

[18] Park JK, Park J, Uhm JS, et al. Low P-wave amplitude(<0.1 mV) in lead I is associated with displaced inter-atrial conduction and clinical recurrence of paroxysmal atrial fibrillation after radiofrequency catheter ablation[J]. Europace, 2016,18(3):384-391.

[19] Schumacher K, Dagues N, Hindricks G, et al. Characteristics of PR interval as predictor for atrial fibrillation;association with biomarkers and outcomes[J]. Clin Res Cardiol, 2017,106(10):767-775.

[20] Tacoy G, Akboga MK, Yayla C, et al. The effect of statin treatment on P-wave characteristics and atrial conduction time[J]. Kardiol Pol, 2015,73(9):747-452.

[收稿日期 2021-08-10][本文编辑 余 军]

本文引用格式
谷云飞,张 璇,段卡丹,等.阿托伐他汀与瑞舒伐他汀对阵发性心房颤动患者射频消融术后复发率及心房电重构的影响比较[J].中国临床新医学,2022,15(2):129-133.

论著

冷凝集对血细胞分析多项参数检测结果的影响

高嫣妮, 陈 艳, 崔兆磊, 陈德东, 陈 燕

基金项目: 福建省科技创新平台项目(编号:2020Y2012)

作者单位: 350014 福州,福建医科大学附属肿瘤医院,福建省肿瘤医院检验科,福建省肿瘤生物治疗重点实验室

作者简介: 高嫣妮,医学硕士,主管技师,研究方向:临床检验和实验诊断。E-mail:125069055@qq.com

通信作者: 陈 燕,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤实验诊断的基础和临床研究。E-mail:yanc99@sina.com

[摘要] **目的** 探讨红细胞冷凝集对血细胞分析各项检测参数的影响及处理方法。**方法** 选择福建省肿瘤医院 2017 年 12 月至 2020 年 2 月有红细胞冷凝集的全血标本 73 份。应用 Sysmex XN-9000 全自动血细胞分析仪对标本进行检测,比较 37℃ 水浴前后红细胞(RBC)、血细胞比容(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、白细胞(WBC)、血红蛋白(Hb)和血小板(PLT)的结果差异。**结果** RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 在经水浴处理前后其结果差异有统计学意义($P<0.05$),而 WBC、Hb 和 PLT 结果差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 冷凝集标本会使 RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 指标结果失真,WBC、Hb 和 PLT 指标结果不受冷凝集干扰。在血细胞分析时,检验人员应加强质量控制,及时发现冷凝集标本并通过 37℃ 水浴处理,排除干扰。

[关键词] 冷凝集; 血细胞分析; 水浴; 平均红细胞血红蛋白浓度

[中图分类号] R 446.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)02-0133-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.02.09

Effect of cold agglutination on the detection results of multiple parameters in blood cell analysis GAO Yan-ni, CHEN Yan, CUI Zhao-lei, et al. Department of Clinical Laboratory, Fujian Medical University Cancer Hospital, Fujian Cancer Hospital, Fujian Provincial Key Laboratory of Tumor Biotherapy, Fuzhou 350014, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of erythrocyte cold agglutination on various detection parameters of blood cell analysis and the treatment methods. **Methods** Seventy-three whole blood specimens with erythrocyte cold agglutination from December 2017 to February 2020 in Fujian Cancer Hospital were selected. The Sysmex XN-9000 automatic blood cell analyzer was used to detect the samples, and the differences in the result parameters of red blood cell(RBC), hematocrit(HCT), mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin(MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC), white blood cell(WBC), hemoglobin(Hb) and platelet(PLT) were compared before and after water bath at 37℃. **Results** There were significant differences in the results of RBC, HCT, MCV, MCH and MCHC before and after water bath treatment($P<0.05$), but there were no significant differences in the results of WBC, Hb and PLT($P>0.05$). **Conclusion** The results of RBC, HCT, MCV, MCH and MCHC indexes are distorted

in the cold agglutination of specimens, while the results of WBC, Hb and PLT indexes are not affected by cold agglutination. During blood cell analysis, the inspectors should strengthen quality control, find the cold agglutinated specimens in time and treat them with water bath at 37℃ to eliminate interference.

