

• 个案与短篇 •

1 例异常球蛋白血症致血细胞分析仪计数结果异常处理及分析

朱文波,倪 军,沈 翰

(南京大学医学院附属南京鼓楼医院医学检验科,南京 210008)

关键词:血细胞分析; 异常球蛋白血症; 处理

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.060

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2017)12-1724-03

虽然血细胞分析仪可快速提供检测结果,但影响血细胞分析结果的因素较多,除检测环境和不同来源的试剂外,患者自身的病理因素也可影响血细胞分析结果^[1-3]。如何判断血细胞分析结果的可靠性,为临床提供具有指导意义的检测结果,是临床实验室面临的难题之一。2016 年 10 月,笔者在工作中发现 1 例因血液黏稠度异常增高导致血细胞分析结果异常的标本,通过采用不同方法对标本进行处理,最终获得真实可靠的血细胞分析结果,患者诊断为异常球蛋白血症。该例患者为比较典型的因疾病导致血细胞分析结果异常的病例,具有参考价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女,77 岁,主诉间断性乏力伴牙龈出血 1 年,当地医院检查提示重度贫血,给予对症支持治疗无效来本院急诊就诊。查体:体温 37℃,心率 91 次/分钟,血压 142/73 mmHg,呼吸频率 18 次/分钟,氧饱和度 96%,心肺未闻及杂音,重度贫血面容,四肢未见出血点;肝、脾、淋巴结未触及。接诊医生申请常规检查,包括血细胞分析,以及凝血功能、肝功能和肾功能检查。

1.2 常规检测方法 分别采集患者乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血 2 mL、肝素锂抗凝血 4 mL,以及枸橼酸钠抗凝血 2.7 mL。将 EDTA-K₂ 抗凝血置 37℃ 水浴 0.5 h 后,取出并保温,采用日本希森美康公司 XS-500i 全自动五分类血液分析仪及配套试剂检测白细胞计数(WBC),包括核酸荧光染色技术检测 WBC(WBC-C)、激光流式细胞术检测 WBC(WBC-D),以及嗜中性粒细胞(N)、淋巴细胞(L)、单核细胞(M)、嗜酸性粒细胞(E)、嗜碱性粒细胞(B)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、血细胞比容(HCT)、红细胞平均体积(MCV)和血小

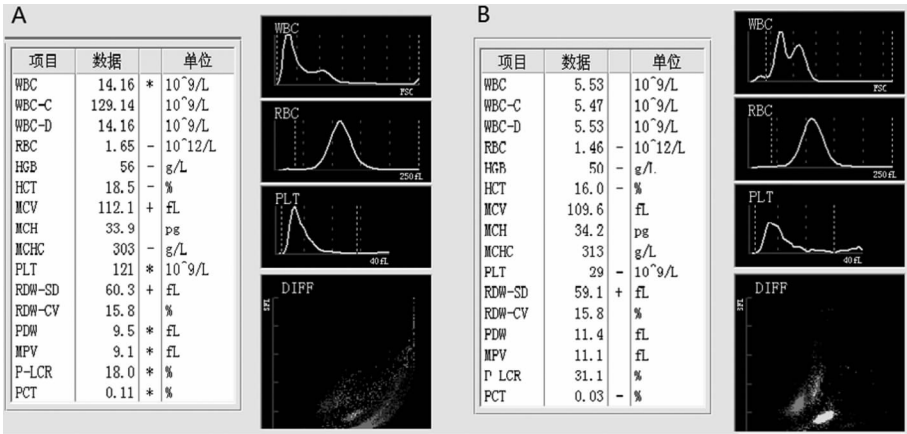
板计数(PLT)。另将肝素锂抗凝血和枸橼酸钠抗凝血 4 000 r/min 离心 5 min,取上清液检测总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)、清蛋白/球蛋白比值(A/G)、乳酸脱氢酶(LDH)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(DD)、肌酐(CREA)。参考区间分别为:TP 63~82 g/L,ALB 35~51 g/L,GLO 20~35 g/L,LDH 313~618 U/L,PT 10~15 s,APTT 20~40 s,TT 13~21 s,CARE 46~92 mol/L,U-REA 149~369 mol/L。所有操作参照标准操作规程^[4]。

