

表 1 不同血红蛋白浓度的 HBsAg 阴性溶血标本的 S/CO 值 (n=3)			
血红蛋白浓度(g/L)	试剂 A 组	试剂 B 组	试剂 C 组
0	0.139±0.028	0.221±0.048	0.173±0.095
1	0.118±0.028	0.232±0.039	0.174±0.095
5	0.113±0.017	0.211±0.015	0.219±0.041
10	0.126±0.013	0.244±0.037	0.194±0.119
F	1.516	0.910	0.326
P	0.241	0.454	0.806

表 2 不同血红蛋白浓度的 HBsAg 阳性溶血标本的 S/CO 值 (n=3)			
血红蛋白浓度(g/L)	试剂 A 组	试剂 B 组	试剂 C
0	23.190±0.973	25.098±3.686	22.484±1.022
1	23.725±0.869	25.178±1.389	22.383±2.514
5	24.485±1.190	26.554±0.658	23.387±1.878
10	24.132±1.192	26.465±2.818	23.240±2.205
F	1.639	0.632	0.402
P	0.212	0.603	0.753

3 讨 论

溶血对 HBsAg 一步法检测结果的影响已有多篇文献报道,但报道不一致^[1-3],其主要原因可能因是实验中所用的检测试剂厂家不同所致。溶血对检测结果造成假阳性的主要原因是血红蛋白中的亚铁血红素和谷胱甘肽等物质具有过氧化物酶的作用,在反应过程中能非特异性吸附于聚乙烯孔内,在洗涤过程中如未完全洗脱,其可使过氧化氢释放出原生态氧,从而催化底物甲联苯胺生成可溶性物质显色,使乙型肝炎表面抗原易出现假阳性^[4-5]。2010 年 4 月颁布的中国新药典将血液筛查 HBsAg 的 ELISA 两步法纳入其中,自 2010 年 10 月 1 日起上市的 ELISA 试剂全部采用两步法,同时废除其他方法。新一代国产两步法 HBsAg ELISA 试剂盒说明书上对标本质量的要求只是提到重度溶血标本不能用于检测,未明确给出不同溶血程度标本对 HBsAg 检测结果的影响情况。

在实验中,笔者将已知的阴、阳性标本分别制成血红蛋白含量为 0、1.5、10 g/L 浓度的溶血标本,分别代表无、轻、中、重

• 检验仪器与试剂评价 •

度溶血,并采用 3 家国产 HBsAg ELISA 试剂对不同血红蛋白浓度的溶血标本进行复检。结果表明,随着溶血程度的增加,无论是阴性标本,还是阳性标本,溶血后检测计算出的 S/CO 值与无溶血标本 S/CO 值比较,差异无统计学意义($P>0.05$),且溶血后检测的阴性标本未检出假阳性,阳性溶血标本未检出假阴性。这说明,使用国产两步法 HBsAg ELISA 试剂,对于溶血标本可用于常规检测。

徐传国^[6]采用国产 ELISA 试剂对不同溶血程度的血液标本进行检测,也证实溶血对阴、阳性标本检测结果无明显影响,但他认为对于临界值附近标本有一定的影响,其原因可能是溶血造成标本稀释,使临界阳性结果造成判断上的假阴性^[7]。而 ELISA 试剂由于灵敏度的原因,有其自身局限性,在灰区内检测的阴性结果并不能排除阳性诊断。在国外,检测 HBsAg 呈阳性的标本应报告“有反应性”,必须经中和试验确认后才能报告“HBsAg 阳性”^[8]。因此,可以不考虑溶血稀释对检测结果的干扰,对于灰区标本,在条件成熟时,通过进行 HBsAg 中和试验,可以保证阳性结果的真实性。综上所述,国产两步法 HBsAg ELISA 试剂可用于溶血标本的常规检测。

参考文献

[1] 吴丽娟. 溶血标本对 ELISA 检测乙肝表面抗原的影响[J]. 赤峰学院学报:自然科学版,2012,28(6):62-62.

[2] 孙艳霞. 简要分析标本溶血对 ELISA 检测血清乙肝表面抗原的影响[J]. 标记免疫分析与临床,2009,16(4):253-254.

