·论　　著·

标本手动颠倒混匀次数对红细胞沉降率的影响*

李　畅，哈斯朝鲁，李　欣，郭雅静，李　凌△
山西医科大学第一医院医学检验科，山西太原 030001

摘　要：目的　探讨标本手动颠倒混匀次数对红细胞沉降率（ESR）的影响。**方法**　收集 200 例受试者的 ESR 标本检测前手动颠倒混匀 3、6、9、12 和 15 次，收集每组的 ESR 结果，以标本手动颠倒混匀 12 次为参考标准，用 R（4.2.1）软件进行数据分析，使用 Shapiro-Wilk 进行正态分布检验，多组间比较采用 Friedman 检验，以及采用 Spearman 相关性分析不同手动颠倒混匀次数和 ESR 之间的相关性。**结果**　200 例受试者标本分析前按照标本手动颠倒混匀次数依次分为手动颠倒混匀 3、6、9、12、15 次 5 个组，每组 ESR 中位数依次为 13.0、11.5、11.0、8.0、11.0 mm/h。Friedman 检验显示，5 个组 ESR 结果比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。手动颠倒混匀 3、6 次与手动颠倒混匀 12 次 ESR 结果比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。Spearman 相关性分析结果显示，标本手动颠倒混匀次数与 ESR 之间呈负相关（$r=-1.000$，$P=0.017$）。**结论**　标本手动颠倒混匀 9 次可达到充分混匀的状态，手动颠倒混匀次数过少会导致 ESR 偏高，临床实验室应重视标本前处理过程，确保整个检验过程的质量。

关键词：红细胞沉降率；　手动颠倒混匀次数；　实验室
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.018　　**中图法分类号：**R446.1
文章编号：1673-4130(2024)04-0476-04　　**文献标志码：**A

Effect of manually reverse mixing times on erythrocyte sedimentation rate*

LI Chang, Hasichaolu, LI Xin, GUO Yajing, LI Ling△
Department of Medical Laboratory Medicine, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, *China*

Abstract: Objective　To investigate the effect of manually reverse mixing times on erythrocyte sedimentation rate (ESR). **Methods**　The ESR samples of 200 subjects were manually mixed for 3, 6, 9, 12 and 15 times before detection. The ESR results of each group were collected, and the samples were manually mixed for 12 times as the reference standard. R (4.2.1) software was used for data analysis, Shapiro-Wilk was used for normal distribution test, Friedman test was used for multi-group comparison, and Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between different manually reverse mixing times and ESR. **Results**　Before specimen analysis, 200 subjects were divided into 5 groups according to the manually reverse mixing for 3, 6, 9, 12 and 15 times. The median ESR of each group was 13.0, 11.5, 11.0, 8.0 and 11.0 mm/h in turn. Friedman test showed that there were significant differences in ESR results among the 5 groups ($P<0.05$). There were significant differences in ESR results between manually reverse mixing for 3 and 6 times and manually reverse mixing for 12 times ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that there was a negative correlation between the manually reverse mixing times and ESR ($r=-1.000$, $P=0.017$). **Conclusion**　Specimens can be fully mixed by manually reverse mixing for 9 times. Too few times of manually reverse mixing can lead to high ESR. Clinical laboratories should pay attention to the pre-treatment of specimens to ensure the quality of the whole test process.

Key words: erythrocyte sedimentation rate;　manually reverse mixing times;　laboratory

红细胞沉降率（ESR）是临床或体检中心的常规检测项目之一，可重复性高且成本较低，可以与其他检查结果联合使用，辅助诊断自身免疫性疾病、感染或者肿瘤等一些引起体内炎症活动增强的疾病。全

*　**基金项目：**2022 年度山西省科技战略研究专项—般项目（202204031401143）。
作者简介：李畅，女，技师，主要从事止血与凝血研究。　△　**通信作者**，E-mail：liling638@163.com。
网络首发　http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240112.1709.002.html(2024-01-15)

