

• 检验技术与方法 •

手指末梢血不同采集方式对血细胞分析仪测定结果的影响研究

曹 科¹, 罗小娟¹, 杨庆斌¹, 吴跃平¹, 李德发^{2△}

(广东省深圳市儿童医院:1. 检验科;2. 门诊部 518026)

摘 要:目的 比较刮血法和吸血法两种采血方式对血细胞分析结果的影响。方法 同时使用刮血法和吸血法采集 60 例门诊患者手指末梢血,用 MINDRAY BC5300 血细胞分析仪检测血常规,并进行血细胞形态学人工镜检和血小板手工计数,比较两种采血方式对结果的影响。结果 刮血法对白细胞分类中的中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞、嗜酸粒细胞和血小板计数有影响,同时增加仪器假报警;吸血法采集末梢血对血细胞分析结果影响小,且可以减少仪器假报警。结论 吸血法采集末梢血更适合于血细胞分析仅检测。

关键词:血样采集; 血细胞; 实验室技术和方法; 末梢血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.09.032 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)09-1098-03

近年来随着经济水平的提高,五分类血细胞分析仪在各级医院应用越来越普及,从理论上讲静脉血最适合于仪器检测,但在儿童医院以及门诊患者中仍以应用末梢血为主。目前市场上也有部分厂家陆续推出多款微量血五分类血细胞分析仪如 SYSMEX XS-800i、MINDRAY BC5300 等。不同采集方式收集的样本在仪器上的检测结果存在差异。现有研究大多局限于静脉血与末梢血之间的比较^[1-5],末梢血不同采集方式对血细胞分析结果影响鲜有报道。

末梢血采集方式:(1)稀释法;(2)刮血法;(3)吸血法。稀释法由于较难准确吸取 20 μL 血量导致准确性和重复性较差且复查不方便而逐渐被淘汰,后两种方法由于仪器自动吸样准确且可复查标本而普遍应用。本研究比较了刮血法和吸血法对血常规检测结果的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择本院门诊患儿 60 例,其中男 32 例,女 28 例;年龄 6 个月至 15 岁,平均(5.8±1.5)岁。实验方案经医院医学伦理委员会批准,实验前经监护人同意并签署知情同意书。

1.2 仪器、器械与试剂 MINDRAY BC5300 血细胞分析仪(以下简称:BC5300)及配套试剂、校准品(批号:ZX30510C)和质控品(批号:ZX42210)、奥林巴斯显微镜(型号:KX21)、牛鲍氏计数板(上海求精生化试剂仪器有限公司)、一次性采血针(姜堰市荣飞器械厂)、一次性 80 μL 微量吸管(北京亦庄红星医疗器械有限公司)、一次性医用抗凝管(江苏康健医疗器械有限公司,EDTA-K₂ 干粉抗凝)、瑞氏染液及血小板稀释液(参照《全国临床检验操作规程》第 3 版配制)等。

1.3 方法

1.3.1 末梢血采集 同一患者用两种方法采集末梢血,用一

次性采血针穿刺已消毒左手无名指内侧皮肤,第一滴血弃去。吸血法:用一次性 80 μL 微量吸管吸取约 80 μL 末梢血,快速装入医用抗凝管充分混匀待检;刮血法:直接用医用抗凝管刮取约 80 μL 末梢血充分混匀待检。

1.3.2 血细胞分析仪检测 每份标本严格按照《BC5300 操作规程》进行全血模式检测,观察散点图。

1.3.3 手工血小板计数(Plt) 每份标本参照文献[6]操作,并由 3 年以上工作经验的技师完成。

1.3.4 血细胞形态学人工镜检 每份标本制作 2 张血涂片,瑞氏染色,由主管技师以上专业技术职务的技师在显微镜下观察细胞形态。

1.3.5 验证实验 随机选择 5 名年龄 6 个月至 10 岁儿童,常规消毒手指皮肤,用医用抗凝管轻轻刮取 5 次,吸取约 30 μL 血浆冲洗医用抗凝管口,重新吸出血浆在一洁净玻片涂开,晾干,瑞氏染色,显微镜下观察。所有标本均在采集后 2 h 内完成检测。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS13.0 统计软件进行分析,两样本均数比较采用 *t* 检验,多个样本均数比较采用 SNK-*q* 法检验,两样本率的比较采用 χ^2 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种采血方式仪器检测结果比较 吸血法仪器检测白细胞(WBC)、嗜碱粒细胞(B)百分比(%）、红细胞(RBC)、血红蛋白(Hbg)、平均红细胞容积(MCV)与刮血法比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),中性粒细胞(N)百分比(%）、单核细胞(M)百分比(%）、淋巴细胞(L)百分比(%）、嗜酸粒细胞(E)百分比(%)与刮血法比较,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