[Key words] Cold agglutination; Blood cell analysis; Water bath; Mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC)

血常规检验为临床诊治提供了许多信息,发挥着重要的作用。血常规结果的影响因素不少,冷凝集便是其一^[1]。冷凝集素会使标本出现红细胞凝集等现象,导致血细胞分析结果发生偏误,对临床医师产生误导^[2]。另外,冷凝集会导致患者发生较严重的临床症状,包括自身反应性红细胞凝集、冷诱导因素导致的微循环栓塞等,患者多表现为寒冷环境下末梢部位发绀、麻木等,经保暖后可逐渐消失;部分患者还伴有黄疸、慢性溶血性贫血、血红蛋白尿等其他症状^[3]。因此,及时发现并纠正冷凝集至关重要^[4]。本文旨在分析冷凝集标本对血常规检查结果的影响,探讨冷凝集标本识别和纠正干扰的方法。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源与资料收集 选择我院 2017 年 12 月至 2020 年 2 月有红细胞冷凝集的全血标本 73 份,并通过医院电子病历系统收集标本来源患者的一般信息(包括性别、年龄、临床诊断等)。本研究获得医院伦理委员会的批准,受检者知情同意。

1.2 红细胞冷凝集判断标准^[5] 按以下标准筛选出冷凝集标本:(1)血常规结果:血红蛋白(hemoglobin, Hb)/红细胞(red blood cell, RBC)比值增高($Hb/RBC > 30:1$),平均红细胞血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)增高($MCH > 30\text{ pg}$),平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)增高($MCHC > 380\text{ g/L}$)。(2)标本性状:轻轻摇动标本,试管壁上有明显的细砂粒样凝集颗粒。(3)血涂片:肉眼可见血片上有许多细小颗粒。瑞氏染色油镜观察,可见红细胞凝集成不规则的片状或团块状。(4)仪器报警提示:如出现“红细胞凝集?”“乳糜/Hb 异常?”,以及嗜碱通道的右侧出现拖尾现象。

1.3 标本采集方法 取静脉血 2 ml 于 EDTA-K2 抗凝负压采血管,并及时充分混匀。

1.4 仪器与试剂 日本 Sysmex 公司生产的 XN-9000 全自动血细胞分析仪,以及原装配套试剂(包括瑞氏染液等)和质控物;福州长庚医疗器械有限公司生产的 EDTA-K2 抗凝负压采血管;精宏 37℃ 恒温水浴

箱;Olympus CX31 显微镜等。

1.5 检测方法 采集标本后在 4 h 内应用日本 Sysmex 公司的 XN-9000 血细胞分析仪对标本进行第一次血常规检测。再将标本予以 37℃ 水浴 30 min,迅速取出观察,若未发现管壁内有凝集颗粒,立即混匀上机行第二次检测;若管壁仍有凝集颗粒,则将水浴时间延长至 1 h 后再上机行第二次检测。记录水浴前后 RBC、血细胞比容(hematocrit, HCT)、平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)、MCH、MCHC、白细胞(white blood cell, WBC)、Hb 和血小板(platelet, PLT)检测结果并分析细胞分布图和仪器报警信息。

1.6 质量控制 XN-9000 全自动血细胞分析仪在校准周期内,每日测定 3 个水平的配套质控品,结果均在靶值允许范围内。所有操作严格按照操作规程执行,处理过的标本均制作涂片并进行瑞氏染色后用显微镜复检。

1.7 处理有效的判断标准 标本在 37℃ 水浴处理后轻摇标本时管壁的凝集颗粒消失;上机检测时血常规相关参数检测结果均恢复正常;直方图及散点图恢复正常;仪器无相关报警提示;检测后即刻涂片,显微镜下血涂片未见红细胞聚集现象。