面的质量控制在实验室诊断学领域中扮演着至关重要的角色，它不仅涉及广泛的技术和管理层面，也是保障诊断准确性和可靠性的基石[1]。从采集患者血液到向临床医生报告结果，检验过程可分为 3 个基本阶段（分析前、分析中和分析后），有确凿的证据表明，分析前阶段可能出现体外溶血、凝血异常、标本量不足、使用不当容器、污染及标本识别错误等，这些因素共同导致了不合格标本数量的显著增加，可能会导致 60％以上的实验室错误。因此，测试过程的所有阶段都应严格标准化并持续监测[2-3]。有研究报道，标本手动颠倒混匀是大多数实验室的主要方式，标本混匀方式及混匀次数会影响血清生化检测的结果，常规混匀方式较多用于抗凝血标本，抗凝血标本可手动颠倒混匀 3～6 次保证血细胞分析结果的准确性[4-6]。有研究指出，检测 ESR 前应轻轻地手动颠倒盛有标本的试管，至少手动颠倒混匀 12 次[7]。国际血液学标准化委员会（ICSH）也提出，实验室检测人员检测 ESR 前应至少将标本手动颠倒混匀 8 次，保证 ESR 试管内血液及其添加剂的充分混合[8]。由于影响 ESR 的因素较为复杂且使用的测量方法较为多变，难以建立可重复的测试方法或易于实施的质量控制程序进行标准化，但可以进行同质化，例如统一试剂、仪器标准化及标准操作程序，可以在一定程度上减少由于操作差异所引起的测量偏差，从而提高 ESR 测量的一致性和可靠性[9]。目前国内外关于标本手动颠倒混匀次数对 ESR 的影响的相关研究较少。本研究探讨标本手动颠倒混匀次数对 ESR 的影响，旨在为实验室同质化提供参考。现报道如下。

1　材料与方法

1.1　标本来源　收集本院临床科室及体检中心送检的 200 例受试者标本，男性 111 例，中位年龄 57 岁，女性 89 例，中位年龄 53 岁。根据 ICSH 的建议，所有标本均在标准化条件下采集（清晨，禁食过夜后），并在静脉穿刺后不到 4 h 内进行检查。取静脉血 1.6 mL 加入含有 0.4 mL 3.8％的柠檬酸钠抗凝剂的配套真空采血管中，抗凝剂与血液比例为 1∶4，采血后将试管立即先手动颠倒混匀 5～8 次，使血液和抗凝剂充分混匀，避免血液在运送及保存过程中发生凝固，标本无肉眼可见溶血、脂血、黄疸，运送及检测过程中 ESR 管垂直放置，倾斜度＜2°，期间避免震动和阳光直射。本研究经山西医科大学第一医院伦理委员会批准，所有受试者均同意纳入研究。

1.2　仪器与试剂　分析仪器采用中国北京众驰伟业科技发展有限公司的 ZC100 全自动血沉压积测试仪，使用配套柠檬酸钠真空标本采集管，ESR 测定根据手工魏氏法的原理，同时对 100 个标本进行检测，根据空气、全血、血浆、红细胞透光度的不同，判定空气-血浆的分界面、空气-全血的分界面、血浆-血红细胞的分界面，每日严格按照厂家说明书进行室内质控、定标和仪器、试剂操作。

1.3　方法　ZC100 全自动 ESR 压积测试仪每日质控在控后，检测前由同一检测人员将上述抗凝血标本手动颠倒混匀 3、6、9、12、15 次，使用全自动血沉压积测试仪检测红细胞沉降率，以及收集 200 例受试者基线资料。ESR 测定的参考范围为女性 0～20 mm/h，男性 0～15 mm/h。

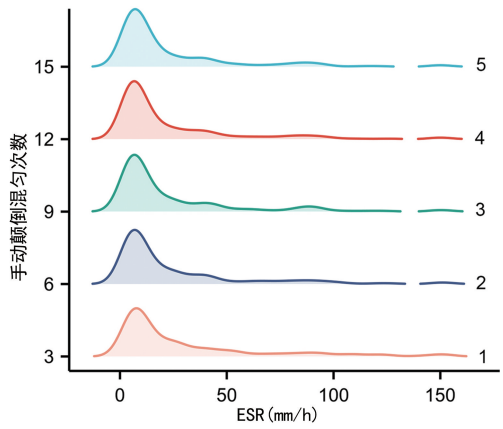
1.4　统计学处理　采用 R（4.2.1）软件进行数据分析，计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示，计数资料以 n（％）表示，使用 Shapiro-Wilk 进行正态分布检验，多组间比较采用 Friedman 检验，相关标本进行事后检验（全部成对），采用 Spearman 相关性分析不同标本手动颠倒混匀次数和 ESR 之间的相关性，P＜0.05 表示差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　受试者基线资料比较　200 例受试者基线资料包括体检健康及不同疾病受试者构成比情况，见表 1。

