

• 检验仪器与试剂评价 •

乳糜血标本对血细胞分析仪测定结果影响因素的探讨^{*}

曹寒沁¹, 金胜航^{2△}, 吴敏瑾¹

(1. 浙江大学医学院附属第一医院检验科, 杭州 310003; 2. 浙江大学医学院附属第二医院检验科, 杭州 310009)

摘要:目的 评价乳糜血标本血浆置换前后对血细胞分析仪测定结果影响的临床应用价值。方法 采集乳糜血标本 22 例, 使用血细胞分析仪对血浆置换前后的标本进行检测, 并与手工显微镜计数结果进行比对。结果 非乳糜血样本 WBC、NEU、LY、MO、RBC、HGB 和 PLT 结果与置换前的原始血样本测定结果的差异无统计学意义 ($P>0.05$); 在 22 例乳糜血样本检测中, WBC 计数分类、HGB、PLT 在置换前后结果差异有统计学意义 ($P<0.05$), 置换后乳糜血标本血细胞分析仪 WBC 计数分类和 PLT 结果与显微镜计数法相关性较好 ($r^2=0.936$; $r^2=0.918$); 在三酰甘油的干扰试验中, 发现 WBC 计数分类、HGB、PLT 结果会随着三酰甘油浓度的增加而变化。结论 采用血浆置换方法可以明显改善乳糜血标本对血细胞分析仪测定结果的影响, 为临床提供准确的结果。

关键词:血细胞分析仪; 乳糜血; 血浆置换

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.049

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)13-1776-03

Study on influencing factors of chylemia sample on testing results of hematological analyzer^{*}

Cao Hanqin¹, Jin Shenghang^{2△}, Wu Minjin¹

(1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310003, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310009, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical application value of influence of chylemia specimen before and after blood plasma exchange on the detection results of hematological analyzer. **Methods** 22 chylemia specimens were collected, then the hematological analyzer was used to test the chylemia specimens before and after blood plasma exchange, and the results were compared with those detected by the manual microscopic counting. **Results** The detection results of WBC, NEU, LY, MO, RBC, HGB and PLT in the non-chylemia specimens and the original blood specimens before blood plasma exchange had no statistically significant differences ($P>0.05$); in 22 cases of chylemia specimens, the WBC count and classification, and the mean value of HGB and PLT before and after blood plasma exchange in the chylemia specimens had statistically significant differences ($P<0.05$), the WBC count and classification, and PLT mean value after blood plasma exchange in the chylemia specimens by the hematological analyzer had good correlation with those detected by the microscopic counting method ($r^2=0.936$, $r^2=0.918$). In the triglyceride interference test, the WBC count and classification, and the mean value of HGB and PLT could be changed with the increase of the triglyceride concentration. **Conclusion** Adopting the blood plasma exchange method could obviously improve the influence of chylemia specimens on the detection results by the hematological analyzer and provide the accurate results for clinic.

Key words: blood cell analyzer; chylemia; plasma exchange

血细胞分析仪已普遍应用于临床, 有很多因素可对血细胞分析仪的计数参数产生影响, 尤其在某些病理因素影响下。已有文献报道乳糜血或脂血标本可以对免疫、生化、凝血等项目检测带来影响^[1-3], 在血常规检验中这种影响同样存在, 特别是使用全自动血细胞分析仪和抗凝静脉血时, 对检测结果影响明显, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 COULTER-LH750 血细胞分析仪和配套试剂、质控物, 仪器经校准, 准确度、精密度良好; 水平离心机; 定量加样器。

1.2 标本 血常规测定标本为 EDTA-K₂ 抗凝静脉血 2 mL。乳糜血标本 22 例, 来自本院住院患者。男 12 例, 年龄 33~65

岁; 女 10 例, 年龄 36~58 岁。

1.3 方法 采集血常规标本后立即上机检测, WBC 手工计数分类、PLT 计数按《全国临床检验操作规程》第 3 版进行。然后把标本以 3 000 r/min 离心 5 min, 用定量加样器吸出上层血浆, 补充同等量的分析仪稀释液混匀置换 3 次, 最后与吸出血浆等量的稀释液标本轻轻混匀后进行检测。

