

• 论 著 •

抗凝全血标本存放条件对血细胞参数稳定性的影响

朱文元, 刘 芹, 王 莉, 唐明君

(贵州省贵阳市第二人民医院·金阳医院检验科 550000)

摘 要:目的 探讨抗凝全血标本存放条件对血细胞分析仪分析参数稳定性的影响。方法 用 Sysmex K-4500 血细胞分析仪对 EDTA-K₂ 抗凝血标本进行长时间(144 h)不同时段、不同放置温度的血细胞参数稳定性检测,用 Excel 软件做统计学分析。结果 室温(18℃~25℃)条件下,白细胞(WBC)可稳定 72 h,血小板计数(PLT)可稳定 96 h,血红蛋白(Hb)可稳定 120 h,红细胞(RBC)、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)只能稳定 24~48 h,其余参数于 24 h 开始与 4 h 内检测结果比较差异均有统计学意义($P<0.01$)。低温(2℃~8℃)冷藏条件下,WBC、RBC、Hb、MCH 可稳定 96 h,血细胞比容(HCT)、PLT 可稳定 72 h,红细胞平均体积(MCV)、红细胞分布宽度(RDW)可稳定 48 h,血小板分布宽度(PDW)、血小板平均体积(MPV)于 24 h 开始与 4 h 内检测结果比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)于 96 h 检测结果降低($P<0.01$)。偏差分析结果显示,标本室温保存,WBC、PLT、Hb 于 96 h 内,RBC 于 48 h 内,检测的结果差异在允许误差范围内;标本冷藏保存,WBC 于 96 h 内、PLT 于 48 h 内、红细胞 3 项参数(RBC、Hb、HCT)于 120 h 内检测的结果差异在允许误差范围内。结论 抗凝全血标本采集后,应及时送检,检测完毕后,建议放置 2℃~8℃冰箱保存。如遇特殊原因,标本不能及时送检,也应放置冰箱保存,48 h 内检测结果基本可满足除 MPV、PDW 外的血液常规需要。同时以备临床和患者对血液常规结果有疑惑时进行复检核对。

关键词:温度; 血细胞分析仪; 抗凝全血; 标本稳定性; 存放时间

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)04-0439-03

Anticoagulant whole blood sample storage conditions on the stability of blood cell parameters

Zhu Wen Yuan, Liu Qin, Wang Li, Tang Mingjun

(Department of Laboratory Medicine, The Second People's Hospital of Guiyang, Guiyang 550000, China)

Abstract: Objective To observe the influence of storage conditions to the stability of parameters of anticoagulated whole blood samples, when being analyzed with hematology analyzer. **Methods** Sysmex K-4500 hematology analyzer was used for the detection of EDTA-K₂ anticoagulant samples, stored for a prolonged period (144 h), at different time and at different temperatures to analyze blood cell parameter stability. Excel software was applied to complete statistical analysis. **Results** At room temperature (18–25 °C) conditions, the white blood cell (WBC) was stable for 72 h, platelets (PLT) was stable for 96 h, hemoglobin (Hb) was stable for 120 h, red blood cell (RBC), mean corpuscular hemoglobin (MCH) can only be stable for 24–48 h, other parameters in the 24 h period beginning with the 4 h test results were statistically significant difference ($P<0.01$). Under refrigerator (2–8 °C) condition, WBC, RBC, Hb and MCH was stable for 96 h, hematocrit (HCT) and PLT were stable for 72 h, mean corpuscular volume (MCV) and red cell volume distribution width (RDW) could be stable for 48 h; platelet volume distribution width (PDW), mean platelets volume (MPV) in the 24 h period beginning with the 4 h test results statistically significant difference ($P<0.05$ or $P<0.01$), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in the 96 h test results were significantly lower ($P<0.01$). Deviation analysis showed that, of specimens stored at room temperature, WBC, PLT, HGB for 96 h, RBC for 48 h, the test differences of results were in allowable error range, of specimens with cold storage, WBC in the 96 h period, PLT in the 48 h, the three parameters of red blood cells (RBC, HGB, HCT) in the 120 h difference in test results within the permissible error range. **Conclusion** Whole blood specimen collection, should be promptly inspected. After testing, it is recommended to place 2–8 °C refrigerator. In case of special reasons, the specimens are not timely submission, it should be placed refrigerator, 48 h test results in addition to the basic can meet MPV, PDW needs outside the conventional blood. At the same time, to prepare for routine clinical and patient blood were re-examination when the results are in doubt check.

