

[4] Katz MH. Multivariable analysis; a primer for readers of medical research[J]. Ann Intern Med. 2003, 138(8): 644-650.

[5] 董秀玥. 医学期刊中的生存分析及存在的问题[J]. 数理医药学杂志, 2003, 16(5): 421-422.

[6] 胡志德, 胡成进, 邓安梅. 国内检验医学临床研究常见科研设计缺陷与统计错误辨析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 239-241.

• 检验科与实验科管理 •

陷和统计学错误辨析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 239-241.

(收稿日期: 2014-01-25)

血液分析溶血标本的影响及其识别、处理方法

肖秀林

(荆州市中心医院检验医学部, 湖北荆州 434020)

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 074 文献标识码: B 文章编号: 1673-4130(2014)12-1664-02

溶血标本在临床上非常常见, 各级临床实验室都非常关注, 它是引起检验分析前误差的主要原因之一。由于血细胞破坏、高浓度组分的逸出、某些血细胞组分对化学反应的干扰^[1-2], 使得溶血标本的诸多检测结果受到影响。本文通过工作中遇到的 1 例典型案例谈谈溶血标本对血液分析检测结果的影响、血液分析溶血标本的识别与处理方法。

1 溶血标本对血液分析检测结果的影响

溶血标本对很多检验结果会造成明显的影响, 其对血液分析结果的影响主要表现在红细胞数(RBC)、血小板数(PLT)、红细胞比容(HCT)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度(RDW)等几个参数, 对于没有有核红细胞检测功能的血液分析仪, 当标本内有较多有核红细胞时, 其 WBC 计数结果亦会假性增高。标本溶血时, 由于红细胞破坏增加, 导致红细胞数减少, 进而导致 HCT 下降、MCHC 上升; 同时由于红细胞破坏产生较多红细胞碎片导致使用血液分析仪检测血小板数会假性增高, 有时增高会非常显著。本实验室曾发现 1 例重症肝炎并发血管内溶血患者, 随着病情的加重, 其胆红素、血清钾离子浓度呈进行性升高; 红细胞数呈进行性下降, 从 $5.44 \times 10^{12}/L$ 降至 $4.18 \times 10^{12}/L$; HCT 从 0.388 降至 0.287; MCHC 从 334.1 g/L 上升至 372.5 g/L; RDW 逐步增大, 从 17% 上升至 26%; 仪器检测血小板数呈进行性升高, 从 $212 \times 10^9/L$ 升至 $959 \times 10^9/L$, 但其血小板显微镜计数结果并无明显变化; 涂片镜检发现较多异形红细胞、红细胞碎片及有核红细胞, 其仪器法血小板数假性增高主要为红细胞碎片干扰所致。由此可见溶血标本对血液分析检测结果的影响之大足以导致临床误诊误治。

2 血液分析溶血标本的识别与处理方法

2.1 血液分析溶血标本的识别 在实际工作中, 由于血液分析标本量较大, 检验人员在观察血液分析标本时关注的重点通常是标本内是否有凝块、是否稀释了、标本量是否足够、是否出现冷凝集等。由于溶血现象通常是在红细胞下沉、分离出血浆之后才被察觉^[3], 因此在初步观察血液分析标本合格与否时特别容易忽视, 且血液分析标本是混匀后进行检测, 因此, 对于血液分析标本的溶血情况在上机检测之前特别容易漏检, 这就要求检验人员在清理血液分析标本时, 首先应注意观察上层血浆有无溶血后再进行下一步观察, 养成观察血液分析标本的良好习惯。要求检验人员在审核每一个血液分析结果时, 须认真分析仪器检测的原始数据、直方图、散点图、示警信息, 同时还需结合临床相关信息综合考虑, 以及早识别溶血的标本。

血液分析仪检测溶血标本, 除对上述 RBC、HCT、MCHC、RDW、PLT 等参数检测结果有显著影响外, 其 RBC 直方图、PLT 直方图、WBC 直方图亦会有相应的改变, 图 1(见《国际检

验医学杂志》网站主页“论文附件”)显示的是上述重症肝炎并发血管内溶血患者使用 Coulter LH750 血液分析仪进行血液分析检测的 RBC 直方图、PLT 直方图、WBC 直方图和散点图, 其中 RBC 直方图的左侧曲线起始部抬高, 脱离横坐标; PLT 直方图不呈偏态分布的单峰光滑曲线, 其左、右侧均抬高, 且呈锯齿状, 没有拟合曲线, 如与 RBC 直方图联合观察, 会发现 PLT 直方图的右侧与 RBC 直方图的左侧具有连续性; WBC 直方图淋巴细胞峰左侧区域明显异常, 结合散点图观察可能为有核红细胞及难溶性红细胞所致, 经涂片镜证实血片中含有有核红细胞。对于体外原因所致溶血标本, 其 WBC 直方图与散点图通常没有明显的变化。上述各种图形的变化存在一定的内在联系, 所以在分析时, 要注意联合观察检测的原始数据、各种图形、示警信息, 以便做出正确的判断。