1.8 统计学方法 应用 SPSS23.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,水浴处理前后比较采用配对 *t* 检验。不符合正态分布的计量资料以中位数(下四分位数,上四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,水浴处理前后比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标本来源与患者一般资料 本研究共获得全血标本 73 份。来源患者中男 49 例,女 24 例,年龄(58.7 ± 10.6)岁。临床诊断为肺癌 16 例,宫颈癌 14 例,淋巴瘤 11 例,鼻咽癌 7 例,肝癌 6 例,肠癌 6 例,胃癌 4 例,乳癌 2 例,食管癌 2 例,肉瘤 1 例,结节性甲状腺肿 1 例,颈部鳞癌 1 例,健康体检者 2 名。

2.2 73 份水浴处理前后冷凝集全血标本检测结果比较 RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 在经水浴处理前后其结果差异有统计学意义($P < 0.05$),而 WBC、Hb 和 PLT 结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 73 份水浴处理前后冷凝集全血标本检测结果比较[$(\bar{x} \pm s)$, $M(P_{25}, P_{75})$]

时 间	RBC ($\times 10^{12}/L$)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	WBC ($\times 10^9/L$)	Hb (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)
水浴处理前	2.12 $\pm$ 0.88	20.48 $\pm$ 8.30	97.29 $\pm$ 7.10	46.20 (41.35, 57.20)	464.00 (419.00, 595.50)	6.00 (3.50, 8.90)	104.90 $\pm$ 24.28	190.50 (119.50, 243.00)
水浴处理后	3.20 $\pm$ 0.79	30.48 $\pm$ 7.08	93.66 $\pm$ 6.90	31.60 (30.05, 34.25)	341.00 (330.00, 345.00)	6.30 (3.85, 10.40)	104.58 $\pm$ 24.56	193.00 (120.00, 242.00)
t/Z	14.786	13.677	5.678	10.094	10.343	0.865	0.944	0.155
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.387	0.349	0.877

3 讨论

3.1 1918 年 Clough 和 Richeter 在 1 例肺炎患者体内检测到冷凝集素,至 20 世纪中期,研究者们逐渐认识到冷凝集素是引起 RBC 损伤的一种致病因子^[6]。冷凝集素是一种较强的可逆性凝集红细胞膜抗原的自身抗体,能与自身红细胞、“O”型红细胞或其同型红细胞发生凝集^[7]。在原发性冷凝集素综合征^[8]、白血病、恶性淋巴瘤^[9]、淋巴系统增殖性疾病、多发性骨髓瘤^[10]、传染性单核细胞增多症、巨球蛋白血症、特发性血小板减少性紫癜、肝硬化、自身免疫性疾病^[11]、支原体肺炎^[12]、疟疾、重度贫血、病毒感染、非特异性炎症及妊娠^[13]等情况下,冷凝集素效价均可升高。由于本研究单位是肿瘤专科医院,故收集到的样本多来源于癌症患者,但也有 2 名为健康体检者,可见健康人群中也可能会出现冷凝集现象。

3.2 本研究结果显示,冷凝集标本 WBC、Hb 和 PLT 结果受冷凝集干扰较小。冷凝集现象可引起:RBC、HCT 结果假性减低;RBC 与 Hb 的比值关系严重不符;MCV、MCH、MCHC 结果假性增高;并出现直方图、散点图异常,仪器报警提示 RBC 凝集、RBC/Hb 乳糜或双峰 RBC 分布等。具体原因分析如下:(1)Hb 采用十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)-Hb 衍生物法检测,溶血剂溶解红细胞释放出 Hb(凝集的红细胞也全部被溶血剂破坏),Hb 再与溶血剂中的 SDS 结合形成 SDS-Hb 衍生物,测定其吸光度变化而换算出 Hb 含量。红细胞凝集对该方法干扰小,对检测结果影响不大^[5]。(2)冷凝集素引起的红细胞凝集不消耗血小板及凝血因子。虽 RBC 与 WBC、PLT 是在同一通道的计数池内检测,但二者体积差较大,故 PLT 检测不易受红细胞包裹的影响^[14]。(3)XN-9000 全自动血细胞分析仪检测 RBC 采用鞘流直流电阻抗法^[15],血液按一定比例稀释后,每个红细胞被鞘液包裹,经负压吸引逐一通过仪器的微孔小管。而冷凝集素可使多个红细胞聚集形成大小不等的红细胞团,一起通过计数孔,导致脉冲次数减少,使 RBC 检测结果远低于实际值,造成 RBC 假性减低;同时,聚集成团的红细胞在经过计数小孔时被误判为大红细胞,引起脉冲振幅增强,导致 MCV 假性增高及红细胞直方图异常等^[7]。冷凝集时以 RBC 计数减少为主,故 HCT(=RBC $\times$ MCV)结果随之减低、MCH(=Hb/RBC)和 MCHC[=Hb/HCT=Hb/(RBC $\times$ MCV)]结果随之增高^[16]。总之,发生冷凝集时,仪器检测得的红细胞相关参数结果(除 Hb 外)均不可信^[17]。