Key words: Temperature; Hematology analyzer; Anticoagulant whole blood; Sample stability; Storage time

全自动血细胞分析仪凭借快速、操作简便、精密度高等优点,在各级医院广泛应用。为使血细胞分析仪测定结果准确、可靠,加强实验室分析前、分析中、分析后的质量管理非常必要。国内多数实验室缺乏标本分析后的质量管理意识,尤其是对标本的保存和管理,通常在血常规分析后当天就把标本处理掉,如果出现差错或须复检时就无法进行 2 次比较分析,随之而来的医疗差错和纠纷会不断增加,所以实验室分析后的质量管理已显得十分迫切^[1]。为了探讨抗凝血标本置放环境及时间对血细胞参数稳定性的影响,本研究对 86 例患者抗凝静脉血在 2 种保存条件下,分 7 个时间段用血细胞分析仪连续测

定,动态观察血细胞参数的变化规律和稳定性。

1 资料与方法

1.1 患者来源 选取本院各科住院非血液系统疾病患者 86 例,将研究对象随机分为两组:Ⅰ组 43 例,男 22 例,女 21 例,年龄 4~82 岁,平均年龄 43.9 岁;Ⅱ组 43 例,男 18 例,女 25 例,年龄 5~79 岁,平均年龄 41.6 岁。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex K-4500 血细胞分析仪及配套试剂和质控物,试剂和质控物均在有效期内,试验期间空白计数和质控结果均符合要求。

1.3 方法 (1)用 EDTA-K₂ 真空抗凝管采集住院患者静脉

血 2.5 mL,以轻柔动作充分颠倒混匀,室温(18℃~25℃)放置,在采集后 3~4 h 之间(4 h 内)用 Sysmex K-4500 血细胞分析仪测定 86 例抗凝全血标本。随后将 I 组标本放置室温(18℃~25℃)保存,II 组标本放置冰箱(2℃~8℃)冷藏保存。分别在采集后的 24、48、72、96、120、144 h 测定 2 组标本。II 组标本在测定前均恢复至室温,进样方式均采用自动进样模式。(2)判断标准:参照 1988 年美国国会通过的临床实验室改进修正案(CLIA'88)中规定的白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血细胞比容(HCT)、血红蛋白(Hb)、血小板计数(PLT)允许误差范围(分别为±15%、±6%、±6%、±7%、±25%)作为临床可接受标准^[2]。将 4 h 内测定结果(比较方法结果)设为参考“靶值”,然后将 24 h 至 144 h 的测定结果(试验方法结果)分别减去“靶值”,差值占“靶值”的百分比为相对偏差(最小值~最大值)^[3],相对偏差在规定的允许误差内为临床可接受偏差范围。

1.4 统计学处理 所有测得数据采用 Excel 软件处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用双因素方差分析和 *q* 检验,以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 抗凝全血标本长时间室温和冷藏保存各参数检测结果 标本室温保存,稳定性最好的是 Hb,可稳定 120 h;其次是

PLT,可稳定 96 h;WBC 可稳定 72 h;RBC 和平均红细胞血红蛋白含量(MCH)只稳定 24 h 和 48 h;其余参数于 24 h 开始与 4 h 内检测结果比较差异均有统计学意义(*P*<0.01)。标本冷藏保存,WBC、RBC、Hb、MCH 可稳定 96 h;HCT、PLT 可稳定 72 h;红细胞平均体积(MCV)、红细胞分布宽度(RDW-CV、RDW-SD)可稳定 48 h;血小板分布宽度(PDW)、血小板平均体积(MPV)于 24 h 起与 4 h 内检测结果比较差异有统计学意义(*P*<0.05 或 *P*<0.01),见表 1。

2.2 偏差分析 标本室温保存,96 h 内 WBC、PLT、Hb 的相对偏差(-13.8%~8.5%)、(-23.5%~13.4%)、(-5.6%~2.3%)在允许误差范围,48 h 内 RBC 的相对偏差(-5.4%~3.2%)在允许误差范围,24 h 起有 7%(3/43)的标本 HCT 的相对偏差(-1.5%~7.6%)超出允许误差范围,至 144 h 所有标本 HCT 相对偏差(6.3%~38.5%)已超出允许误差范围。标本冷藏保存,120 h 内 RBC、Hb、HCT 的相对偏差(-2.1%~6.0%)、(-2.5%~6.6%)、(-1.9%~5.8%)在允许误差范围,96 h 内和 48 h 内 WBC 和 PLT 的相对偏差(-13.7%~13.9%)、(-23.6%~12.3%)在允许误差范围。72 h 起有 4.7%(2/43)的标本 PLT 的相对偏差(-26.6%~10.4%)超出允许误差范围,至 144 h 已有 25.6%(11/43)标本 PLT 的相对偏差(-84.1%~11.3%)已超出允许误差范围。