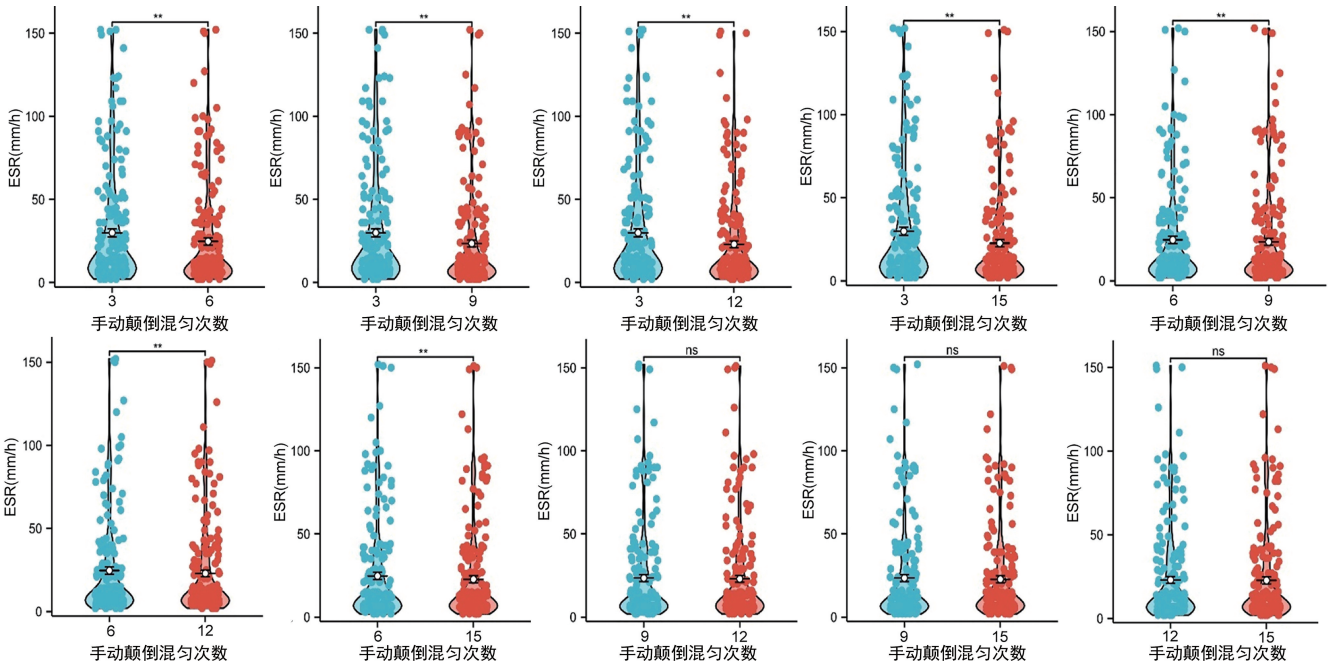
2.2　ESR 分布及成对比较　200 例受试者标本检测前按照标本手动颠倒混匀次数依次分为手动颠倒混匀 3、6、9、12、15 次 5 个组，每组 ESR 中位数依次为 13.0、11.5、11.0、8.0、11.0 mm/h。将 5 个组的数据使用 R（4.2.1）版本中 ggplot2 包和 ggridges 包绘制山峦图，可见 5 组 ESR 呈偏态分布。见图 1。Friedman 检验显示，5 个组 ESR 结果比较差异有统计学意义（P＜0.05）；事后比较发现，手动颠倒混匀 3、6 次与手动颠倒混匀 12 次 ESR 结果比较差异有统计学意义（P＜0.05）；手动颠倒混匀 9、15 次与手动颠倒混匀 12 次 ESR 结果比较差异无统计学意义（P＞0.05）。见图 2。

2.3　相关性分析　Spearman 相关性分析结果显示，标本手动颠倒混匀次数与 ESR 之间呈负相关（r＝－1.000，P＝0.017）。



注：1～5 分别表示标本手动颠倒混匀 3、6、9、12、15 次 5 个组的 ESR 分布变化。

图 1　各组 ESR 分布趋势



注：** 表示两者不同标本手动颠倒混匀次数 ESR 结果比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）；ns 表示两者不同标本手动颠倒混匀次数 ESR 结果比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。

图 2　手动颠倒混匀次数对 ESR 影响的成对比较分析

表 1　受试者基线资料比较[$M(P_{25},P_{75})$或 n(%)]