1.4 干扰标本的制备 采集健康自愿者 EDTA-K₂ 抗凝静脉血 20 mL, 以上述分离血浆配制含一定浓度梯度三酰甘油的血浆, 浓度为 1.76~56.50 mmol/L, 再与血细胞等比例混匀成待测乳糜全血标本上机检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 显著性检验采用配对 t 检验, 相关性分析应用回

^{*} 基金项目: 浙江省教育厅科研项目 (Y201225876)。 作者简介: 曹寒沁, 男, 检验师, 主要从事全自动分析仪在细胞检验及体液检验中的应用研究。 [△] 通讯作者, E-mail: jsh_hz@hotmail.com。

归相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 置换血浆对非乳糜血样本结果的影响 采用 RBC、HGB、WBC 和 PLT 低、正常及高值的 10 例非乳糜血标本,在血细胞分析仪上测定,然后进行 3 次分析仪稀释液混匀置换,再测定结果。测定结果与原样本均值的差异,见表 1。

表 1 非乳糜标本血浆置换前后的结果($\bar{x}\pm s$)				
项目	原始标本	置换标本	<i>t</i>	<i>P</i>
WBC($\times 10^9/L$)	6.13 $\pm$ 2.01	6.16 $\pm$ 1.97	0.547	0.751
NEU(%)	63.50 $\pm$ 6.28	64.04 $\pm$ 6.17	1.162	0.286
LY(%)	33.59 $\pm$ 6.01	33.83 $\pm$ 6.17	0.376	0.525
MO(%)	2.49 $\pm$ 0.89	2.53 $\pm$ 0.93	-0.297	0.687
RBC($\times 10^{12}/L$)	4.61 $\pm$ 0.89	4.59 $\pm$ 0.83	-4.258	0.715
HGB(g/L)	125.80 $\pm$ 8.80	124.40 $\pm$ 8.50	0.763	0.471
PLT($\times 10^9/L$)	191.30 $\pm$ 17.80	186.20 $\pm$ 20.30	0.792	0.468

2.2 乳糜血标本对血细胞分析仪结果的影响 22 例乳糜标本经稀释液 3 次置换前后结果均值差异的比较,结果见表 2。

表 2 乳糜标本血浆置换前后的结果($\bar{x}\pm s$)				
项目	置换前标本	置换后标本	<i>t</i>	<i>P</i>
WBC($\times 10^9/L$)	9.83 $\pm$ 2.89	8.63 $\pm$ 2.62	2.745	0.018
NEU(%)	43.50 $\pm$ 5.33	61.40 $\pm$ 4.75	1.116	0.016
LY(%)	50.90 $\pm$ 3.38	33.80 $\pm$ 3.06	3.276	0.005
MO(%)	3.20 $\pm$ 1.17	2.80 $\pm$ 1.12	-0.247	0.047
RBC($\times 10^{12}/L$)	4.25 $\pm$ 1.69	4.19 $\pm$ 1.51	2.515	0.263
HGB(g/L)	138.80 $\pm$ 6.80	126.40 $\pm$ 7.30	3.163	0.013
PLT($\times 10^9/L$)	207.30 $\pm$ 18.30	176.20 $\pm$ 20.30	2.492	0.047