表 1 抗凝全血标本保存不同温度和时间对 K-4500 血细胞分析仪测定参数的影响($\bar{x}\pm s$)

项目	温度	4 h 内	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h
WBC(×10 ⁹ /L)	室温	8.90±4.41	8.85±4.49	8.74±4.34	8.68±4.22	8.61±4.30 [#]	8.56±4.16 [★]	8.45±3.93 [★]
	冷藏	9.75±4.04	9.95±4.19	9.94±4.26	9.80±4.24	9.61±3.97	8.97±3.92 [★]	8.68±3.67 [★]
PLT(×10 ⁹ /L)	室温	186.00±73.21	186.35±74.72	185.84±72.57	186.79±72.80	181.26±71.36	174.95±67.78 [★]	173.72±68.29 [★]
	冷藏	211.72±79.54	211.63±86.31	210.30±83.56	203.81±79.19	194.84±81.82 [★]	189.67±79.22 [★]	179.88±78.12 [★]
RBC(×10 ¹² /L)	室温	3.63±0.64	3.59±0.61	3.55±0.60 [★]	3.52±0.60 [★]	3.50±0.59 [★]	3.50±0.61 [★]	3.76±0.75 [★]
	冷藏	4.03±0.60	4.03±0.62	4.03±0.61	4.03±0.60	4.05±0.61	4.11±0.63 [★]	4.17±0.65 [★]
Hb(g/L)	室温	103.12±22.10	102.56±22.47	101.81±22.37	102.00±22.60	102.12±22.77	102.60±23.02	114.14±28.02 [★]
	冷藏	114.16±19.75	114.14±19.98	114.19±19.86	114.47±19.89	114.79±19.47	117.91±20.17 [★]	120.58±20.19 [★]
HCT(L/L)	室温	0.320±0.060	0.329±0.059 [★]	0.339±0.060 [★]	0.347±0.061 [★]	0.350±0.061 [★]	0.356±0.064 [★]	0.389±0.080 [★]
	冷藏	0.342±0.051	0.343±0.051	0.343±0.050	0.344±0.050	0.347±0.052 [★]	0.353±0.053 [★]	0.361±0.057 [★]
MCV(fL)	室温	88.11±5.41	91.57±5.55 [★]	95.67±5.57 [★]	98.35±5.71 [★]	99.99±5.90 [★]	101.69±5.78 [★]	103.51±5.74 [★]
	冷藏	85.21±7.01	85.37±7.03	85.37±7.09	85.66±7.12 [★]	86.01±7.35 [★]	86.35±7.40 [★]	86.97±7.54 [★]
MCH(pg)	室温	28.33±2.64	28.45±2.71	28.55±2.75	28.77±2.94 [★]	29.01±2.96 [★]	29.13±3.08 [★]	30.17±2.93 [★]
	冷藏	28.42±3.15	28.37±3.20	28.39±3.23	28.52±3.23	28.47±3.15	28.75±3.11 [★]	29.01±3.22 [★]
MCHC(g/L)	室温	323.58±19.62	310.37±19.39 [★]	298.23±18.22 [★]	292.23±19.08 [★]	289.77±19.26 [★]	285.98±19.28 [★]	291.02±17.85 [★]
	冷藏	332.84±14.82	331.40±15.19	331.72±15.38	332.07±15.33	330.16±12.89 [★]	332.35±12.50	332.86±13.96
RDW-CV(L/L)	室温	0.137±0.014	0.141±0.013 [★]	0.142±0.014 [★]	0.141±0.013 [★]	0.144±0.015 [★]	0.146±0.015 [★]	0.147±0.016 [★]
	冷藏	0.138±0.024	0.138±0.023	0.138±0.024	0.139±0.024 [#]	0.141±0.025 [★]	0.142±0.025 [★]	0.143±0.024 [★]
RDW-SD(%)	室温	38.92±4.24	43.23±4.41 [★]	47.00±4.47 [★]	49.00±4.72 [★]	51.07±5.26 [★]	53.10±5.35 [★]	55.49±5.95 [★]
	冷藏	36.30±4.71	36.43±4.76	36.70±4.55	36.94±4.72 [#]	38.09±4.70 [★]	38.74±4.56 [★]	39.73±4.67 [★]
PDW(%)	室温	12.13±2.57	13.58±2.95 [★]	14.26±3.12 [★]	15.09±3.24 [★]	15.79±3.33 [★]	16.68±3.04 [★]	17.51±3.39 [★]
	冷藏	11.57±2.51	12.36±2.43 [#]	13.12±2.78 [★]	14.02±3.39 [★]	14.71±3.35 [★]	15.38±3.89 [★]	16.43±3.92 [★]
MPV(fL)	室温	10.00±1.17	10.93±1.32 [★]	11.25±1.25 [★]	11.60±1.32 [★]	11.89±1.26 [★]	12.03±1.17 [★]	12.14±1.13 [★]
	冷藏	9.72±1.28	10.37±1.30 [★]	10.77±1.38 [★]	11.08±1.49 [★]	11.37±1.41 [★]	11.59±1.55 [★]	11.94±1.46 [★]