表 1 两种采血方式仪器检测结果比较($\bar{x}\pm s, n=60$)

组别	WBC($\times 10^9/L$)	N(%)	L(%)	M(%)	E(%)	B(%)	RBC($\times 10^{12}/L$)	Hbg(g/L)	MCV(fl)
吸血法	9.5±3.8*	53.5±18.2*	36.3±18.0*	8.4±4.5*	1.6±1.7*	0.30±0.2*	4.69±0.36*	124.6±11.6*	81.5±3.8*
刮血法	9.6±4.0	49.9±16.4	39.4±19.3	6.3±4.7	4.0±2.7	0.34±0.2	4.67±0.35	123.7±11.9	81.4±3.7

* : *P*>0.05, * : *P*<0.05,与刮血法比较。

2.2 两种采血方式仪器法与手工法 Plt 检测结果比较 刮血法仪器检测结果与其他 3 组检测结果比较,差异有统计学意义

(*P*<0.05),其他 3 组间检测结果比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。

△ 通讯作者, Tel:13510333086; E-mail:lidefa1972@163.com。

表 2 两种采血方式仪器报警与血细胞形态学镜检结果比较(n,n=60)

组别	WBC 散点图分布异常 ^a (假报警)	镜检 WBC 形态异常 ^b	仪器报警血小板聚集(假报警)	镜检血小板聚集	镜检其他异常 ^c
吸血法	8(3/60) [#]	5	2(1/60) [#]	1	0
刮血法	31(26/60)	5	13(13/60)	0	24

^a:“WBC 散点图分布异常”报警常有两种原因:(1)散点图分区不良,四分类散点图(N、L、M、E)中任两类或两类以上细胞散点图分界不清,融合在一起;(2)散点图出现明显杂点,四分类散点图出现一类或一类以上细胞杂乱分散分布,提示该区域存在异常细胞或粒子;^b:“镜检 WBC 形态异常”指血涂片出现 N 核左移现象、异型 L 3%以上或可见原始、幼稚细胞;^c:“镜检其他异常”指血涂片中可见大小和多少不等的疑似表皮角质碎片;[#]: $P<0.05$,与刮血法比较。



图 1 血涂片尾部可见较多大小不等表皮角质碎片(瑞氏染色,×100)

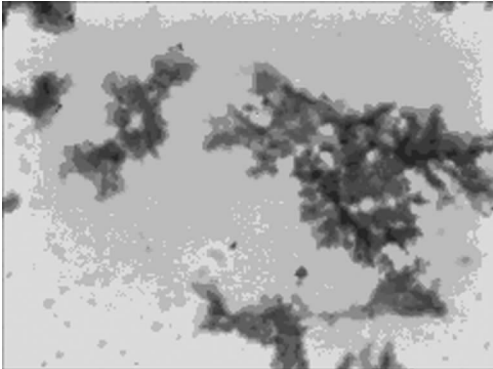


图 2 直接刮取皮肤的表皮角质碎片(瑞氏染色油镜,×100)

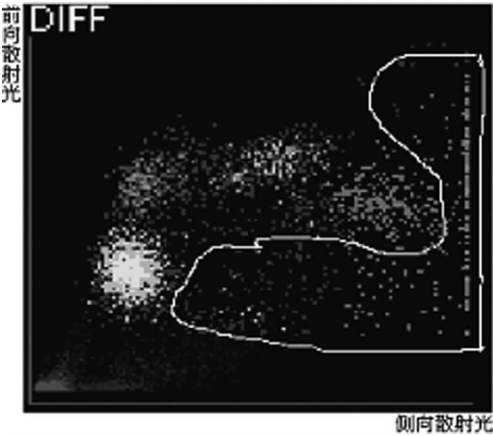


图 3 刮血法 BC5300 四分类散点图(较多表皮角质碎片干扰)

2.3 两种采血方式仪器报警与血细胞形态学镜检结果比较
两种采血方式仪器报警例数比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。以“镜检 WBC 形态异常”和“镜检血小板聚集”为“金标准”,刮血法仪器假报警率显著高于吸血法($P<0.05$),见表

