

抗凝剂及放置时间对静脉血常规测定的影响

牛玉峰¹, 樊卫², 夏波² (江苏省淮安市楚州医院检验科 223200)

【摘要】目的 了解肝素、乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝剂及放置时间对于血常规白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、血细胞比容(Hct)、血小板计数(PLT)的影响。**方法** 分别取静脉血经肝素、EDTA-K₂抗凝,于即刻,0.5、1、2、3、4、5、6、12 h在MET(迈瑞)BC5500血细胞分析仪上以全血模式检测WBC、RBC、Hb、Hct和PLT。**结果** WBC在3 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);RBC在6 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),在12 h内,以肝素抗凝的静脉血与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);Hb在12 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);Hct在即刻以肝素抗凝的静脉血与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而6 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);PLT在1 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 血常规测定应使用EDTA-K₂抗凝,并在1 h内检测完毕。

【关键词】 抗凝剂; 静脉血; 放置时间; 血常规测定

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.028 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)23-2870-02

The influence of anticoagulant and standing time on the result of blood routine test of venous blood NIU Yu-feng¹, FAN Wei², XIA Bo² (Department of Clinical Laboratory, Chuzhou Hospital of Huai'an, Jiangsu 223200, China)

【Abstract】Objective To learn the influence of anticoagulant EDTA-K₂ and heparin and standing time on the WBC, RBC, Hb, Hct, PLT result of venous blood. **Methods** Blood routine tests to anticoagulated venous blood samples with EDTA-K₂ and heparin under room temperature were tested instantly every 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 h respectively. **Results** There had no significant difference in WBC within 3 hours compared with the two at instant ($P > 0.05$); There was no significant difference in RBC within 6 hours and 12 hours compared with the two at instant ($P > 0.05$); There was no significant difference in Hb within 12 hours compared with the two at instant ($P > 0.05$); There was significant difference in Hct with the two at instant ($P < 0.05$). No significant difference in Hct within 6 hours was compared with the two at instant ($P > 0.05$); There was no significant difference in PLT within 1 hour compared with the two at instant ($P > 0.05$). **Conclusion** Blood routine test should be done within 1 hour using anticoagulant EDTA-K₂.

【Key words】 anticoagulant; venous blood; standing time; blood routine test

目前血常规分析仪在我国大中型医院已基本普及^[1],使血常规检测更快捷、更方便。然而由于标本量的迅速增加,大多数医院从血液采集到标本测定一般要2~4 h,其检测结果不一定能反映患者当时的真实情况。另外,在临床实际工作中,经常遇到患者短时间内两次的血液分析结果之间存在一定的差异,这种差异可能是由于个体指标的生理波动,也可能是因为标本采集、贮存等原因^[2]。就此作者分别对不同抗凝剂及不同放置时间的静脉血样本进行血常规测定,观察不同抗凝剂及放置时间对测定结果有无影响^[3]。

1 材料与方法

1.1 标本来源 门诊患者随机血液样本40份。

1.2 仪器 MET(迈瑞)BC5500血细胞分析仪。

1.3 试剂 MET稀释液、METLEO(I)溶血剂、METLEO(II)溶血剂、METLH溶血剂、METLBA溶血剂、肝素抗凝管和乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管均为江苏康健医疗用品有限公司提供。

1.4 方法 分别取静脉血3 mL于肝素抗凝管中,2 mL于

EDTA-K₂抗凝管中,立即颠倒混匀8~10次,分别于即刻,0.5、1、2、3、4、5、6、12 h在MET(迈瑞)BC5500血细胞分析仪上以手工全血模式检测白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、血细胞比容(Hct)、血小板计数(PLT),在此过程中血液置室温(18~25℃),加塞密封保存。

1.5 统计学处理 以EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果为对照,其余各组结果与之比较,采用SPSS17.0统计学软件进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

WBC在3 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);RBC在6 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);在12 h内,以肝素抗凝的静脉血与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。Hb在12 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。Hct在6 h内与EDTA-K₂抗凝的静脉血即刻结果相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);以肝素抗

凝的静脉血与 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血即刻结果相比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。PLT 在 1 h 内与 EDTA-K₂ 抗凝的