[#]: *P*<0.05, [★]: *P*<0.01,与 4 h 内比较,。

3 讨 论

本研究结果显示,标本室温保存后,WBC 呈持续下降趋势,于 96 h 开始与 4 h 内检测结果比较差异有统计学意义(*P*

<0.05);PLT 在 96 h 前保持稳定,120 h 开始明显下降,与 4 h 内检测结果比较差异有统计学意义(*P*<0.01)。而标本冷藏保存后,WBC 在 96 h 前较 4 h 内测定结果稍有升高,但无统计

学意义,120 h 开始显著下降,与 4 h 内检测结果比较差异有统计学意义($P<0.01$),这与 Gene 等^[4]报道 WBC 仍然高于即刻检测结果不符;PLT 随标本保存时间延长逐渐减少,于 96 h 开始与 4 h 内检测结果比较差异有统计学意义($P<0.01$)。偏差分析显示,标本不论室温或冷藏保存,96 h 内 WBC 的结果差异为临床基本可接受;而标本放置室温 96 h 内或冷藏 48 h 内 PLT 的结果差异为临床基本可接受。标本冷藏放置 72 h,PLT 在统计学上虽无差异,但个别标本的 PLT 结果显著下降,偏差已超出允许误差范围,且随时间延长,差异逐渐增大,超出允许误差的标本数逐渐增多。分析原因,可能与低温保存时更易使细胞黏附、聚集、激活,尤其是 PLT 聚集成较大颗粒时,使 PLT 数量较室温下降快,而仪器检测 WBC 是根据血细胞通过微孔时电阻变化产生的脉冲大小计数,可能将聚集的 PLT 误计为 WBC,使得 WBC 在 24~96 h 测定结果稍有升高,但无统计学意义。说明 WBC 的稳定性在 96 h 内受环境因素影响较小,而 PLT 不易冷藏保存,标本室温保存,PLT 的稳定性较好。

标本不论室温或冷藏保存,血小板的体积参数 MPV、PDW 稳定性最差,于 24 h 开始发生显著变化($P<0.05\sim 0.01$),且随时间的延长逐渐增大^[5]。这可能与血小板结构和生理特点有关,血液离开体内正常环境后,由于渗透压的影响,以及玻璃抗凝管诱使血小板结构发生变化,随着时间的延长,血小板肿胀导致构型发生改变,使 MPV 增大,血小板体积大小的异质性参数 PDW 随之增大^[5]。所以,血小板的体积参数成为临床血液分析的时限性因素。MPV 应在 4 h 内测定,才能正确反映机体内血小板的状况^[5-7]。