1.3 血浆置换法处理标本 根据实验室标准操作规程操作^[4]。将 EDTA-K₂ 抗凝血标本 4 000 r/min 离心 5 min,将移液器(德国 Eppendorf 公司)插至上清液与细胞交界面上 3 mm 处,缓缓将上层血浆取出弃掉,并记录丢弃的血浆量,再加入与丢弃的血浆量等量的 37℃ 0.9%氯化钠注射液 3~5 mL,4 000 r/min 离心 6 min,洗涤标本 3 次后,加入与丢弃的血浆量等体积的 37℃ 0.9%氯化钠注射液,标本颠倒混匀 10 次,采用 XS-500i 血液分析仪进行血细胞分析。

1.4 显微镜检查 WBC 按照标准操作规程操作^[4]。制作血涂片进行瑞氏-吉姆萨染色,采用日本 Olympus 公司 CX23 型显微镜观察各系细胞形态,并进行 WBC 分析。

2 结 果

2.1 常规方法血细胞分析结果 检测结果显示,WBC 14.16×10⁹/L,其中 WBC-C 129.14×10⁹/L,WBC-D 14.16×10⁹/L,两种计数结果差异较大;WBC 分类为 N 12%,L 5.9%,M 4.4%,E 78.3%,B 0.4%;RBC 1.65×10¹²/L,Hb 56 g/L,HCT 18.5%,MCV 112.1 fL,PLT 121×10⁹/L。各系直方图及白细胞散点见图 1A。



A:常规方法血细胞分析结果;B:血浆置换法处理后血细胞分析结果。

图 1 患者血细胞分析结果

2.2 血浆置换法处理后血细胞分析结果 血浆置换法处理后,检测结果显示,WBC 5.53×10⁹/L,其中 WBC-C 5.47×

$10^9/L$, WBC-D $5.53 \times 10^9/L$, 两种计数结果基本一致; WBC 分类为 N 49.4%, L 40.5%, M 9.2%, E 0.5%, B 0.4%; RBC $1.46 \times 10^{12}/L$, Hb 50 g/L, HCT 16.0%, MCV 109.6 fL, PLT $29 \times 10^9/L$ 。各系直方图与白细胞散点图见图 1B。

2.3 肝功能、凝血功能及肾功能 除 FIB、DD 外, 其他各项指标检测结果均异常, TP 99.6 g/L, ALB 32.9 g/L, GLO 66.7 g/L, A/G 0.49, LDH 1071 U/L, PT、APTT、TT 延长, CREA 154.9 mol/L, UREA 403 mol/L。

2.4 显微镜下观察 WBC WBC 分类中 E 78.3%, 且 Hb 56 g/L、MCV 112.1 fL, 达到实验室制定的血细胞分析复片要求。显微镜观察显示, 红细胞呈缗钱状; WBC 散在分布, 以 N 和 L 为主, 未见大量 E; PLT 分布均匀, 形态正常, 无聚集现象, 见图 2。WBC 显微镜分析结果与未处理标本仪器分析结果不同, 但与血浆置换法处理后分析结果一致。

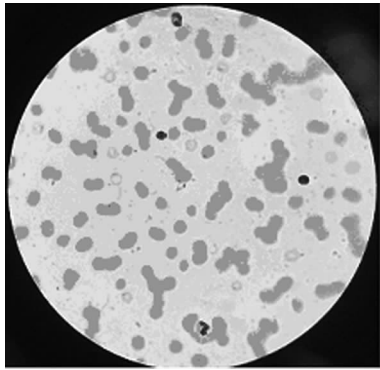


图 2 显微镜下观察结果

2.5 诊断 综合患者在外院检查结果, 临床症状, 血浆置换法处理标本后血细胞分析结果, 肝功能、凝血功能及肾功能检查结果, 以及镜检结果, 再参考相关文献报道^[5-6], 诊断为多发性骨髓瘤。

