: 256-266
- [50] Sandbhor Gaikwad P, Banerjee R. Advances in point-of-care diagnostic devices in cancers. *Analyst*, 2018, **143**(6): 1326-1348
- [51] Raj N, Breedveld V, Hess D W. Semi-enclosed microfluidic device on glass-fiber membrane with enhanced signal quality for colorimetric analyte detection in whole blood. *Microfluid Nanofluidics*, 2021, **25**(6): 47
- [52] Trick A Y, Ngo H T, Nambiar A H, *et al.* Filtration-assisted magnetofluidic cartridge platform for HIV RNA detection from blood. *Lab Chip*, 2022, **22**(5): 945-953
- [53] 张类重. 基于静电纺丝的聚砜膜制备及其在快速血糖传感器血细胞压积误差校正上的研究与应用[M]. 杭州: 浙江大学, 2018
- Zhang L Z. Preparation of Polysulfone Membrane Based on Electropinning and Its Application in Error Correction of Hematocrit for Blood Glucose Sensor[M]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018
- [54] Balyan P, Saini D, Das S, *et al.* Flow induced particle separation and collection through linear array pillar microfluidics device. *Biomicrofluidics*, 2020, **14**(2): 024103
- [55] Dimov I K, Basabe-Desmonts L, Garcia-Cordero J L, *et al.* Stand-alone self-powered integrated microfluidic blood analysis system (SIMBAS). *Lab Chip*, 2011, **11**(5): 845-50
- [56] Zong N, Gao Y, Chen Y, *et al.* Automated centrifugal microfluidic chip integrating pretreatment and molecular diagnosis for hepatitis B virus genotyping from whole blood. *Anal Chem*, 2022, **94**(12): 5196-5203
- [57] He X, Wang X, Ge C, *et al.* Detection of VEGF165 in whole blood by differential pulse voltammetry based on a centrifugal microfluidic Chip. *ACS Sens*, 2022, **7**(4): 1019-1026
- [58] Narayana Iyengar S, Dietvorst J, Ferrer-Vilanova A, *et al.* Toward rapid detection of viable bacteria in whole blood for early sepsis diagnostics and susceptibility testing. *ACS Sens*, 2021, **6**(9): 3357-3366
- [59] Jahromi A K, Saadatmand M, Eghbal M, *et al.* Development of simple and efficient Lab-on-a-Disc platforms for automated chemical cell lysis. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 11039
- [60] Najari M, Rodrigues R M, Buyl K, *et al.* Proliferative and phenotypical characteristics of human adipose tissue-derived stem cells: comparison of Ficoll gradient centrifugation and red blood cell lysis buffer treatment purification methods. *Cytotherapy*, 2014, **16**(9): 1220-1228
- [61] Osemwengie D, Lagerberg J W, Vlaar R, *et al.* Recovery of platelet-rich red blood cells and acquisition of convalescent plasma with a novel gravity-driven blood separation device. *Transfus Med*, 2022, **32**(1): 53-63
- [62] Morita K, Sawabata N, Tatsumi S, *et al.* Verification of a new filter for isolation of circulating tumor cells by only blood filtration. *Anticancer Res*, 2022, **42**(9): 4305-4310
- [63] Zhao K, Liu Y, Wang H, *et al.* Selective, user-friendly, highly porous, efficient, and rapid (SUPER) filter for isolation and analysis of rare tumor cells. *Lab Chip*, 2022, **22**(2): 367-376
- [64] Gonzalez-Suarez A M, Stybayeva G, Carey W A, *et al.* Automated microfluidic system with active mixing enables rapid analysis of biomarkers in 5 μ L of whole blood. *Anal Chem*, 2022, **94**(27): 9706-9714
- [65] Gao X, Boryczka J, Kasani S, *et al.* Enabling direct protein detection in a drop of whole blood with an "on-strip" plasma separation unit in a paper-based lateral flow strip. *Anal Chem*, 2021, **93**(3): 1326-1332
- [66] Xu H, Xia A, Luo J, *et al.* A sample-to-answer quantitative platform for point-of-care testing of biochemical markers in whole blood. *Sens Actuators B Chem*, 2020, **308**: e127750
- [67] Wang X, Li A, Wang R, *et al.* Lateral flow immunoassay strips based on europium(III) chelate microparticle for the rapid and sensitive detection of *Trichinella spiralis* infection in whole blood samples of pigs. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, **12**: 955974
- [68] Komatsu T, Maeki M, Ishida A, *et al.* Paper-Based device for the facile colorimetric determination of lithium ions in human whole blood. *ACS Sens*, 2020, **5**(5): 1287-1294
- [69] Fukuyama S, Kumamoto S, Nagano S, *et al.* Detection of cancer cells in whole blood using a dynamic deformable microfilter and a nucleic acid aptamer. *Talanta*, 2021, **228**: 122239
- [70] Yang J, Zhang Y, Liu G, *et al.* A highly integrated lab-on-a-disc immunoturbidimetric assay from whole blood with on-chip calibration. *Microfluid Nanofluidics*, 2022, **26**(2): 10
- [71] Zhou W, Wu R, Duraiswamy S, *et al.* Development of microfluidic cartridge for culture-free detection of *Staphylococcus aureus* in blood. *J Micromech Microeng*, 2021, **31**(5): e055012
- [72] Kim C J, Ki D Y, Park J, *et al.* Fully automated platelet isolation on a centrifugal microfluidic device for molecular diagnostics. *Lab Chip*, 2020, **20**(5): 949-957
- [73] Qiu L, Zhang L, Horowitz G L, *et al.* Rapid detection and identification of bacteria directly from whole blood with light scattering spectroscopy based biosensor. *Sens Actuators B Chem*, 2021, **346**: e130489