静脉血即刻结果相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 血常规数据分析 ($\bar{x} \pm s$)

保存时间	抗凝剂	WBC($\times 10^9/L$)	<i>P</i>	RBC($\times 10^{12}/L$)	<i>P</i>	Hb(g/L)	<i>P</i>	Hct	<i>P</i>	PLT($\times 10^9/L$)	<i>P</i>
即刻	EDTA	8.71 \pm 2.83	—	4.51 \pm 0.39	—	128.9 \pm 13.6	—	38.6 \pm 3.8	—	232.2 \pm 51.6	—
	肝素	9.13 \pm 3.00	0.077	4.50 \pm 0.42	0.905	129.7 \pm 14.5	0.343	38.0 \pm 4.2	0.128	167.6 \pm 88.4	0.024
0.5 h	EDTA	8.73 \pm 2.79	0.831	4.54 \pm 0.40	0.372	128.8 \pm 13.8	0.832	38.8 \pm 3.9	0.618	233.1 \pm 52.9	0.317
	肝素	9.00 \pm 2.96	0.078	4.48 \pm 0.42	0.346	130.0 \pm 14.2	0.185	37.7 \pm 4.1	0.010	97.7 \pm 59.3	0.000
1 h	EDTA	8.75 \pm 2.84	0.690	4.49 \pm 0.37	0.482	129.1 \pm 13.8	0.705	38.3 \pm 3.6	0.126	237.0 \pm 54.2	0.056
	肝素	8.82 \pm 2.97	0.501	4.46 \pm 0.36	0.273	129.9 \pm 14.3	0.186	37.5 \pm 3.7	0.016	153.1 \pm 40.9	0.000
2 h	EDTA	8.90 \pm 2.95	0.311	4.50 \pm 0.42	0.935	129.3 \pm 14.7	0.648	38.3 \pm 4.0	0.392	237.7 \pm 51.3	0.010
	肝素	8.53 \pm 2.86	0.384	4.50 \pm 0.39	0.788	129.9 \pm 14.6	0.148	37.8 \pm 4.0	0.030	142.4 \pm 48.2	0.000
3 h	EDTA	8.66 \pm 2.77	0.840	4.46 \pm 0.37	0.206	129.5 \pm 14.0	0.343	38.3 \pm 3.7	0.165	238.6 \pm 51.1	0.013
	肝素	8.34 \pm 2.72	0.148	4.52 \pm 0.42	0.799	130.6 \pm 14.6	0.056	37.9 \pm 3.9	0.043	129.0 \pm 45.3	0.001
4 h	EDTA	9.08 \pm 2.99	0.002	4.51 \pm 0.40	0.809	129.4 \pm 13.9	0.381	38.3 \pm 3.9	0.181	237.9 \pm 54.2	0.022
	肝素	8.13 \pm 2.99	0.008	4.46 \pm 0.41	0.310	130.4 \pm 14.4	0.120	37.4 \pm 4.0	0.014	144.2 \pm 37.0	0.000
5 h	EDTA	9.13 \pm 2.98	0.001	4.52 \pm 0.44	0.918	129.3 \pm 14.0	0.534	38.6 \pm 4.0	0.814	239.3 \pm 58.1	0.040
	肝素	8.08 \pm 2.60	0.020	4.47 \pm 0.40	0.439	130.1 \pm 14.2	0.161	37.5 \pm 4.1	0.029	137.2 \pm 48.1	0.000
6 h	EDTA	8.95 \pm 2.92	0.038	4.54 \pm 0.37	0.107	129.3 \pm 13.7	0.223	38.5 \pm 3.8	0.435	240.2 \pm 53.8	0.018
	肝素	7.74 \pm 2.65	0.000	4.49 \pm 0.40	0.700	130.1 \pm 14.2	0.140	37.7 \pm 4.1	0.025	130.0 \pm 35.0	0.000
12 h	EDTA	9.11 \pm 2.65	0.010	4.59 \pm 0.43	0.019	129.4 \pm 13.9	0.244	39.2 \pm 4.3	0.047	242.8 \pm 56.3	0.006
	肝素	8.09 \pm 3.14	0.036	4.53 \pm 0.44	0.720	129.6 \pm 14.5	0.173	37.6 \pm 4.0	0.040	149.1 \pm 50.0	0.002