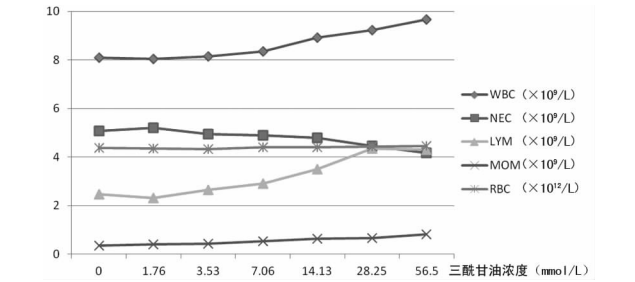


图 1 乳糜标本对 WBC 计数分类、RBC 值的影响

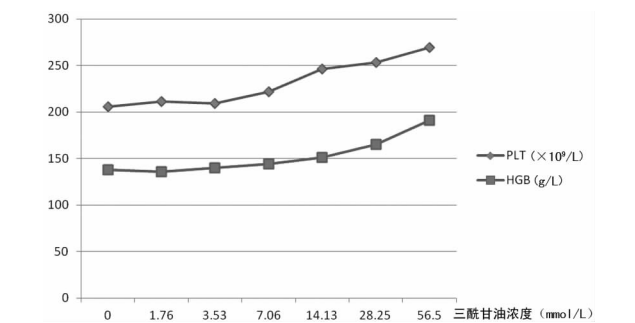


图 2 乳糜标本对 PLT、HGB 值的影响

2.3 含乳糜干扰样本的测定结果 随着三酰甘油浓度增高,

WBC 计数分类、PLT 和 HGB 值均有明显改变,RBC 值未见明显改变,结果见图 1、2。

2.4 血细胞分析仪测定乳糜血标本置换前后结果与显微镜分类计数法的相关性 置换前乳糜血标本血细胞分析仪 WBC 分类计数和 PLT 计数结果与显微镜计数法相关性较差($r^2=0.712$; $r^2=0.687$);置换后乳糜血标本血细胞分析仪 WBC 分类计数和 PLT 计数结果与显微镜计数法相关性较好($r^2=0.936$; $r^2=0.918$),结果见图 3。

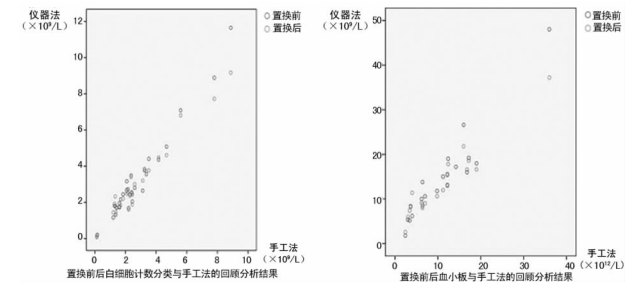


图 3 置换前后白细胞计数分类、血小板计数与手工法的回顾分析结果

3 讨 论

乳糜或脂血标本一般由脂类代谢异常、淋巴管阻塞、治疗性输注脂肪乳剂等因素造成。应用流式细胞术和电阻抗原理的血细胞分析仪对于检测环境和成分相对固定的正常血液细胞进行分类计数,达到了一定的准确性,在实际工作中,经常发现有些病理因素会对仪器产生一些影响^[4],特别是检测乳糜血标本、黄疸标本、冷凝集标本时,细胞不分类或分类但散点图明显异常,导致检测结果不准确^[5-6],对临床患者的治疗产生影响。COULTER-LH750 血细胞分析仪是根据容量、电导、光散射(VCS)技术对血细胞进行检测^[7],不是完全按照血细胞形态学检查,因此无论仪器的技术性能多么先进,检测灵敏度多高,其检测结果都可能受到一些环境因素及理化因素的干扰,特别是检测标本性状出现异常时,便会和计数、分类的准则——显微镜形态学检查这一客观指标发生偏差。