[3] 龚显恩. 探讨标本溶血对酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎表面抗原的影响[J]. 实用医技杂志,2008,15(14):1821-1822.

[4] 许斌,朱虎定. ELISA 检测 HBsAg 影响因素的探讨[J]. 临床检验杂志,2000,18(4):232-232.

[5] 詹彤,高美霞,薛敏,等. 溶血样本对乙肝表面抗原检测的影响[J]. 临床输血与检验,2002,4(3):46.

[6] 徐传国. 不同程度溶血对 ELISA 两步法检测 HBsAg 的影响观察[J]. 天津科技,2012(5):6-7.

[7] 陈志坚,梁余莉. 标本溶血对 ELISA 检测乙肝表面抗原的影响[J]. 广西医学,2006,28(9):1437.

[8] 黄伟,杨培华,陈健,等. 乙型肝炎病毒表面抗原确认试验的临床应用[J]. 检验医学,2008,23(2):176-178.

(收稿日期:2013-06-06)

血细胞分析仪应用于自发性细菌性腹膜炎的诊断和监测

姚晓宾,盛家和,王 丹

(河南省肿瘤医院/郑州大学附属肿瘤医院检验科,河南郑州 450008)

摘 要:**目的** 探讨血细胞分析仪在自发性细菌性腹膜炎(SBP)诊断和治疗监测中的应用。**方法** 采用手工法及仪器法对 85 例肝硬化伴腹水患者进行腹水中性多形核白细胞(PMN)计数,并将计数结果进行比较。**结果** 采用 BC-5500 全自动血细胞分析仪和手工法分别对治疗前、后的 PMN 计数的结果进行比较,差异无统计学意义($P<0.05$)。抗菌药干预 48 h 后,两种方法计数结果比较,差异仍无统计学意义($P<0.05$)。仪器法和手工法计数 PMN 的差值为 $(0.95\pm4.25)\times10^9/L$ 。以手工法 PMN 计数超过 250 个/ μL 为 SBP 诊断标准,BC-5500 全自动血细胞分析仪计数诊断的灵敏性为 100%,特异性为 97%;48 h 后 PMN 计数减少 25% 以上,BC-5500 全自动血细胞分析仪对抗菌药干预是否有效的诊断灵敏性为 93%,特异性为 100%。**结论** 采用血细胞计数仪进行腹水 PMN 计数,不但能用于 SBP 诊断,而且能用于抗菌药干预效果的监测。

关键词:血细胞计数; 腹膜炎; 中性多形核白细胞; 血细胞分析仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.057 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)21-2904-03

自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)是肝硬化伴腹水患者潜在的致命因素。SBP 在住院患者

中有 10%~30% 的发病率^[1], 尽管积极治疗, SBP 仍有约 20% 的致死率。快速诊断和及时治疗能够明显提高临床治愈率。然而, 有些 SBP 症状不明显, 细菌培养时间长, 且有 60% 的患者培养可能为阴性。因此, 推荐将中性多形核白细胞 (polymorphonuclear neutrophils, PMN) 计数超过 250 个/ μL 作为抗菌药经验用药的干预指征^[2]。目前, PMN 计数多使用传统人工方法, 费时、费力, 且重复性差, 而自动化血细胞分析仪对 PMN 计数精确, 重复性好^[3], 实际工作中也有部分医院使用血细胞计数仪对积液中白细胞进行分类计数。自动化血细胞分析仪是否可以用于 SBP 的诊断和监测未见报道, 因此, 本文通过手工法及仪器法对腹水 PMN 计数进行比较, 探讨血细胞分析仪在 SBP 诊断和监测中的应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 85 例本院肝硬化伴腹水患者, 其中, 男 62 例, 女 23 例; 平均年龄 (62.4 $\pm$ 12.4) 岁。肝硬化的诊断结合实验室检查、影像诊断及临床表现, 严格按肝功能 Child-Pugh 分级。另选择 32 例 SBP 患者, 其中, 男 24 例, 女 8 例; 平均年龄 (59.8 $\pm$ 13.4) 岁。见表 1。上述患者于住院期间行腹水穿刺, 感染症状患者于治疗 48 h 后再次穿刺。取穿刺液 10 mL 用于需氧和厌氧培养, 另分装 2 管, 采用乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)-K₂ 抗凝。其中一管用手工计数, 另一管用迈瑞 BC-5500 全自动血细胞分析仪进行细胞计数。所有标本于 2 h 内完成检测。