注: —表示无数据。

3 讨论

随着医学科技的发展, 实验室的检查结果对临床诊断工作的影响越来越明显, 血液标本因素是影响临床分析准确性和可靠性最重要、最直接的因素。但是影响血液标本的因素也是多种多样的, 为确保实验数据的真实、可靠, 应从患者的准备、标本收集、贮存、处理等方面入手。作者就抗凝剂和血液标本放置时间对血液常规检验结果的影响加以总结。

作者在本次实验中使用了深圳迈瑞生产的 BC5500 血常规分析仪进行检测, 选择了 WBC、RBC、Hb、Hct、PLT 进行观察。由表 1 可以看出, 经 EDTA-K₂ 和肝素抗凝静脉血放置不同时间后, 与经 EDTA-K₂ 抗凝静脉血的即刻结果相比较, WBC 检测结果 3 h 内差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。检测 WBC 时应使用 EDTA-K₂ 作为抗凝剂, 置 18~22 °C 温度下直接检测, 从标本采集到检测的时间间隔不应超过 4 h, 与文献基本一致^[4]。RBC 在 6 h 内与 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血即刻结果相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 在 12 h 内, 以肝素抗凝的静脉血与 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血即刻结果相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明肝素和 EDTA-K₂ 这两种抗凝剂可以较长时间保持 RBC 检测的稳定性, 基本能满足临床需要^[5]。Hb 测定采用的是氧化高铁血红蛋白测定法, 测定过程中需要加入溶血剂溶解 RBC 后测定, 实验结果表明在 12 h 内, 以肝素抗凝的静脉血与 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血即刻结果

相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 所以其测定结果与抗凝剂种类及放置时间关系不密切。Hct 测定一直推荐采用双草酸盐抗凝、温氏法离心测定^[6], BC5500 血细胞分析仪由测定 RBC 和红细胞平均体积 (MCV) 后导出, $Hct = RBC \times MCV$ 。本次研究结果显示, 以 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血测定的 Hct, 在 6 h 内与即刻结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 放置 12 h 后差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 可能由于随着计数次数的增加, 血液标本量已不足 1 mL^[7]。PLT 在 1 h 内与 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血即刻结果相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 1 h 后即差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明储存时间过久可导致 PLT 计数偏低。而以肝素抗凝即刻检测的 PLT 结果与 EDTA-K₂ 相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明肝素不能用于 PLT 计数。

综上所述, 肝素不适宜用于血常规测定, 而应使用 EDTA-K₂, 标本放置时间对血常规各参数均有影响, 其中 RBC 系列参数较稳定, WBC 次之, PLT 影响最大, 采集标本后, 最好在 1 h 内检测完毕, 可为临床提供更为真实、可靠的结果。

参考文献

- [1] 乐家新, 丛玉隆. 血细胞分析技术进展与临床应用[J]. 继续医学教育, 2006, 20(26): 43-48.
- [2] 张仲远, 迟红梅. 血液细胞检验中的注(下转第 2873 页)

表 1 AFP 测定的偏差及其可接受性

项目	低值	中值	高值
总均值(Y)	5.42	18.59	371.09
标示值(C)	5.46	18.94	372.15
偏差(D)=Y-C	-0.04	-0.35	-1.06
总允许误差(1/2TEa) ^a	0.08 ^b	0.39 ^c	1.45 ^d
可接受性	接受	接受	接受

注:^a表示 CLIA88 TEa=3S,^b表示 s=0.05,^c表示 s=0.26,^d表示 s=0.95。

表 2 AFP 测定的不精密度及其可接受性

项目	低值	中值	高值
总批内方差	0.020	0.060	26.879
每日均值方差	0.021	0.099	6.944
校正的日间方差	0.014	0.080	0
总不精密度方差	0.034	0.014	26.879
总不精密度标准差	0.184	0.374	5.184
总均值	5.420	18.590	371.090
总不精密度变异系数	3.395	2.012	1.397
总允许不精密度(%)	5	5	5