通过试验数据表明(结果见表 1)经过置换,非乳糜血样本 WBC、NEU、LY、MO、RBC、HGB 和 PLT 结果与置换前的原始血样本测定结果的差异无统计学意义($P>0.05$),表明用等量的稀释液标本置换方法是可行的。在 22 例乳糜血样本检测中,WBC、HGB、PLT 均值置换后结果明显降低,WBC 分类比例也发生明显变化(结果见表 2),与乳糜血测定的均值结果差异有统计学意义($P<0.05$),而且与显微镜分类计数法的相关性良好,说明置换已经基本消除乳糜现象的干扰。在三酰甘油的干扰试验中,发现 WBC 分类计数、HGB、PLT 值会随着三酰甘油浓度的增加而改变。当加入的三酰甘油在 7.00 mmol/L 以内,对 WBC 结果影响较小;当加入的三酰甘油在 14.00 mmol/L 时,WBC 升高明显,直方图在淋巴细胞处出现一类似干扰峰,三酰甘油浓度越高越明显,其原因可能是乳糜颗粒吸附在 RBC 表面影响了部分 RBC 的溶血速度,造成部分 RBC 被错误计数为 WBC,同时乳糜颗粒可能会造成细胞存在的微环境发生改变从而影响 WBC 体积的变化,出现 WBC 计数分类的误差。HGB 是随三酰甘油浓度(1.76~56.50 mmol/L)增加,升高了 5 g/L。血细胞分析仪采用溶血剂溶解 RBC 释放 HGB,在特定波长测定溶液吸光度的方法来测定 HGB,溶液颜色与 HGB 水平呈正比,比色法遵循朗伯-比(下转第 1780 页)

释血浆加入一定量的凝固酶后,血浆的凝固时间与血浆纤维蛋白原浓度呈反比,用已知浓度的纤维蛋白原血浆绘制成的标准曲线求出纤维蛋白原的浓度。因操作简便,结果较 PT 衍算准确,所以越来越广泛地应用于临床自动化血凝仪^[4]。

纤维蛋白原是一种在肝脏合成的急性期反应蛋白,其主要生理功能是作为凝血因子 I 直接参与体内凝血过程^[5]。纤维蛋白原是所有凝血因子中浓度最高的一种凝血蛋白,其浓度的改变是机体的一种非特异性反应,在许多疾病时均出现血浆纤维蛋白原水平的改变,并且纤维蛋白原对血液流变学又有很大影响,造成疾病的组织、器官进一步缺血。因此,纤维蛋白原浓度测定在判断疾病的发生、发展上具有重要的意义,可应用于 DIC 的诊断监测、机体感染和炎症的诊断、血栓倾向的诊断和冠心病、糖尿病、恶性肿瘤、肾病、肝病等诊疗^[6]。

本研究采用国产试剂在日本 Sysmex CA1500 血凝仪上进行临床性能验证,建立本地区健康人群的参考值范围。和目前临床普遍认为质量较好的德国西门子 Dade Thrombin Reagent 试剂比对,其精密度和进口试剂比较无差异,结果可靠。国产试剂成本低于进口试剂,适合在临床推广应用^[7]。其线性范围、回收试验及干扰试验、灵敏度及 Cutoff 值在以后的应用中,有待于进一步研究验证^[8]。

另外,在本次某国产试剂与“已有同品种批准上市”产品的临床试验中,与已批准上市的德国西门子 Dade 试剂针对临床样本进行对比试验研究,证明本品与已上市产品等效^[9],采用了等效性检验的方法,与临床等效界值比较,更能验证其临床性能。在实际应用中,常有人将等效性检验等同于差异性检验不拒绝零假设的情形,有研究表明,差异性检验为 $P > \alpha$,等效性检验结果为等效结论的比例会随着样本量的增加而增加,当样本量大于 150 时,在差异性检验结果 $P > \alpha$ 时,等效性检验为等效结论者达 100%^[10]。反之,若差异性检验为 $P < \alpha$,尤其当 P 在 α 附近时,更应注意统计学意义和实际意义的区别,因为在假设检验样本量足够大时,更容易得出差别有统计学意义

的结论,所以也不能轻易证明二者不等效,一定要采取等效性检验的方法,结合有临床意义的临床等效性界值 δ 来判断。本次试验等效性检验和差异性检验结果不相符,也说明了这一点,提醒研究者在以后的临床试验中要注意两种统计学方法的差异,不能以差异性检验代替等效性检验,并注意样本量的大小。