3 讨论

3.1 异常球蛋白血症影响血细胞分析结果 多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症、淋巴系统疾病、自身免疫性疾病等可导致异常球蛋白血症, 引起血细胞分析结果异常。上述疾病也是导致血液黏稠度异常增高的原因之一。排除患者剧烈运动等检测前影响因素, 结合血细胞和肝功能检测结果, 以及患者临床症状, 可推断本例患者血细胞分析结果异常由多发性骨髓瘤所致。多发性骨髓瘤是以浆细胞异常克隆性增殖为主要特征的恶性肿瘤之一, 其特点是异常增殖的细胞分泌大量的单克隆免疫球蛋白, 引起 TP 和 GLO 异常增高, A/G 显著降低, 蛋白电泳可见 M 蛋白, 血液黏稠度增高, 影响检测结果^[7]。若血液 pH 值降低, M 蛋白亦可与溶血剂发生反应, 使 WBC 检测结果呈假性增高, 并出现分类异常, 影响血细胞分析结果^[8-9]。

3.2 血液黏稠度异常增高的影响因素 异常球蛋白血症导致血液黏稠度增高, 但本例患者为老年患者, 需要考虑导致血液黏稠度改变的其他疾病, 例如心脑血管疾病, 且此类患者常伴随红细胞聚集性及血小板聚集性增高, 红细胞变性降低^[10]。但本例患者外周血涂片显微镜观察并无明显的红细胞和/或血小板聚集。因此可基本排除心脑血管疾病干扰。

3.3 血浆置换法处理标本 血细胞分析结果与患者症状不相符时, 需对标本进行处理。处理方法较多, 但通常首选 37℃ 水浴法, 因为该方法方便快捷, 操作简单, 不仅适用于各级医院检验科, 而且也适用于室温较低的情况。笔者对本例患者的标本, 首先采用常规的 37℃ 水浴法进行处理, 结果显示 WBC-C 和

WBC-D 差别较大, WBC 分类的 E, 以及 Hb 和 MCV 均异常, 且达到实验室制定的血细胞分析复片要求, 加之血液黏稠度过高, 必须采用血浆置换法进行处理, 并进行显微镜检查。经血浆置换法处理后, 仪器分析结果显示, WBC 散在分布, 以 N 和 L 为主, 未见大量 E, PLT 分布均匀, 无聚集现象, 与镜检结果吻合。由此可见, 常规的 37℃ 水浴法并不适用于处理本例患者标本。与 37℃ 水浴法相比, 血浆置换法处理效果较好, 原因在于: (1) 血浆置换法可消除 M 蛋白的影响, (2) 干扰血细胞分析的血液成分大多存在于血浆中, 血细胞本身不会影响分析结果, 所以血浆置换法处理效果较好。37℃ 水浴法处理效果不佳, 可能是由于虽然标本进行了水浴处理, 但与室温状态的试剂接触后, 温度下降, 黏度和浊度再次增加, 导致检测结果异常。笔者在分离 EDTA-K₂ 抗凝血的血浆成分时, 也发现其黏度和浊度增高。然而, 也有学者持不同观点^[5,11]。血浆置换法处理虽然可纠正红细胞参数, 但在洗涤过程中, 易发生血小板丢失, 导致 PLT 检测结果偏低, 且降低程度与置换次数相关, 因此报告 PLT 检测结果时, 应参考原标本检测值和血涂片 PLT 分布情况。本例患者标本经血浆置换法处理后, PLT 检测结果较 37℃ 水浴法处理后检测结果明显降低, 可能与上述因素有关。两种方法处理后的 PLT 检测结果与未处理标本检测结果, 即真实值, 均有差距。因此, 对于血浆置换法处理后的血细胞分析结果, 仍需结合显微镜观察的 PLT 特征进行判断。