2。24 份刮血法标本血涂片镜检见大小、多少不等呈嗜酸性,无结构均质状物,疑似表皮角质碎片(图 1)。经 5 例儿童的确认实验,其中 2 例皮肤刮取物显微镜检查可见与刮血法血涂片一致的异常物质,为表皮角质碎片(图 2)。对照刮血法 26 例仪器“WBC 散点图分布异常”和 13 例“血小板聚集”的假报警多为表皮角质碎片污染物导致,而非血细胞本身形态异常。

2.4 两种采血方式仪器散点图比较 刮血法散点图在 E 和 L 周边区域见较多杂点(图 3),甚至出现从影细胞起约 40°斜向上呈片状延伸散点图(图 4);而吸血法散点图则无明显杂点(图 5)。

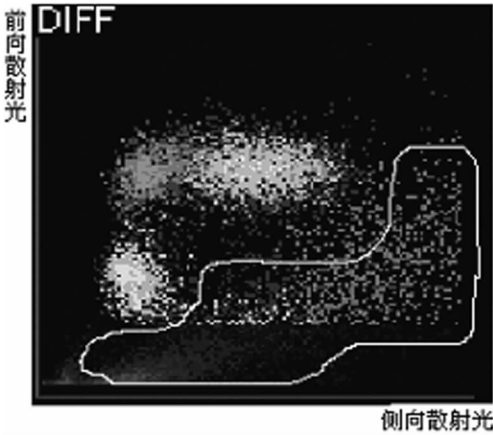


图 4 刮血法 BC5300 四分类散点图(从影细胞起约 40°斜向上呈片状延伸)

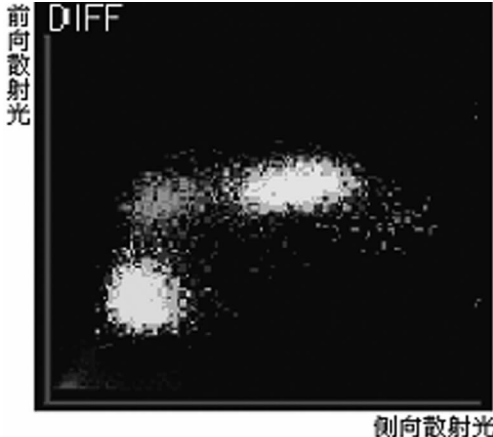


图 5 吸血法 BC5300 四分类散点图

3 讨 论

随着五分类血细胞分析仪在各级医院普及应用,分析质量得到显著提高。分析前质量管理是潜在因素最多、最难控制的环节,其核心问题是标本质量^[7-8]。本研究通过 60 例刮血法和吸血法末梢血常规检测结果、仪器报警信息、手工进行 Plt、血细胞形态镜检等方面的比较,以选择最佳的末梢血采集方法。

表皮的最外层为角质层,由多层已经死亡的扁平、无核细胞构成,并以 3~4 周为周期不断脱落和更新,光镜观察为呈嗜酸性的均质状物^[9]。这些死亡的角质细胞在刮取皮肤时容易脱落,采用刮血法采集末梢血,会产生多少、大小不等的角质细胞碎片,对血细胞分析仪部分项目的检测结果造成干扰。

本研究结果显示,两种采血方法 N、M、L、E、Plt 检测结果比较,差异有统计学意义。BC5300 采用半导体激光散射技术和细胞化学染色技术,配合改良的流式分析装置对 WBC 进行精确分类^[10]。可能是由于四分类溶血剂 LEO I 的溶血强度较小,并不能完全溶解刮血法标本中的表皮角质碎片,经 LEO II 染色后根据其大小不同而落在 E、L 散点区域,使 E、L 假性升高,N、M 则相对假性减低。采用阻抗法进行 Plt,易将与其大小相近的表皮角质碎片误认为血小板,使刮血法 Plt 检查结果假性升高。同时刮血法标本因存在表皮角质碎片污染物,其“WBC 散点图分布异常”和“血小板聚集”的假报警率明显高于吸血法。镜检证实 24 例刮血法标本存在大小、多少不等的表皮角质碎片。吸血法因采用微量吸管直接吸血,避免刮取表皮角质层,60 例标本镜检未见明显表皮角质碎片,仪器假性报警也显著减少。

本研究结果显示,两种采血方法 WBC、B、RBC、Hbg、MCV 检测结果比较,差异无统计学意义。可能是在 WBC/BASO 通道中使用强溶血型试剂(LH 溶血剂),RBC 被溶解,除 B 外的其他 WBC 被裸核化,同时污染的表皮角质碎片也被溶解,因此,对 WBC、B 影响小。由于与 RBC 数量相比,污染的表皮角质碎片数量少得多,所以对 RBC 检测结果影响甚小。