2.2 血液分析溶血标本的处理方法 对于有溶血现象的血液分析标本, 应积极与临床联系, 了解病情, 向临床告知标本溶血情况, 建议重新抽血核实, 以区分标本是体外溶血还是体内溶血^[4]。对于证实为体外溶血的标本, 重新采用合格标本进行检测即可。对于体内溶血标本, 必须采取相应措施纠正仪器法血液分析的某些错误结果, 如采用草酸铵显微镜计数法或流式细胞术免疫血小板计数法进行血小板计数; 当使用的血液分析仪没有有核红细胞检测功能时, 应涂片镜检观察血片中是否存在有核红细胞, 如发现核红细胞, 则须对 WBC 结果进行校正。

3 小 结

溶血标本是检验分析前误差的常见原因, 可影响血液分析多个参数的检测结果^[5-6]。为尽量避免血液分析溶血标本在上机检测之前漏检, 检验人员在清理标本时应注意先观察上层血浆的颜色, 判断是否有溶血后再进行下一步的观察, 养成观察血液分析标本的良好习惯。同时, 检验人员在审核结果时须注意收集标本、仪器检测信息、临床相关信息进行综合评估, 及时发现异常情况, 采取有效措施纠正血液分析仪错误的检测结果。在工作中, 检验工作者还需加强与临床的沟通, 提高标本采集的质量, 优化标本的处理方法, 尽量避免体外溶血对检验结果的影响, 提高检验质量, 保证检验报告的准确性, 更好地为临床和患者服务。

参考文献

[1] Sonntag O. Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry[J]. J Clin Chem Clin Biochem, 1986, 24(2): 127-139.

[2] Guder WG. Haemolysis as an influence and interference factor in clinical chemistry[J]. J Clin Chem Clin Biochem, 1986, 24(2): 125-126.

[3] 阴斌霞, 王香玲, 赵丽华, 等. 溶血对生化检验准确性(下转插 II)

(上接第 1661 页)

硬化甚至肝癌,严重威胁人类健康。HBV 感染后的疾病转归与机体免疫功能密切相关^[1]。细胞因子是机体免疫系统的重要组成部分,在 HBV 感染中发挥非常重要的免疫作用^[2]。白细胞介素(IL)-33 是新发现的一种细胞因子,属 IL-1 家族,具有多种生理功能,与其受体 ST2 结合后可调节机体炎症反应和免疫应答^[3]。本研究检测慢性乙型肝炎患者血清中 IL-33 及其可溶性受体 ST2(sST2)的表达水平,并探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 10 月至 2013 年 3 月间于本院进行诊治的 69 例慢性 HBV 感染者作为观察组,其中男性 39 例,女性 30 例,17~66 岁,平均年龄(47.3±4.9)岁。诊断标准参照 2010 年制定的《慢性乙型肝炎防治指南》。所有患者入院 6 个月内未使用过免疫抑制剂及其他能导致肝脏毒性的药物治疗。排除合并其他病毒感染及合并其他系统严重疾病的患者。并于相同时间段内选取 70 例健康体检者作为健康对照组,其中男性 36 例,女性 34 例,22~59 岁,平均年龄(43.2±6.2)岁。

1.2 方法 所有研究对象入院或体检当天清晨抽取静脉血,离心分离血清-20℃保存待行血清学检测。标本收集完成后统一应用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(购于美国 R&D 公司)检测血清中 IL-33 和 sST2 水平,严格按照试剂说明书进行操作。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 对所得数据进行统计学分析,正态分布计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布数据使用中位值和四分位距(IQR)进行描述。计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用 *t* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

观察组及健康对照组在年龄、性别方面没有统计学差异(*P*>0.05),具有可比性。观察组患者血清中的 IL-33 及其受体 sST2 的水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

表 1 2 组研究对象血清中 IL-33、sST2 检测结果		
指标	观察组	健康对照组
IL-33(pg/mL,IQR)	57.1(23.7~138.5)*	20.5(9.3~67.5)
sST2(μg/mL,IQR)	11.72(6.94~14.88)*	0.07(0.03~0.12)