表 1 肝硬化伴腹水患者的病例资料

指标	受检患者	SBP 患者
<i>n</i>	85	32
性别(<i>n</i> , 男/女)	62/23	24/8
年龄(岁)	62.4 $\pm$ 12.4	59.8 $\pm$ 13.4
Child-Pugh 分级(<i>n</i> , A/B/C)	0/45/40	0/17/15
酒精肝(<i>n</i>)	21	10
48 h 治疗效果(<i>n</i> , 有/无)	—	25/7

1.2 PMN 计数

1.2.1 手工计数 用一次性塑料试管取 1 mL 抗凝腹水, 滴入 1 滴冰醋酸用于破坏红细胞, 混匀后塑料吸管取少量充入计数板, 静置 2~3 min。高倍显微镜计数, 如果 9 个大方格里的细胞少于 200 个, 计算 9 格里所有的细胞。如果 9 格里的细胞多于 200 个, 计算 4 角大方格里的所有细胞。如果 1 个大方格里的细胞多于 200 个, 计算中间 5 个中方格里的细胞。退化、间皮细胞、肿瘤细胞和不规则细胞不在计数之内。然后进行瑞氏染色, 分类计数单个核细胞与多核细胞^[4]。

1.2.2 血细胞计数仪计数 将抗凝腹水轻轻混匀, 采用迈瑞 BC-5500 全自动血细胞分析仪手动进样模式进行检测。如果腹水黏稠, 则稀释后再进行检测。PMN 计数值为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞数之和。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

采用 BC-5500 全自动血细胞分析仪和手工法分别对治疗前、后的 PMN 计数的结果进行比较, 差异无统计学意义 ($P<0.05$)。抗菌药干预 48 h 后, 两种方法计数结果比较, 差异仍无统计学意义 ($P<0.05$), 见图 1。仪器法和手工法计数 PMN 的差值为 (0.95 $\pm$ 4.25) $\times 10^9/\text{L}$ 。以手工法 PMN 计数超过

250 个/ μL 为 SBP 诊断标准, BC-5500 全自动血细胞分析仪计数诊断的灵敏性为 100%, 特异性为 97%; 48 h 后 PMN 计数减少 25% 以上, 提示抗菌药干预有效, 此时 BC-5500 全自动血细胞分析仪对抗菌药干预是否有效的诊断灵敏性为 93%, 特异性为 100%。

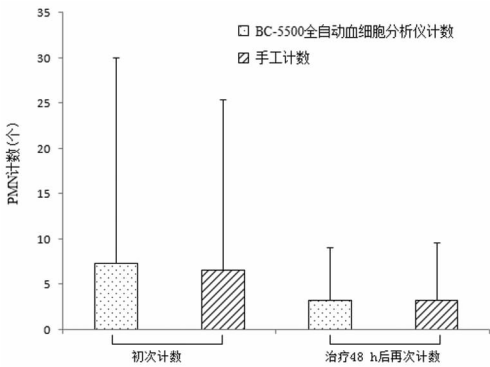


图 1 BC-5500 全自动血细胞分析仪和手工法 PMN 计数结果

3 讨论

2000 年国际腹水协会 (International Ascites Club, IAC) 发布 SBP 诊断及治疗说明, 建议以腹水细胞计数大于 250 个/ μL 作为 SBP 诊断标准, 并作为抗菌药经验干预指征。本研究中, 有感染症状的患者治疗 48 h 后, 腹水 PMN 计数减少 25% 或有明显症状减轻作为治疗有效证据, 最终以计数小于 250 个/ μL 作为治愈标准。到目前为止, PMN 计数多为手工计数, 费时、费力、重复性差。这种重复性差异存在于不同人员之间以及同一人员不同检测次数之间, 不可避免。血细胞计数仪用于胸、腹水计数, 国内、外均有报道^[5]。本实验室选用迈瑞 BC-5500 全自动血细胞分析仪和手工法进行胸、腹水计数比较, 数据显示二者计数结果相符程度高, 无统计学差异。由于血细胞计数仪操作简便、准确、重复性好, 所以考虑仪器法计数 PMN 是否可以用于诊断 SBP。这在本研究中得到验证, 手工法和仪器法具有良好的可比性, 只有 1 例手工计数 PMN 为 243 个/ μL , <250 个/ μL ; 而仪器计数 PMN 为 258/ μL , >250 个/ μL , 二者的其他数据对 SBP 的诊断均相符。因此, 血细胞计数仪 PMN 计数是一项可靠、及时的指标, 应用于 SBP 的诊断, 可为临床抗菌药干预提供简单、快捷的参考指标。