另外,本研究发现 1 例吸血法仪器检测 Plt 结果偏低($55 \times 10^9/L$),WBC 散点图出现明显杂点,E 为 8%,血细胞形态学镜检发现大部分血小板呈聚集状分布,WBC 手工分类 E 仅为 1%,明显低于仪器分类。可能是仪器进行 WBC 分类时部分聚集的血小板的大小和光散射特性与 E 相似而落在该区域,使 E 假性增高。吸血法重新采血后仪器检测 Plt 结果为 $425 \times 10^9/L$,WBC 四分类散点图恢复正常,WBC 分类检测结

• 检验技术与方法 •

果仪器法与手工法接近。

综上所述,刮血法采集末梢血容易混入表皮角质碎片,对 BC5300 WBC 四分类和 Plt 产生干扰,导致仪器假报警升高。由于各种五分类血细胞分析仪检测原理的差异,表皮角质碎片对仪器的干扰可能也有差异。所以,吸血法采集末梢血明显优于刮血法,但采血过程中应避免血液凝固。

参考文献:

[1] 胡宗海,高建丽,陈蓉,等. 静脉血和末梢血血细胞检测结果分析[J]. 西南军医,2005,7(2):19-20,22.
[2] 肖秀林,王昌富,汪永红,等. 三种不同采血方式的样本进行血细胞分析的对比研究[J]. 国际检验医学杂志,2007,28(7):585-587,590.
[3] 王卫金,金玉富,杜万丽. 静脉血与末梢血检测血小板结果的比较与分析[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(9):839.
[4] 段金霞,冯涛聚,苏文凡. 两种采血方法进行血常规检验在临床应用中的研究[J]. 医学信息,2009,22(1):115-116.
[5] 何建业. SYSMEX XS-800i 血细胞分析仪检测儿童手指与静脉血标本 IP 信息提示的分析探讨[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(12):1371-1372.
[6] 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,2006:136-137.
[7] 丛玉隆. 临床实验室分析前质量管理及对策[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(8):483-487.
[8] 丛玉隆. 标本质量是保证检验结果准确的根本[J]. 中国全科医学:医生读者版,2009,12(6):32-33.
[9] 邹仲之. 组织学与胚胎学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2001:116.
[10] 张时民. 五分类法血细胞分析仪测定原理和散点图特征[J]. 中国医疗器械信息,2008,14(12):1-9,44.

(收稿日期:2012-01-08)

两种前处理流程检测 HBV DNA 的重复性比较

许琳婧,花艳艳,宋 林

(辽宁省大连市第六人民医院中心实验室 116031)

摘要:目的 为乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)定量检测提供一种快速、简便、准确的新手段。方法 采用直接煮沸法和浓缩碱裂解法(试剂盒法)提取血清样本核酸模板。收集乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)阳性患者血清 70 份,求出标本的均值、标准差,两种标本处理方法所得测定结果的比较采用配对 *t* 检验。结果 直接煮沸法与试剂盒法检测 HBV DNA 结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 采用直接煮沸法从血清中提取 HBV DNA 无需反复开盖操作,避免了交叉污染。该提取方法所获得的核酸能很好地满足荧光定量检测技术对模板的要求,既提高了工作效率,又减少了资源的浪费,省时、省电、省耗材。

关键词:聚合酶链反应; 肝炎病毒,乙型; 前处理流程

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.09.033 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)09-1100-03

在核酸定量技术的发展中荧光定量聚合酶链反应(fluorescence quantitative polymerase chain reaction, FQ-PCR)是发展最快和最有应用价值的新技术。在遗传性、感染性疾病^[1-2]或肿瘤的基因诊断^[3-4],以及监控药物和疗效^[5-6]等方面作用越来越大。特别是在乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)检测方面,因其灵敏度高、检测范围宽、定量值准确、成本低而为临床检测所常用^[7]。为保证分离核酸的完整性和纯度,本研究采用直接

煮沸法提取 HBV DNA,获得较为满意效果,希望能为 HBV DNA 检测提供一种快速、简便、准确的新手段。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 标本来源 70 份已知乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)阳性血清和 20 份已知 HBsAg 阴性血清采自 2010 年 6 月至 2011 年 6 月本院门诊及住院的各型乙型肝炎患者。标本采