- [74] Zhu S, Wu D, Han Y, *et al.* Inertial microfluidic cube for automatic and fast extraction of white blood cells from whole blood. *Lab Chip*, 2020, **20**(2): 244-252
- [75] Huang C, Wen T, Shi F J, *et al.* Rapid detection of IgM antibodies against the SARS-CoV-2 virus *via* colloidal gold nanoparticle-based lateral-flow assay. *ACS Omega*, 2020, **5**(21): 12550-12556
- [76] Hu X, Wu C, Situ B, *et al.* EDTA-K2 Improves the detection sensitivity of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies by chelating colloidal gold in the immunochromatographic assay. *Int J Nanomedicine*, 2021, **16**: 715-724
- [77] Ravagli E, Crescentini M, Rovatti P, *et al.* Noninvasive estimation of plasma sodium concentration during hemodialysis *via* capacitively coupled electrical impedance spectroscopy. *IEEE Trans Instrum Meas*, 2020, **69**(4): 1673-1681
- [78] 刘雯, 龚玲, 曹伟, 等. 免疫透射比浊法与散射比浊法检测血清胱抑素C的方法学比较. *中国现代医生*, 2017, **55**(21): 4
- Liu W, Gong L, Cao W, *et al.* *Modern Chinese Doctor*, 2017, **55**(21): 4
- [79] 唐志伟, 卢燕鸣, 张东俊, 等. 透射比浊法, 散射比浊法与荧光酶免疫法检测血清总IgE多维效能分析. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2022, **16**(2): 5
- Tang Z W, Lu Y N, Zhang D J, *et al.* *Chinese Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2022, **16**(2): 5
- [80] Ansah F, Krampa F, Donkor J K, *et al.* Ultrasensitive electrochemical genosensors for species-specific diagnosis of malaria. *Electrochim Acta*, 2022, **429**: e140988
- [81] Li Y, Zhang S, Li N, *et al.* A highly sensitive and selective molecularly imprinted electrochemical sensor modified with TiO₂-reduced graphene oxide nanocomposite for determination of podophyllotoxin in real samples. *J Electroanal Chem*, 2020, **873**: e114439
- [82] Tasić N, Cavalcante L, Deffune E, *et al.* Probeless and label-free impedimetric biosensing of D-dimer using gold nanoparticles conjugated with dihexadecylphosphate on screen-printed carbon electrodes. *Electrochimica Acta*, 2021, **397**: e139244
- [83] Zhao P, Li H X, Li D W, *et al.* A SERS nano-tag-based magnetic-separation strategy for highly sensitive immunoassay in unprocessed whole blood. *Talanta*, 2019, **198**: 527-533
- [84] Shaine M L, Premasiri W R, Ingraham H M, *et al.* Surface enhanced Raman scattering for robust, sensitive detection and confirmatory identification of dried bloodstains. *Analyst*, 2020, **145**(18): 6097-6110
- [85] Lee S H, Lee W C, Koh E H, *et al.* Organometallic hotspot engineering for ultrasensitive EC-SERS detection of pathogenic bacteria-derived DNAs. *Biosens Bioelectron*, 2022, **210**: 114325
- [86] Gao X, Yin Y, Wu H, *et al.* Integrated SERS platform for reliable detection and photothermal elimination of bacteria in whole blood samples. *Anal Chem*, 2021, **93**(3): 1569-1577
- [87] Gao R, Zhan C, Wu C, *et al.* Simultaneous single-cell phenotype analysis of hepatocellular carcinoma CTCs using a SERS-aptamer based microfluidic chip. *Lab Chip*, 2021, **21**(20): 3888-3898