参考文献

- [1] 王振义,李家增. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004:636-638.
- [2] 李黎. 两种常用方法测定血浆纤维蛋白原的临床评价[J]. 检验医学与临床,2013,10(1):64-65.
- [3] 颜虹,徐勇勇,赵耐青. 医学统计学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:292-304.
- [4] 郭桂英,郭勇,余世金,等. 同一仪器不同试剂测定纤维蛋白原的方法评价[J]. 检验医学与临床,2012,9(12):1438-1439.
- [5] 王鸿利,王学峰. 血栓病临床新技术[M]. 北京:人民军医出版社,2003:365-368.
- [6] 王晓明. 糖尿病肾病患者 D-二聚体和纤维蛋白原检测的应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(11):256-257.
- [7] 许小英,于海涛,周存敏,等. 某型号全自动血凝分析仪的性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11):1361-1362.
- [8] Huang FD, Yan ZB, Liao LS. Verification of linear range of determination of platelet by XE2100[J]. Exp Lab Med, 2010, 28(1): 99-102.
- [9] 国家食品药品监督管理总局. 体外诊断试剂临床研究技术指导原则[Z]. 北京:国家食品药品监督管理总局,2007.
- [10] 安胜利,陈平雁. 等效性检验与差异性检验的区别及其模拟验证[J]. 中国卫生统计,2007,24(3):226-228.

(收稿日期:2014-01-08)

(上接第 1777 页)

尔定律。如果被测溶液里含过多的乳糜颗粒会产生浑浊干扰测定结果,而且乳糜颗粒也会影响溶血剂的溶血速度,造成 RBC 破坏不完全而影响结果^[8]。乳糜颗粒大小在 7.0~9.0 fL,和小血小板直径相近易产生干扰,三酰甘油浓度高于 14.00 mmol/L 时,PLT 直方图会出现异常使测定结果明显偏高。RBC 值经置换,均与未置换前样本差异无统计学意义($P > 0.05$)。

乳糜现象程度的不同对血细胞分析仪的影响幅度不等。某些血细胞分析仪有浑浊/血红蛋白(Turb/HGB)等类似的提示信息,或出现 RBC 和 HGB 比例失调时,应特别予以关注,对间接判断乳糜血现象有很大帮助。在置换血浆过程中,对难以区分乳糜血浆、PLT 和 WBC 界限层的,可分多次分离,尽量避免触及 PLT 和 WBC 层,以免人为因素造成结果的差异。因此,当临床出现特殊病例时,检验医师要特别注意病理及生理因素对实验结果的影响,加强与临床沟通,为临床提供准确的结果。

参考文献

- [1] 李丽琴,洪军,刘晶. 乳糜血对 AFP、CEA 放免检测的影响[J]. 放

射免疫杂志,2004,17(2):290-292.

- [2] 韩丽红,张利芳,邢少姬. 乳糜血对干化学法和湿化学法测定清蛋白和 ALT 活性的干扰[J]. 包头医学院学报,2010,26(1):52-53.
- [3] 许顺姬,朴美花. 标本放置时间及溶血、乳糜血对 PT 和 APTT 的影响[J]. 现代检验医学杂志,2007,22(1):128-130.
- [4] 乐家新,王海红,傅岩. 白细胞直方图的特点与临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(2):270-272.
- [5] Grimaldi E, Scopacasa F. Evaluation of the Beckman-Coulter Gen-S hematology analyzer[J]. Lab Hematol, 1998, 4(2): 264-268.
- [6] 乐家新,马骏龙,徐菡,等. 红细胞冷凝集对不同类型血细胞分析仪检测结果的影响探讨[J]. 医疗卫生装备,2009,30(1):69-71.
- [7] Igout, Fretigny M, Vasse M, et al. Evaluation of the Coulter LH750 haematology analyzer compared with flow cytometry as the reference method for WBC, platelet and nucleated RBC count[J]. Clin Lab Hematol, 2004, 26(1): 127-129.
- [8] 田薇薇,邢桂英,田敏丽,等. 乳糜血对血红蛋白测定的影响和去除方法的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(6):708-709.

(收稿日期:2014-01-23)