表 3 AFP 检测各系统性能参数分析

项目	截距	斜率	交叉污染	非线性	线性漂移
P	-125.422	13.575 6	0.176	169.501 2	-0.333 4
t	-265.180	280.970 0	0.900	317.820 0	-1.240 0

注:如果 $t > 4.6$ 或 $t < -4.6$, 则 t 值差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3 讨 论

近年来,随着不同地区、不同国家制定疾病同一标准的迅速开展,使得对临床检验结果具有准确性和可比性的要求越来越强烈。实现检验结果准确和有可比性的重要手段是建立和保证检验结果的溯源性^[5],但要实现检验结果的溯源性和可比性的前提是对检测系统的性能进行确认。因此,ISO15189:2007《医学实验室-质量和能力的专用要求》规定当实验室引进新设备、新分析方法时,需要对其进行简单的、初步的性能评价,以判断它是否符合要求。

EP10-A2 文件的全称为“定量临床实验方法的初步评价”

(上接第 2871 页)

- 意事项及质量控制[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(24): 3212-3213.
- [3] 何萌. 静脉血样本放置时间对血常规测定的影响[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(14): 1150-1152.
- [4] 熊立凡, 刘成玉. 临床检验基础[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 43.
- [5] 阳长清. 血液静置时间的不同对血常规结果的影响[J].

(Preliminary Evaluation of Quantitive Clinical Laboratory Methods), 是临床实验室标准化协会的系列标准化文件之一。此文件主要用于评价临床实验室定量分析方法的线性、偏差和不精密度, 可用于对自动分析仪、试剂盒、手工操作或其他临床体外诊断方法的初步评价。EP10-A2 仅用 5 d(可不连续)即可完成全部测试, 按照其设定的测试顺序(中、高、低、中、中、低、低、高、高、中), 便可一次性完成检测系统性能初步评估。与其他评价方法相比, EP10-A2 程序较为简便, 可操作性强, 在国内大多基层医院都能实现。在本次系统性能评价测试中测定 AFP 的偏差、不确定度均在允许范围内。高、中、低 3 种浓度总均值与标定值偏差很小, 在其测试范围内线性良好。多元回归方程对 5 项参数(截距、斜率、交叉污染、非线性、线性漂移)进行统计分析, 从表 3 可看出, 显示线性漂移、交叉污染的回归参数 $P > 0.05$, 表明两者对精密度的影响差异无统计学意义, 而截距、斜率、非线性差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 可能与选择标本的 AFP 浓度有关, 也提示在实际检测标本过程中要注意标本浓度对线性范围的影响, 对超出线性范围的标本可对其进行稀释处理。

通过此评价程序后, 显示检测系统未见交叉污染、线性漂移等因素对精密度有显著影响, Roche E411 性能是可靠的, 适合临床实验室使用。但操作人员还可应用 EP9(方法学比较)、EP5(仪器精密度评价)、EP6(线性评价)等对该系统进行进一步的评价。在日后的应用工作中, 还需进行室内质量控制和参加室内质量评价工作, 对系统的精密度、准确度进行监控。

参考文献

- [1] 武学成, 何林, 周克元. 时间分辨荧光免疫分析技术及临床应用[J]. 医学综述, 2006, 12(7): 434-436.
- [2] 周建光, 杨梅. 电化学发光免疫分析技术与临床应用[J]. 医疗装备, 2010, 23(5): 23-24.
- [3] NCCLS. EP9-A2: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples[S]. Wayne, PA: NCCLS, 2002: 59.
- [4] 张雯艳, 钱丽娜, 丁家华. 临床实验室检测系统和溯源[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 30(1): 1-3.
- [5] 熊莺, 孙午. 酶测定中试剂和校准物对溯源的影响[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(24): 1893-1894.

(收稿日期: 2011-07-07)

检验医学与临床, 2009, 6(12): 988.

- [6] 陈中新, 徐云侠, 田玲莉, 等. 三种抗凝剂抗凝血测定红细胞比积结果的比较[J]. 实用全科医学, 2007, 5(1): 82.
- [7] 徐云侠, 王银娥, 汪文英, 等. 真空管采血量不足对血液分析仪分析结果的影响[J]. 中华全科医学, 2009, 7(3): 322-323.

(收稿日期: 2011-07-22)