- [88] Chen K H, Lee S H, Kok L C, *et al.* A 3D-ACEK/SERS system for highly efficient and selectable electrokinetic bacteria concentration/detection/antibiotic-susceptibility-test on whole blood. *Biosens Bioelectron*, 2022, **197**: e113740
- [89] Ding L, Wu Y, Duan Y, *et al.* A novel cell-assisted enhanced chemiluminescence strategy for rapid and label-free detection of tumor cells in whole blood. *ACS Sens*, 2020, **5**(2): 440-446
- [90] Wu P, Tu Y, Qian Y, *et al.* DNA strand-displacement-induced fluorescence enhancement for highly sensitive and selective assay of multiple microRNA in cancer cells. *Chem Commun (Camb)*, 2014, **50**(8): 1012-1014
- [91] Jing W, Hunt A, Tao N, *et al.* Simultaneous quantification of protein binding kinetics in whole cells with surface plasmon resonance imaging and edge deformation tracking. *Membranes (Basel)*, 2020, **10**(9): 247
- [92] Pirzada M, Altintas Z. Recent progress in optical sensors for biomedical diagnostics. *Micromachines (Basel)*, 2020, **11**(4): 356
- [93] Bakhshpour M, Piskin A K, Yavuz H, *et al.* Quartz crystal microbalance biosensor for label-free MDA MB 231 cancer cell detection *via* notch-4 receptor. *Talanta*, 2019, **204**: 840-845
- [94] Ren Y G, Liu M C, Ji M Z, *et al.* Rapid detection of human heart-type fatty acid-binding protein in human plasma and blood using a colloidal gold-based lateral flow immunoassay. *Exp Ther Med*, 2021, **22**(5): 1238
- [95] Jiang X, Xu X, Zeng L, *et al.* A gold-based immunochromatographic strip for the detection of sirolimus in human whole blood. *Analyst*, 2022, **147**(7): 1394-1402
- [96] Pan Y, Li X, Yang G, *et al.* Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J Infect*, 2020, **81**(1): e28-e32
- [97] Rassel S, Xu C, Zhang S, *et al.* Noninvasive blood glucose detection using a quantum cascade laser. *Analyst*, 2020, **145**(7): 2441-2456
- [98] Dos Santos Cardoso S, Bender Machado M, Mesquita Ruzicki J C. A non-invasive infrared glucose monitor double wavelength based. *IEEE Lat Am Trans*, 2020, **18**(9): 1572-1580
- [99] Zeng Z, Fagnon M, Nallan Chakravarthula T, *et al.* Fibrin clot formation under diverse clotting conditions: comparing turbidimetry and thromboelastography. *Thromb Res*, 2020, **187**: 48-55
- [100] Pieters M, Guthold M, Nunes C M, *et al.* Interpretation and validation of maximum absorbance data obtained from turbidimetry analysis of plasma clots. *Thromb Haemost*, 2020, **120**(1): 44-54
- [101] Ahmadi A, Khoshfetrat S M, Kabiri S, *et al.* Impedimetric paper-based enzymatic biosensor using electrospun cellulose acetate nanofiber and reduced graphene oxide for detection of glucose from whole blood. *IEEE Sens J*, 2021, **21**(7): 9210-9217
- [102] Kim I, Kim Y, Lee S W, *et al.* Erythrocyte-camouflaged biosensor for alpha-hemolysin detection. *Biosens Bioelectron*, 2021, **185**: 113267
- [103] Li J P, Wan N, Wen J M, *et al.* Quantitative detection and evaluation of thrombus formation based on electrical impedance