研究表明,标本在室温或冷藏条件下,Hb 的稳定性最好,可稳定 96~120 h。在室温下,RBC、MCH 只稳定 24~48 h,与 Gene 等^[4]报道“标本保存在室温时,RBC、Hb、MCH 至少可以稳定 7 天”不符。而 HCT、MCV、RDW 3 项红细胞体积参数于 24 h 开始升高,MCHC 随之降低,与 4 h 内检测结果比较差异均有统计学意义($P<0.01$),与文献报道一致^[1]。可能与室温长时间放置,红细胞代谢增快,红细胞本身的结构发生较大改变;也可能与抗凝血标本渗透压有关,EDTA 抗凝血的渗透压比未加抗凝剂的血标本增加了 60 mOsm/kg H_2O ,抗凝血红细胞停留在一个高渗透压环境中,细胞内水分子与细胞外溶质相互交换,使细胞内渗透压升高,细胞体积缩小。当进行标本检测时,红细胞遇到渗透压相对较低的稀释液,水分进入红细胞内,使其 MCV 明显增大,RDW 明显增宽,部分红细胞膜破裂,形成的脉冲电流减少,引起 RBC 减少^[8-10]。而在冷藏下,HCT、MCV、RDW、MCHC 可稳定 48~72 h,红细胞其他参数可稳定 96 h。偏差分析显示,标本冷藏保存 120 h 内,RBC、Hb、HCT 结果差异为临床基本可接受;室温条件下,RBC 于 48 h 内、Hb 于 96 h 内检测结果差异才能为临床基本可接受,120 h Hb 在统计学上虽无差异,但个别标本的偏差已超出允

许误差范围,而 HCT 于 24 h 起有 7%(3/43)标本的检测结果差异已超出允许误差范围,随时间延长结果差异逐渐增大,超出允许误差的标本数逐渐增多。说明标本冷藏保存,红细胞参数的稳定性较好。

综上所述,抗凝全血标本采集后,应及时送检,尽量在 4 h 内检测完毕后,建议放置 2~8℃冰箱保存。如遇特殊原因,标本不能及时送检,也应在 4 h 内制备合格的血涂片后^[11],放置 2~8℃冰箱保存,48 h 内检测结果基本可满足除 MPV、PDW 外的临床血液常规需要。这样可以保证部分血细胞计数结果的可靠性,同时以备临床和患者对检验结果有疑惑时进行复查核对。此外,还可利用保存的新鲜抗凝血标本建立多台血细胞分析仪间的质控体系,可实时监控仪器波动,即经济实惠,又达到室内质控的预期效果^[12]。

参考文献

- [1] 陈国强,潘立勇,施明月,等. XE-2100 血液分析仪常用参数稳定性研究[J]. 检验医学,2005,20(3):192-194.
- [2] US Department of Health and Human Services. Medicare, Medicaid and CLIA programs: Regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA). Final rule[J]. Federal Register,1992,57(10):7002-7186.
- [3] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:136-140.
- [4] Gene L, Gulati PhD, Lawrence J, et al. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature[J]. Archives of Pathology and Laboratory Medicine,2002,126(8):336-342.
- [5] 郝崇华,刘建红. 关于血液标本放置时间的长短对血常规检测的影响[J]. 实用医技杂志,2002,9(9):666-667.
- [6] 骆科允,汪彦屿,冯进. 时间、温度对全血细胞检测结果的影响[J]. 《中国保健》医学研究版,2007,15(2):119-120.
- [7] 王文工,王丽,王望东. 血液标本保存温度和时间对血小板系统检测指标的影响[J]. 微循环学杂志,2005,15(3):74,77.
- [8] 杨佳,罗舜菁,颜萧,等. 温度对全血细胞计数(CBC)结果的影响[J]. 江西医学检验,1999,17(4):203-205.
- [9] 丁颖,王正芳,丛玉隆,等. 血液保存温度和时间对激光法检测红细胞系统参数的影响[J]. 临床检验杂志,1996,14(3):150.
- [10] 马俊龙,杨崇洋,丛玉隆. 红细胞体积及测定的影响因素[J]. 军医进修学院学报,1992,13(1):86.
- [11] 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,2008:140-143.
- [12] 安邦权,周湘红,凌晓午,等. 全自动血细胞分析仪 HGB 测定多种室内质控方法应用研究[J]. 江西医学检验,2007,25(5):483-484.

(收稿日期:2010-05-10)

(上接第 438 页)

- Hypertens,1994,12(3):955-977.
- [9] Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau JA. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status[J]. J Appl physiol,2000,88(5):1571-1575.
 - [10] North KN, Beggs AH. Deficiency of a skeletal muscle isoform of

alpha-actinin (alpha-actinin-3) in merosin-positive congenital muscular dystrophy[J]. Neuromuscul Disord,1996,6(4):229-235.

- [11] 席冀,张秀丽. 中国北方汉族青年 ACE 基因 I/D 多态性频率分布特征[J]. 天津体育学院学报,2006,21(3):205-208.

(收稿日期:2010-05-04)