诊断为 SBP 的患者, 细菌培养及微生物敏感性试验结果需要 3 d, 抗菌药用药多建立在经验用药基础上。另有部分患者的细菌培养可能为阴性。所以, 及时获取准确的 PMN 计数对 SBP 诊断和治疗具有积极意义。治疗 48 h 后, PMN 计数减少 25%, 提示抗菌药干预有效。本研究数据显示, 治疗 48 h 后, 仪器法和手工法计数 PMN 同样具有较好的可比性, 二者无统计学差异。与手工法计数比较, 仪器法计数对同一患者不同时间点采集的样本由于重复性好, 更具有可比性。因此, 腹水 PMN 计数不但能用于 SBP 诊断, 还能够用于检测治疗效果, 及时调整抗菌药用药。

与手工法计数比较, 仪器法在计数白细胞的同时能够精确计数腹水中的红细胞, 通过计算纠正并剔除血源性 PMN 计数, 从而获取更为准确的 PMN 计数。血细胞分析仪应用于胸、腹水白细胞计数已有报道^[6-7], 有人对仪器法计数表示肯定, 也有人认为仪器法计数不能替代手工法。这里有 2 个因素需要考虑: 其一, 样本采集需添加抗凝剂, 感染性腹水含较高黏蛋白, 容易形成凝块, 使白细胞计数值减少, 黏稠的腹水在添加抗凝剂后仍会干扰结果; 其二, 恶性腹水或者腹水体内存留时间长, 白细胞形态异常或被破坏, 此时的仪器法计数结果

需经手工法确认。

综上所述,采用仪器法和手工法进行腹水 PMN 计数具有较好的一致性,仪器法简便、快捷、重复性好,可以取代手工法。采用血细胞计数仪进行腹水 PMN 计数,不但能用于 SBP 诊断,而且能用于抗菌药干预效果的监测。

参考文献

[1] Căruntu FA, Benea L. Spontaneous bacterial peritonitis: pathogenesis, diagnosis, treatment[J]. J Gastrointest Liver Dis, 2006, 15(1): 51-56.
[2] Rimola A, Garcia-Tsao G, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club[J]. J Hepatol, 2000, 32(1): 142-153.
[3] Angeloni S, Nicolini G, Merli M, et al. Validation of automated blood cell counter for the determination of polymorphonuclear cell

count in the ascitic fluid of cirrhotic patients with or without spontaneous bacterial peritonitis[J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98(8): 1844-1848.
[4] Cereto F, Genescà J, Segura R. Validation of automated blood cell counters for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis[J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99(7): 1400.
[5] 许贤姬. 68 例肝硬化伴发自发性细菌性腹膜炎临床病例分析[D]. 长春: 吉林大学, 2004: 1-48.
[6] 何银华, 颜宇飞, 蔡峥, 等. Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪计数胸腹水有核细胞的评价[J]. 检验医学, 2011, 26(4): 18-20.
[7] 王志富, 臧玉龙, 付艳荣, 等. 利用三分类血细胞分析仪快速做脑脊液和胸腹水细胞计数及分类的方法[J]. 医学检验与临床, 2006, 17(5): 79-80.