3.3 为保证检验结果的准确,排除冷凝集现象对血细胞分析仪计数结果的干扰,建议检验人员加强各环节的质量控制,具体包括:(1)在血细胞检测实验室安装恒温装置,使实验室保持在合适的温度。(2)在进行血常规检测上机前应轻轻摇动标本,仔细观察管壁上是否有明显的细砂状凝集颗粒。(3)检验人员除了着重审阅 WBC、Hb、PLT 等主要指标结果外,还要重点关注 RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 等受冷凝集影响较大的指标,注意分布图的改变及报警信息。(4)实验室应建立适用于本实验室的关于冷凝集的复检规则:MCHC 较为稳定(一般 <380 g/L),故 MCHC 可作为识别和纠正冷凝集干扰血常规的客观评价指标^[18]。当 MCHC >380 g/L,通过肉眼或血涂片观察排除球形红细胞、脂血等情况后,可怀疑有冷凝集;在纠正冷凝集干扰过程中,若 MCHC >380 g/L,仍不能视为冷凝集干扰被有效纠正;MCHC <380 g/L,可认为冷凝集干扰被有效纠正。(5)37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴是纠正冷凝集干扰血细胞分析的最基本且快捷的方法。随着温度的升高,抗原抗体复合物逐渐解离,凝集的红细胞也随之解聚^[19]。对于一般冷凝集标本,先将标本垂直放于装有水的小烧杯中(水高约 2 cm),再一起放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴箱温育,将仪器切换到手动模式,待 30 min 后,连同装有 37 $^{\circ}\text{C}$ 水的烧杯一并取出,立即运送至仪器旁,取出标本握在掌心颠倒混匀,开盖后立即检测,这样可缩短在较冷环境中的放置时间,以免再次发生凝集。(6)若水浴 30 min 后仍存在凝集,则提示该标本冷凝集素效价较高。李莉等^[20]的研究结果显示,血浆置换法虽能很好地纠正冷凝集

的 RBC 参数,但会导致 PLT 不同程度的丢失,且操作繁琐,不利于实际操作。而适当延长水浴时间,既对强冷凝集的标本很好地纠正,又不会引起 PLT 丢失,操作简便,适合推广。

综上所述,检验人员应进一步加强质控,一旦发现疑似冷凝集标本,应结合临床查明原因,及时用 37 ℃ 水浴 30 min 等方法排除干扰。检验人员发送检验报告时应备注有冷凝集现象,并与临床医师充分沟通交流,可最大程度上规避误差因素,为临床提供更可靠的诊疗依据。