* : *P*<0.05,与健康对照组比较。

3 讨论

目前乙型肝炎的发病机制尚未完全阐明。HBV 复制不会直接导致肝脏损伤,机体清除病毒过程中产生的免疫反应为造成肝脏的炎症反应和损伤的主要原因^[4]。正常情况下 Th1/Th2 型免疫反应间处于动态平衡状态,Th1/Th2 类细胞因子失衡是病毒性肝炎慢性化和不良临床转归的重要影响因素^[5-6]。IL-33 属 IL-1 家族,其特异性受体是 ST2,分为 sST2 和跨模性 ST2(ST2L)两种。ST2L 主要选择性表达于 Th2 型细胞表面。病毒感染时 IL-33 作为前炎症细胞因子释放到细胞外时,与靶细胞表面 ST2L 结合后激活下游的信号转导分

子,进而影响 IL-4、IL-5、IL-13 及 IFN-γ 等多种细胞因子的产生与分泌,导致 Th1/Th2 免疫应答失衡,向 Th2 型免疫反应倾斜,促使炎症反应发展而使感染慢性化。而 sST2 能够与 ST2L 竞争性结合 IL-33 进而抑制 IL-33 的免疫活性^[7]。

本研究结果显示慢性乙肝患者外周血中 IL-33 和 sST2 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。IL-33 在胃肠道、肺、皮肤及肝脏等多种组织细胞中均有表达,机体在清除 HBV 时产生的免疫应答导致肝细胞损伤,坏死的肝细胞可释放 IL-33,继而诱导 Th2 类细胞因子的分泌,使感染趋向于慢性化^[8]。研究表明肝衰竭患者体内 IL-1β、TNF-α 和 IL-6 水平升高,这些细胞因子高表达刺激 sST2 水平升高^[9],提示 sST2 水平的增高可能与机体免疫应答过度活化有关,为防止 IL-33 诱导的免疫应答过度激活,是机体下调炎症应答的一个代偿机制。

本研究初步探讨了 IL-33 及其可溶性配体水平在慢性乙型肝炎中的表达情况及临床意义。后续研究将探讨代表慢性乙型肝炎患者不同疾病状态的指标(HBV DNA、肝功能指标等)与 IL-33、sST2 间的相关性,明确 IL-33 及其配体在慢性乙型肝炎免疫调节中的作用,为阐明慢性乙型肝炎发病机制和疾病免疫治疗提供理论依据。

参考文献

[1] 李茜,杨霞.天然免疫细胞对急性 HBV 感染作用机制研究进展[J].免疫学杂志,2011,27(6):537-540.

[2] Abe M,Onji M. Mechanisms of the immune response against HBV infection[J]. Nihon Rinsho,2011,69 Suppl 4:369-373.

[3] Sattler S,Smits HH,Xu D,et al. The evolutionary role of the IL-33/ST2 system in host immune defence[J]. Arch Immunol Ther Exp,2013,61(2):107-117.

[4] Healy SA,Gupta S,Melvin AJ. HIV/HBV coinfection in children and antiviral therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2013,11(3):251-263.

[5] Zhang W,Wang J,Su B,et al. Cimetidine augments Th1/Th2 dual polarized immune responses to recombinant HBV antigens[J]. Vaccine,2011,29(29):4862-4868.

[6] 宋春辉,杨斌,陈黎明,等.恩替卡韦抗病毒治疗与慢性乙型肝炎患者外周血 Th1 及 Th2 细胞变化的研究[J].解放军医学杂志,2010,35(12):1465-1467.

[7] Wang X,Podila R,Shannahan JH,et al. Intravenously delivered graphene nanosheets and multiwalled carbon nanotubes induce site-specific Th2 inflammatory responses via the IL-33/ST2 axis[J]. Int J Nanomedicine,2013,8:1733-1748.

[8] Blom L,Poulsen LK. IL-1 family members IL-18 and IL-33 upregulate the inflammatory potential of differentiated human Th1 and Th2 cultures[J]. J Immunol,2012,189(9):4331-4337.

[9] Sekiyama KD,Yoshiba M,Thomson AW. Circulating proinflammatory cytokines(IL-1β,TNF-α,and IL-6) and IL-1 receptor antagonist(IL-1Ra) in fulminant hepatic failure and acute hepatitis[J]. Clin Exp Immunol,1994,98(1):71-77.

(收稿日期:2014-01-18)

(上接第 1664 页)

的影响及纠正[J].现代检验医学杂志,2007,22(6):25-29.

[4] 辛小明.溶血对新生儿黄疸检验结果的影响[J].基层医学论坛,2011,15(31):1039-1040.

[5] 侯文权,周凌云,侯文锋,等.不同标本类型对临床生化项目结果

的影响[J].国际检验医学杂志,2011,32(16):1834-1835.

[6] 王海英.血液生化检测分析各阶段质控影响因素的探讨[J].临床和实验医学杂志,2013,12(9):725-726.

(收稿日期:2014-01-12)