项目	女性(n=89)	男性(n=111)	总计(n=200)
年龄(岁)	53(39,65)	57(44,65)	56(42,65)
心脑血管疾病	3(3.4)	5(4.5)	8(4.0)
消化系统疾病	4(4.5)	7(6.3)	11(5.5)
血液系统疾病	8(9.0)	5(4.5)	13(6.5)
泌尿系统疾病	1(1.1)	6(5.4)	7(3.5)
内分泌疾病	3(3.4)	3(2.7)	6(3.0)
肾脏疾病	12(13.0)	16(14.0)	28(14.0)
肺部肿瘤	3(3.4)	2(1.8)	5(2.5)
肺部感染	8(9.0)	17(15.0)	25(12.5)
风湿免疫疾病	4(4.5)	6(5.4)	10(5.0)
结核病	3(3.4)	1(0.9)	4(2.0)
其他	7(7.9)	7(6.3)	14(7.0)
体检健康	33(37.0)	36(32.0)	69(34.5)

注：其他表示未明确诊断的疾病。

3　讨　论

ESR 是临床最基本的血液检测，ESR 可靠性将直接影响临床医生对疾病判断的准确性。在颞动脉炎、系统性血管炎及风湿性多肌痛等疾病的诊断和监测中，ESR 被广泛作为一个重要的生物标志物，除此以外，ESR 也可被用来监测骨科感染的进程和心肌梗死的发生[10-16]。当患者发生肝病、癌症或其他疾病时，机体不能产生急性期蛋白，血浆中不对称的大分子物质如纤维蛋白原、球蛋白等增多或红细胞数量异常都会影响 ESR[17]。临床实验室中标本的不当处理、不适当的储存条件、错误的标本采集方法等分析前误差可能导致结果不准确甚至是系统性偏移。有研究提出在临床实验室中，使用抗凝剂不当，以及房间的温度和试管的倾斜度均会影响 ESR 结果[18-19]。有研究将红细胞动力学建模为布朗粒子在黏性介质中的运动，黏性摩擦力被认为随着介质温度的升高而减小，当房间的温度升高时，红细胞下沉速度加快，缗钱状细胞数量增加，ESR 随之增大[18]。在炎症性疾病的情况下，血液中纤维蛋白原水平高于一定阈值，表面带有负电荷的红细胞之间排斥力减弱，红细胞加剧形成缗钱状，当重力（团簇的重量）克服了黏性摩擦，ESR 随之加快，血液的黏度对实验过程中使用的抗凝剂的量也很敏感，过量使用抗凝剂会导致 ESR 假阳性结果[19-22]。

在临床检验过程中，临床实验室可以通过操作规程标准化，减少对标本的不当处理。混匀是分析前的一个重要环节，手动颠倒混匀在全国的临床实验室更为常见[4]。HU 等[23]报道储藏时间和温度对 ESR 有影响。还有研究表明，在室温和 4 ℃ 下储存 8 h 后，样品的稳定性未受到影响[24]。本研究剔除各组中的离群值未引起两变量相关性的较大改变，因此研究未进行剔除离群值的操作。目前现有的测量方法都是通过测量固定时间从管顶部到沉降红细胞弯液面的距离计算 ESR[25]。文献[7]指出，检测 ESR 前至少手动颠倒混匀 12 次保证其结果的准确性。ICSH 也建议在上机分析前应该至少保证反向手动颠倒 8 次[8]。本研究关于 ESR 分析前手动颠倒混匀次数得出的结果与文献[7]规定的分析前手动颠倒混匀 12 次有所不同，一部分原因可能是由本研究包含肾脏疾病、肺部感染等不同的疾病，病理差异造成红细胞形态和功

能的改变，影响 ESR 结果，也可能是由于标本放置时间过长或者标本手动颠倒过程未能精确地控制颠倒的弧度和力量，导致红细胞出现一定程度上的破坏，出现红细胞大小不一，进而导致 ESR 出现异常。HU 等[23]研究报道，在 4 ℃ 和(23±2)℃ 条件下，随着样品放置时间的延长，ESR 结果会逐渐降低。除此之外，标本的检测方法和来源不同也可能是出现此种差异的原因，尽管机制仍未阐明，但充分说明进行 ESR 测量前，分析前标本手动颠倒次数较少会导致 ESR 结果产生整体性变大。本研究标本量较少，考虑到标本有效性的因素，结果仅限于单次 ESR 测量，而不是重复 ESR 测量，未来仍需要大标本量的研究进一步证实，为临床实验室同质化提供基础。

测量 ESR 前应至少手动颠倒混匀 9 次，使血液内各组成成分充分混匀，保证 ESR 的准确性，本研究为临床实验室检测 ESR 的分析前预处理提供了参考方案，为 ESR 检测同质化研究提供基础，临床实验室应更加重视标本的前处理过程，以确保整个检验过程的质量。

参考文献

[1] PLEBANI M G. Uncertainty, quality, safety and accreditation in laboratory medicine[J]. J Lab Precis Med, 2017, 2(1): 80.