(收稿日期: 2013-05-16)

• 检验仪器与试剂评价 •

不同分析原理 POCT 血糖仪的测定结果分析

梅 松, 张 家[△], 顾光煜, 王 军, 张宏伟, 薛晓红

(南京大学医学院附属鼓楼医院检验科, 江苏南京 210008)

摘要:目的 比对床旁检测(POCT)血糖仪的测定结果与主要性能,初步分析不同分析原理可能对血糖仪测定结果的影响。方法 用生产厂家校准过的葡萄糖氧化酶光化学法、葡萄糖氧化酶电化学法和葡萄糖脱氢酶电化学法 3 种分析原理的 POCT 血糖仪[强生稳步倍加型血糖仪(仪器Ⅱ)、强生稳豪倍优型血糖仪(仪器Ⅲ)、罗氏优越 AdvantageⅡ型血糖仪(仪器Ⅳ)]进行精密度实验和配对比对实验,并将其与日立公司 7600-020 生化分析仪(仪器Ⅰ)测定结果进行性能比较分析。结果 仪器Ⅱ、仪器Ⅲ及仪器Ⅳ的血糖测定精密度实验结果分别为 5.45、5.54 和 5.53 mmol/L,测定结果差异无统计学意义($P>0.05$);3 种血糖仪测定变异系数(CV)分别为 2.48%、3.07%和 2.17%;3 种血糖仪与仪器Ⅰ血糖测定的配对实验直线斜率分别为 0.972、0.978 和 0.949,直线相关系数为 0.958、0.946 和 0.981。结论 三种分析原理血糖仪测定精密度符合国家标准,测定结果无统计学差异,与生化分析仪配对比较具有良好的直线回归和直线相关关系,可以满足临床快速血糖测定和患者的血糖自我监测的需要。

关键词:葡萄糖氧化酶; 葡萄糖脱氢酶; 电化学; 反射光度技术; 血糖仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.058 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)21-2906-02

床旁检测(point of care testing, POCT)血糖仪具有测定快速、携带方便、操作简单、用量少等突出优点而广泛应用于医院实验室快速测定血糖和患者的血糖自我监测。从分析原理分类,POCT 血糖仪主要有葡萄糖氧化酶光化学测定法、葡萄糖氧化酶电化学测定法和葡萄糖脱氢酶电化学测定法 3 种类型。由于 POCT 血糖仪多用末梢血测定血糖且受仪器性能、测定环境的温度与湿度以及操作者的熟练程度的影响,检测结果差异较大。关于 POCT 血糖仪测定结果与生化分析仪的比对研究、POCT 血糖仪的质量管理特别是标本因素对其测定的影响已有诸多报道^[1-2],不同原理的 POCT 血糖仪的分析性能如何,尚未见报道,为此,笔者对 3 种原理的 POCT 血糖仪的测定结果进行了比较分析,并将其与日立全自动生化分析仪己糖激酶法血糖测定结果进行了比对分析,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 主要仪器:日立公司 7600-020 生化分析仪(仪器Ⅰ)、强生公司稳步倍加型血糖仪(仪器Ⅱ,葡萄糖氧化酶光化学法)、强生公司稳豪倍优型血糖仪(仪器Ⅲ,葡萄糖氧化酶电化学法)、罗氏公司优越 AdvantageⅡ型血糖仪(仪器

Ⅳ,葡萄糖脱氢酶电化学法)。主要试剂:四川迈克公司已糖激酶葡萄糖测定试剂、稳步倍加型血糖仪配套测定试纸(批号 3292932011)、稳豪倍优型血糖仪配套试纸(批号 3299013)、优越 AdvantageⅡ型血糖仪配套试纸(批号 571806)。

1.2 方法 校准仪器后进行实验。

1.2.1 精密度实验 取肝素抗凝全血 1 份,分别用 4 种仪器测定血液葡萄糖 20 次,记录测定结果,计算各方法血糖测定结果的最大值、最小值、平均值、标准差和变异系数(coefficient of variation, CV),并与仪器Ⅰ测定结果进行比较,并进行样本均数的显著性检验。

1.2.2 比对实验 采集临床患者新鲜全血 46 份,血液葡萄糖浓度范围 4.48~9.47 mmol/L、中位值 5.2 mmol/L、平均值 5.63 mmol/L(浓度范围值为仪器Ⅰ测定结果),用 4 台仪器分别测定血液葡萄糖,记录测定结果,计算各方法血糖测定结果的最大值、中位数、最小值和平均值,并与仪器Ⅰ测定结果进行直线相关和回归分析以及相关系数的显著性检验。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $\alpha=0.05$ 为显著

[△] 通讯作者, E-mail: zj704@tom.com。