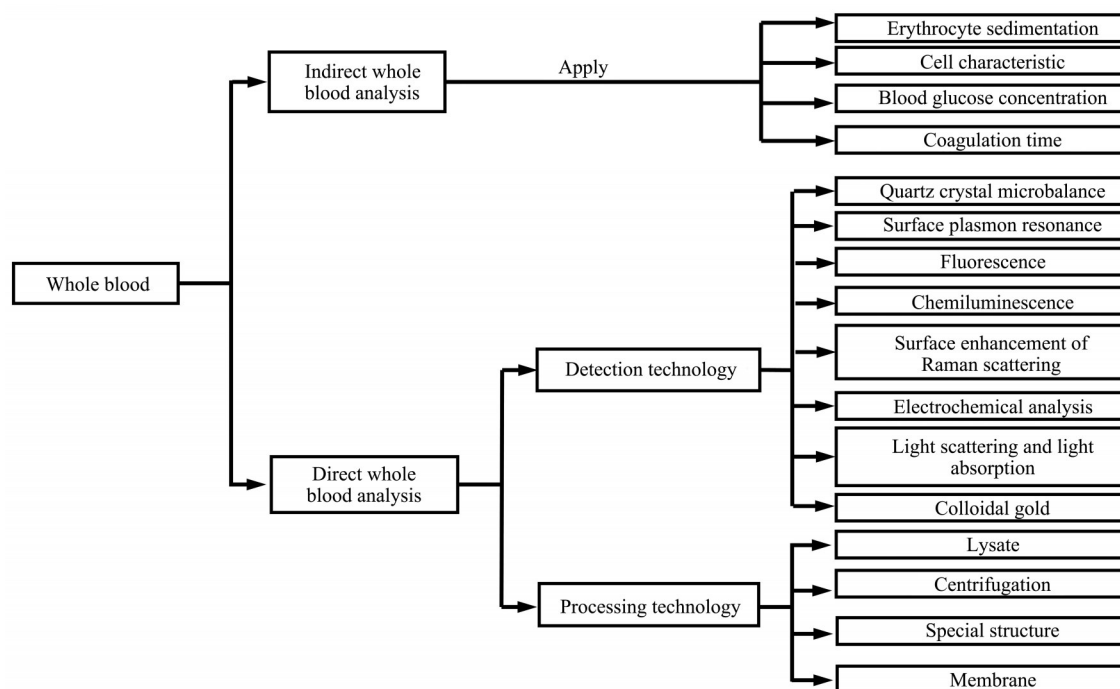
- spectroscopy. *Biosens Bioelectron*, 2019, **141**: 111437
- [104] Wen J M, Wan N, Bao H L, *et al.* Quantitative measurement and evaluation of red blood cell aggregation in normal blood based on a modified Hanai equation. *Sensors*, 2019, **19**(5): 1095
- [105] Lei M, Xu C, Shan Y, *et al.* Plasmon-coupled microcavity aptasensors for visual and ultra-sensitive simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Anal Bioanal Chem*, 2020, **412**(29), 8117-8126
- [106] Sun D, Cao F, Wang H, *et al.* SERS hydrogel pellets for highly repeatable and reliable detections of significant small biomolecules in complex samples without pretreatment. *Sens Actuators B Chem*, 2021, **327**: 128943
- [107] Zhu K, Wang Z, Zong S, *et al.* Hydrophobic plasmonic nanoacorn array for a label-free and uniform SERS-based biomolecular assay. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(26): 29917-29927
- [108] Zhao H, Qiu X, Su E, *et al.* Multiple chemiluminescence immunoassay detection of the concentration ratio of glycosylated hemoglobin A1c to total hemoglobin in whole blood samples. *Anal Chim Acta*, 2022, **1192**: 339379
- [109] Saito K, Kogure M, Sonoda A, *et al.* Luminol chemiluminescence reaction: optimization by image analysis method and use in distinguishing human hemoglobin from potassium hexacyanoferrate(III) by addition of ascorbic acid. *Forensic Chem*, 2020, **21**: e100278
- [110] Huang M, Wang Y, Song M, *et al.* Bovine serum albumin-encapsulated gold nanoclusters-Cu²⁺ synergize and promote calcein chemiluminescence for glutathione detection in human whole blood. *Microchem J*, 2021, **170**: e106749
- [111] Chinnappan R, Mohammed R, Yaqinuddin A, *et al.* Highly sensitive multiplex detection of microRNA by competitive DNA strand displacement fluorescence assay. *Talanta*, 2019, **200**: 487-493
- [112] Xu C, He X Y, Ren X H, *et al.* Direct detection of intracellular miRNA in living circulating tumor cells by tumor targeting nanoprobe in peripheral blood. *Biosens Bioelectron*, 2021, **190**: 113401
- [113] Qu J H, Leirs K, Maes W, *et al.* Innovative FO-SPR label-free strategy for detecting Anti-RBD antibodies in COVID-19 patient serum and whole blood. *ACS Sens*, 2022, **7**(2): 477-487
- [114] Kotlarek D, Curti F, Vorobii M, *et al.* Surface plasmon resonance-based aptasensor for direct monitoring of thrombin in a minimally processed human blood. *Sens Actuators B Chem*, 2020, **320**: 128380
- [115] Heidarzadeh H. Analysis and simulation of a plasmonic biosensor for hemoglobin concentration detection using noble metal nanoparticles resonances. *Opt Commun*, 2020, **459**: 124940
- [116] Sahln Sadik E, SaraoGlu H M, GÜrol İ, *et al.* Determination of blood glucose parameter from human blood serum by using a quartz crystal microbalance sensor coated with phthalocyanines compounds. *Turk J Chem*, 2020, **44**(5): 1293-1302
- [117] Atar N, Yola M L. A novel QCM immunosensor development based on gold nanoparticles functionalized sulfur-doped graphene quantum dot and h-ZnS-CdS NC for Interleukin-6 detection. *Anal Chim Acta*, 2021, **1148**: 338202
- [118] 李建平, 何立栋, 万嫩, 等. 基于浓厚分散系 HANAI 理论的血液温度生物电阻抗特性量化表征研究. *仪器仪表学报*, 2021, **41**(9): 236-243
- Li J P, He L D, Wan N, *et al.* *Chinese Journal of Scientific Instrument*, 2021, **41**(9): 236-243
- [119] Bigorra L, Larriba I, Gutiérrez-Gallego R. Machine learning algorithms for the detection of spurious white blood cell differentials due to erythrocyte lysis resistance. *J Clin Pathol*, 2019, **72**(6): 431-437
- [120] Zhao Y, Gu H, Li H, *et al.* Accuracy improvement of electrochemical whole blood ketone sensor based on HCT compensation algorithm. *Electrophoresis*, 2020, **41**(16-17): 1446-1449
- [121] Bhamla M S, Benson B, Chai C, *et al.* Hand-powered ultralow-cost paper centrifuge. *Nat Biomed Eng*, 2017, **1**(1): 9