[2] LIMA-OLIVEIRA G, LIPPI G, SALVAGNO G L, et al. Laboratory diagnostics and quality of blood collection[J]. J Med Biochem, 2015, 34(3): 288-294.

[3] LIPPI G, GUIDI G C. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(6): 720-727.

[4] 余超，李明伊，车翔林. 标本混匀方式对血清生化检测结果的影响[J]. 国际检验医学杂志，2020，41(1)：74-77.

[5] HAM J Y, SONG K E. Impact of specimen mixing methods on presepsin point-of-care test results using whole blood[J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54(5): 151-154.

[6] 钟珍. 抗凝血样本不同颠倒混匀次数对于血常规测定结果的影响[J]. 世界最新医学信息文摘，2017，17(2)：166.

[7] 中华人民共和国卫生部. 红细胞沉降率测定参考方法：WS/T 343-2011[S]. 北京：中国标准出版社，2011.

[8] JOU J M, LEWIS S M, BRIGGS C, et al. ICSH review of the measurement of the erythocyte sedimentation rate [J]. Int J Lab Hematol, 2011, 33(2): 125-132.

[9] PLEBANI M. Harmonization in laboratory medicine: requests, samples, measurements and reports[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2016, 53(3): 184-196.

[10] BRAY C, BELL L N, LIANG H, et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine[J]. WMJ, 2016, 115 (6): 317-321.

[11] LAPIĈ I, PIVA E, SPOLAORE F, et al. Automated measurement of the erythrocyte sedimentation rate: method validation and comparison[J]. Clin Chem Lab Med, 2019, 57(9): 1364-1373.

[12] ALENDE-CASTRO V, ALONSO-SAMPEDRO M, VAZQUEZ-TEMPRANO N, et al. Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: new evidence for an old test[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(34): e16816.

[13] BARRACK R, BHIMANI S, BLEVINS J L, et al. General assembly, diagnosis, laboratory test: proceedings of international consensus on orthopedic infections[J]. J Arthroplasty, 2019, 34(2S): S187-S195.

[14] LAPIĈ I, PADOAN A, BOZZATO D, et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in acute inflammation[J]. Am J Clin Pathol, 2020, 153(1): 14-29.

[15] 张柘，沈颖，郑勇，等. 血清 CRP 与 PCT 和红细胞沉降率对骨科肿瘤患者术后感染的诊断意义[J]. 中华医院感染学杂志，2016，26(9)：2024-2026.

[16] 周宇子，华潞，李一石. 类风湿性关节炎合并冠心病患者的红细胞沉降率与心肌梗死病史的关系[J]. 中国循环杂志，2015，30(1)：6-8.

[17] 崔文娟，李艳. 红细胞沉降率在检验工作中的应用[J]. 医学信息，2023，36(17)：189-192.

[18] TAYE M A. Sedimentation rate of erythrocyte from physics prospective[J]. Eur Phys J E Soft Matter, 2020, 43(3): 19.

[19] LIM H J, LEE Y J, NAM J H, et al. Temperature-dependent threshold shear stress of red blood cell aggregation[J]. J Biomech, 2010, 43(3): 546-550.

[20] DAVALOS D, AKASSOGLOU K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease[J]. Semin Immunopathol, 2012, 34(1): 43-62.

[21] BEDELL S E, BUSH B T. Erythrocyte sedimentation rate: from folklore to facts[J]. Am J Med, 1985, 78(6 Pt 1): 1001-1009.

[22] YIN W, XU Z, SHENG J, et al. Erythrocyte sedimentation rate and fibrinogen concentration of whole blood influences the cellular composition of platelet-rich plasma obtained from centrifugation methods[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(3): 1909-1918.

[23] HU Q L, LI Z J, LIN L, et al. Effect of storage temperature and time on erythrocyte sedimentation rate[J]. Eur J Med Res, 2022, 27(1): 76.

[24] LAPIĈ I, RADE A, KRALJEVIĈ A, et al. Analytical validation of the modified Westergren method on the automated erythrocyte sedimentation rate analyzer CUBE 30 touch[J]. Clin Chem Lab Med, 2023, 61(8): 1463-1469.

[25] RAMSAY E S, LERMAN M A. How to use the erythrocyte sedimentation rate in paediatrics[J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2015, 100(1): 30-36.

(收稿日期：2023-05-23　修回日期：2024-01-05)