3.4 关于标本处理方式 不同处理方法可能对血细胞分析结果产生不同的影响, 因此选择适当的处理方法至关重要^[10]。与 37℃ 水浴法和血浆置换法相比, 稀释法的缺点较多, 例如稀释液温度低或稀释倍数不够, 可导致标本黏度和浊度达不到检测要求, 若稀释倍数过大, 各项参数检测结果可能低于仪器检测下限。因此, 笔者参考类似研究报道的方法, 并结合实践工作经验, 对本例异常球蛋白血症患者标本选用血浆置换法进行处理, 并结合显微镜镜检结果进行综合判断, 从而获得了较为满意的检测结果。

综上所述, 若血细胞分析结果异常, 应及时查找原因, 并综合考虑显微镜镜检结果。此外, 应加强与临床医生的沟通, 了解患者情况, 排除各种干扰因素的影响, 最终发出正确的检验报告, 为患者的诊断提供可靠的依据。随着检验技术的发展, 检验人员不仅需要学会使用各类分析仪器, 更应了解影响检验结果准确性的各种因素。本例患者也有必要给予一定的追踪随访, 了解患者的治疗效果及预后, 以疗效为诊断提供佐证。

参考文献

- [1] Madeo A, Garaventa A, Sementa AR, et al. The unusual association between neuroblastoma and Gaucher disease: case report and review of the literature[J]. Blood Cells Mol Dis, 2016, 34(16): 3018-3021.
- [2] Kumawat V, Jain A, Marwaha N, et al. Anti-N antibody reacting at 37°C: an unusual occurrence interfering with routine testing: two interesting cases[J]. Asian J Transfus Sci, 2015, 9(1): 92-93.
- [3] Favaloro EJ, Verbruggen B, Miller CH. Laboratory testing for factor inhibitors[J]. Haemophilia, 2014, 24(Suppl 4): S94-98.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [5] 郇红琴, 闫华, 苗慧丽. 红细胞冷凝集现象对血常规检验

结果的影响及几种消除方法比较[J]. 长治医学院学报, 2014, 28(6): 453-455.

[6] 朱君秋. 血清高 M 蛋白引起血液分析仪计数错误 1 例[J]. 现代医药卫生, 2005, 21(23): 3288-3289.

[7] Saadi T, Rosenbaum H, Veitsman E, et al. Gaucher's disease type I: a disease masked by the presence of abnormal laboratory tests common to primary liver disease[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2010, 22(8): 1019-1021.

[8] 麦梅玲, 雍秀萍. 血细胞分析仪的影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(10): 984-985.

[9] 陈艳玲. 溶血剂溶血效果对 HbA1c 测定的影响分析[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(15): 3592-3593.

[10] 张时民, 王庚. 血细胞分析自动化与显微镜复检应关注什么[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(4): 433-435.

[11] 鹿红梅, 张振惠, 严乃富, 等. 冷凝集致血常规多项参数失真一例及处理分析[J]. 海南医学, 2014, 25(13): 2012-2013.

(收稿日期: 2017-02-08 修回日期: 2017-04-08)

• 个案与短篇 •

计算机辅助精液分析与手工计数法检测精液的比较研究

吴园园, 韩玉芳, 王瑞红, 宋予娟, 张 敏
(新乡市第一人民医院, 河南新乡 453000)

关键词: 计算机辅助精液分析; 手工计数法; 精液
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.061 文献标识码: C 文章编号: 1673-4130(2017)12-1726-02

随着环境污染日益严重, 垃圾食品食用过多, 生活方式改变及生活压力增大等因素的影响, 越来越多的育龄夫妇受到不孕不育的困扰, 其中以男性因素较为常见^[1]。全世界约有 8% 的育龄夫妇因各种原因导致不孕不育, 该比例在国内约为 10%^[2]。在导致不孕不育的各种因素中, 男性因素占 20%, 女性因素占 38%, 27% 与夫妇双方有关, 另有 15% 属于不明原因的不孕不育。性功能正常男性不育主要原因在于精液异常。尽管精液质量分析结果不能完全反映男性生育能力, 但能够为初步评价其生育能力提供一定的依据。因此, 精液质量分析是不育症诊治的最常规、最重要检测项目^[3-5]。计算机辅助精子分析(CASA)技术是用于不育症病因判断的初筛方法之一, 检测结果可反映精液质量的基本情况, 从而为针对性地开展后续检查, 明确病因和实施治疗奠定一定的基础。本研究比较了 CASA 和传统手工计数法在精液常规检测中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月至 2014 年 1 月, 于新乡市第一人民医院就诊的疑似不育症患者 1 600 例。