Whole Blood Analysis in Disease Screening*

LI Jian-Ping, HE Li-Dong, HU Yi-Li, WEN Jian-Ming, MA Ji-Jie, WAN Nen**

(College of Engineering, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China)

Graphical abstract



Abstract Variations in human vital sign will lead to changes of blood composition and quality. As for a basic screening project to assess human health, blood analysis has been extensively applied to health monitoring, disease diagnosis and rehabilitation evaluation. With the rapid development of economy and the continuous improvement of national living standards, human's awareness of life and health is increasingly enhanced, which greatly promotes the evolution of sample, fast and sensitive disease screening technology. At present, developing the rapid blood analysis device has become a hot spot in the medical field for disease screening. There are many kinds of existing studies, but the whole blood analysis has not been systematically sorted and classified. This study systematically reviews the main development research and the latest progress of whole blood analysis. Starting from two aspects of whole blood analysis, direct whole blood analysis and indirect whole blood analysis, the current equipment methods and applications has been clarified based on direct whole blood analysis, the core processing technology and detection technology has been concluded based on indirect whole blood analysis. Finally, the problems of non-portability, low efficiency and high price for the whole blood analysis device at the present stage has been discussed, and the prospect of whole blood analysis in the direction of integration, intellectualization and low-cost has been summarized and prospected, which provided new ideas for the future research direction of rapid blood analysis.

Key words blood, direct whole blood analysis, indirect whole blood analysis, processing technology, detection technology

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0551

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (52105564) and Zhejiang Provincial Key Research and Development Project (2021C01181).

** Corresponding author.

Tel: 86-17805898198, E-mail: wannen@zjnu.cn

Received: December 2, 2022 Accepted: February 6, 2023