参考文献

- [1] Ercan S, Çalışkan M, Koptur E. 70-year old female patient with mismatch between hematocrit and hemoglobin values; the effects of cold agglutinin on complete blood count[J]. *Biochem Med (Zagreb)*, 2014,24(3):391-395.
- [2] Erkus E, Kocak MZ, Aktas G, et al. A rare non-hemolytic case of idiopathic cold agglutinin disease[J]. *Clin Lab*, 2018,64(6):1075-1078.
- [3] 李亮,王波,曹承华. 高效价冷凝集素对红细胞凝集及交叉配血的影响[J]. *湖北民族大学学报(医学版)*, 2021,38(2):49-52.
- [4] 张龙桃. 红细胞冷凝集对全自动血细胞分析仪检测血细胞参数的影响[J]. *中国医疗器械信息*, 2021,27(12):92-93.
- [5] 兰小英,苏秋妮,洪国舜. 冷凝集标本对血细胞分析结果的影响及处理方法[J]. *中国卫生标准管理*, 2018,9(1):109-111.
- [6] 张志红. 严重冷凝集标本对血常规检测结果的影响分析[J]. *山西医药杂志*, 2018,47(16):1956-1958.
- [7] Dielienska V, Korzh M, Leontieva F, et al. A clinical case of weak A antigen on the erythrocytes in a person with coexistent anti-A antibodies[J]. *Arch Razi Inst*, 2020,75(2):257-265.
- [8] 邓俊,李一柯. 冷凝集素综合征疑难血型鉴定 1 例[J]. *中国输血杂志*, 2019,32(6):588-589.
- [9] 余锋,孙令凤,王娟,等. 淋巴瘤所致冷凝集素综合征 3 例临床回顾性分析并文献复习[J]. *肿瘤药学*, 2019,9(4):699-704.
- [10] 王亚茹,马艳萍. 以冷凝集素综合征为首发表现的多发性骨髓瘤患者的早期诊断[J]. *中国实验血液学杂志*, 2021,29(3):787-790.
- [11] 唐会珍,屈明利,张凡,等. 自身免疫性溶血性贫血(AIHA)患者的不同输血方法与效果[J]. *现代生物医学进展*, 2020,20(17):3337-3340.
- [12] Stein B, DeCredico N, Hillman L. Evaluation of the direct antiglobulin test (DAT) in the setting of *Mycoplasma pneumoniae* infection[J]. *JAMA*, 2018,319(13):1377-1378.
- [13] Strelnikova AI, Tsirkin VI, Krysova AV, et al. M-cholinoreactivity of erythrocytes of non-pregnant and pregnant women evaluated by changes in the rate of erythrocyte agglutination under the influence of acetylcholine[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2012,154(2):180-183.
- [14] 陈妍,尹萍. 严重冷凝集标本的识别和处理[J]. *检验医学与临床*, 2020,17(9):1308-1310.
- [15] Falvella FS, Serafini L, Birindelli S, et al. Validation of the reticulocyte channel of Sysmex XN-9000 system for blood cell count in samples with suspected cold agglutination for use in a total laboratory automation setting[J]. *J Clin Pathol*, 2020,73(12):847-848.
- [16] 王秀芹,司元全. 强冷凝集对血常规检测结果的影响及处理措施的探讨[J]. *国际检验医学杂志*, 2018,39(5):617-619.
- [17] 彭勇. 冷凝集对血细胞分析结果的影响及消除方法探讨[J]. *中国临床新医学*, 2016,9(7):644-646.
- [18] 何翠兰,孙余会,曾令军,等. 冷凝集标本直接进行血常规检测后提示性参数的筛选与确定[J]. *临床输血与检验*, 2018,20(2):163-165.
- [19] Tholpady A, Bracey AW, Baker KR, et al. Use of an intravascular warming catheter during off-pump coronary artery bypass surgery in a patient with severe cold hemagglutinin disease[J]. *Tex Heart Inst J*, 2016,43(4):363-366.
- [20] 李莉,黄河,洪燕英. 高效价冷凝集素合并冷球蛋白对血常规检测结果的影响及纠正方法探讨[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020,27(10):1750-1755.

[收稿日期 2021-10-24][本文编辑 余军]

本文引用格式

高嫣妮,陈艳,崔兆磊,等. 冷凝集对血细胞分析多项参数检测结果的影响[J]. *中国临床新医学*, 2022,15(2):133-136.