1.2 仪器与试剂 日本奥林巴斯公司光学显微镜; 清华同方精子/微生物动(静)态图像分析系统(荧光版 5.0)。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与处理 患者禁欲 3~5 d 后, 采用手淫法采集精液标本置洁净的有盖容器中, 20~40 ℃ 保温运送, 并在 10 min 内进行检测。

1.2.2 标本检测 (1)精液理化指标检测: 采用常规方法进行精液理化检测, 包括颜色、精液量、液化时间、黏稠度、pH 值。精液呈灰白色或略带黄色判为正常。精液量 2~7 mL 判为正常。排精 15~30 min 后精液变为液体判为液化时间正常。排精 60 min 后仍不液化的精液标本, 采用酶消化法促进其液化。将玻璃棒插入精液, 轻轻提棒, 拉丝长度小于 2 cm 判为黏稠度正常。精液 pH 值 7.2~7.8 判为 pH 值正常。(2)精子计数、精子存活率和精子活力检测: 待精液完全液化后, 采用手工计数法及 Leja 一次性精子计数玻片进行精子计数和精子活力检测, 同时采用清华同方精子动(静)态图像分析系统进行 CASA 检测。检测指标包括精子密度、精子存活率、精子活力。精子

密度大于 20×10^6 /mL 判为正常, 小于该临界值判为少精子症。排精 30~60 min 后, 超过 70% 以上精子为活动精子, 判为精子存活率正常。精子活力判断标准: 快速向前运动, 运动速度大于或等于 $25 \mu\text{m/s}$ 判为 a 级; 慢速或呆滞向前运动, 即向前运动速度为 $5 \sim < 25 \mu\text{m/s}$ 判为 b 级; 非向前运动或向前运动速度小于或等于 $5 \mu\text{m/s}$ 判为 c 级; 完全停滞不动判为 d 级。在所计数精子中, a 级和 b 级活力精子占比超过 50%, 或 a 级活力精子占比超过 25%, 判为正常, 反之判为弱精子症。本研究中, 精子活力计算公式为: 精子活力 = a 级和 b 级活力精子数量 / 所计数精子总数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 患者分组 精液理化指标, 以及精子密度、精子存活率、精子活力等指标均正常的患者, 纳入正常精液组。仅符合弱精子症判断标准, 其他各项指标均正常的患者, 纳入弱精子症组。仅符合少精子症判断标准, 其他各项指标均正常的患者, 纳入少精子症组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据处理和统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

根据上述分组标准, 可将 1 600 例患者分为正常精液组 900 例, 弱精子症组 110 例, 少精子症组 100 例。正常精液组精子活力、弱精子症组精子活力, 以及少精子症组精子密度手工计数法和 CASA 检测结果见表 1。手工计数法和 CASA 对正常精液组精子存活率、弱精子症组精子存活率及少精子症组精子密度检测结果比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中, CASA 精子密度检测结果高于手工计数法, 精子存活率检测结果低于手工计数法。

表 1 不同方法精液检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

检测方法	正常精液组精子 活力 (%)	弱精子症组精子 活力 (%)	少精子症组精子 密度 ($\times 10^6$ /mL)
手工计数法	85.12 \pm 10.2	42.5 \pm 17.6	10.82 \pm 4.67
CASA	74.23 \pm 4.9*	32.1 \pm 12.2*	17.90 \pm 6.42*

注: 与手工计数法检测结果比较, * $P < 0.05$ 。