

病发生的危险性增加。

现有研究认为氧化型的 Lp(a), 氧化、天然 Lp(a)-IC 的检测均比 Lp(a) 特异, 是其检测的一个发展方向, 另外, 从分子水平对 Lp(a) 进行分析, 不仅可以进一步了解其机制, 还可以在此水平上进行诊断、治疗。

参考文献

- [1] 吴志俊, 陆国平. 脂蛋白(a)与动脉粥样硬化[J]. 诊断学理论与实践, 2007, 6(5): 460-462.
- [2] 张剑, 关琪. 脂蛋白(a)检测及其临床应用[J]. 沈阳医学院学报, 2006, 8(4): 296-299.
- [3] 段美晶, 买买提·阿不都热依木. 纤维蛋白原联合脂蛋白 a 对冠心病诊断的研究进展[J]. 临床内科杂志, 2009, 26(3): 213-214.
- [4] Sticchi E, Lenti M, Giusti B, et al. LPA+93C>T and +121G>A polymorphisms detection by electronic microchiptechnology[J]. Mol Genet Metab, 2007, 91(1): 79-84.
- [5] Chretien JP, Coresh J, Berthier-Schaad Y, et al. Three single-nucleotide polymorphisms in LPA account for most of the increase in lipoprotein(a) level elevation in African Americans compared with European Americans[J]. J Med Genet, 2006, 43(12): 917-923.
- [6] Rocic P, Govindarajan G, Sabri A, et al. A role for PYK2 in regulation of ERK1/2 MAP kinases and PI 3-kinase by Ang I in vascular smooth muscle[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2001, 280(1): 90-99.
- [7] D' Angelo A, Ruotolo G, Garancini P, et al. Lipoprotein (a), fibrinogen and vascular mortality in an elderly northern Italian population[J]. Haematologica, 2006, 91(12): 1613-1620.
- [8] 陈波. 脂蛋白(a)与冠状动脉粥样硬化病变严重程度的关系[J]. 中西医结合杂志, 2007, 5(12): 1196-1197.

- [9] 陈亚丽, 谢雪玲, 王阳. 血清脂蛋白 a 与冠状动脉疾病进展相关性研究[J]. 河北医药, 2007, 29(5): 440-441.
- [10] 努尔巴哈提, 王喜萍. 脂蛋白 a 及 ApoA1/ApoB 与急性冠脉综合征关系研究[J]. 中国医药导航, 2008, 10(6): 898-899.
- [11] 薛炼, 孙晓明, 尹秋霞. 脂蛋白(a)的生化特征与动脉粥样硬化[J]. 中国现代临床医学杂志, 2006, 5(10): 49-52.
- [12] McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ, et al. cDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen[J]. Nature, 1987, 330(6144): 132-137.
- [13] Marcovina SM, Koschinsky ML. Evaluation of lipoprotein (a) as a prothrombotic factor: progress from bench to bedside[J]. Curr Opin Lipidol, 2003, 14(4): 361-366.
- [14] Li XN, Grenett HE, Benza RL, et al. Genotype-specific transcriptional regulation of PAI-1 expression by hypertriglyceridemic VLDL and Lp(a) in cultured human endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(11): 3215-3223.
- [15] Sotiriou SN, Orlova VV, Al-Fakhri N, et al. Lipoprotein (a) in atherosclerotic plaques recruits inflammatory cells through interaction with Mac-1 integrin[J]. FASEB J, 2006, 20(3): 559-561.
- [16] 张宝臣, 白瑞军. 脂蛋白(a)与冠状动脉粥样硬化相关性的研究进展[J]. 中国医药导报, 2008, 10(4): 593-594.
- [17] 汪俊军, 顾振华, 张春妮, 等. 脂蛋白(a)氧化和自身免疫与动脉粥样硬化的关系[J]. 医学研究生学报, 2005, 18(8): 740-742.
- [18] 汪俊军, 顾振华, 李雯, 等. 脂蛋白(a)循环免疫复合物诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(11): 1185-1188.

(收稿日期: 2011-09-24)

全自动血细胞分析仪白细胞计数与手工计数应用比较

杨静梅 综述, 林一民 审校(重庆市肿瘤研究所临床检验科 400030)

【关键词】 血细胞分析仪; 白细胞计数; 手工计数
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 08. 037 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)08-0961-03

血细胞分析仪经过电阻抗、流式技术进行细胞计数, 运用低频或高频电磁、直流电、激光散射(经一个或多个角度)、过氧化物酶法等方法, 把白细胞分成 5、6、7 种类型, 并且以散点图的形式表示^[1]。例如 XT-2000i 全自动五分类血细胞分析仪采用半导体激光流式细胞术及液路聚焦加电阻抗方法, 特别是在白细胞分类方面大大优于三分类血细胞分析仪^[2]。Sysmex 配套试剂中的表面活性剂使红细胞和血小板裂解成碎片, 并使白细胞膜受损, 造成其通透性增加, 试剂中的聚次甲基荧光燃料就进入破损的白细胞内, 与细胞内的核酸以及细胞质内的细胞颗粒相结合, 当这些白细胞被激光照射时, 侧向荧光的强度就与细胞内的核酸含量呈正比^[3]。XT-2000i 对网织红细胞的 RNA 染色, 通过 RNA 含量的不同区分网织红细胞和成熟红细胞, 通过 DNA 和 RNA 含量的不同区分网织红细胞和有核红细胞。

然而, 许多因素会导致白细胞数和分类的不准确, 例如许

多血细胞分析仪会把没有被溶血素溶解的较大颗粒(如体积大于血小板)误认为是白细胞, 从而导致假性白细胞计数增高和分类不准确。这时白细胞散点图可能显示异常的检测结果并给出提示。

白细胞分类计数是临床血液学检验的常规项目之一, 具有重要的临床意义。一直以来, 白细胞分类计数都是以显微镜油镜目视计数法作为“金标准”, 这是任何血细胞分析仪都不能取代的^[4]。但是血细胞分析仪计数快速、方便, 测定项目多, 也是显微镜法无法比拟的。经过几十年来的改进, 血细胞分析仪在性能上得到了极大的完善, 目前血细胞分析仪在临床上得到了广泛的使用, 大大提高了临床血液学检验的质量和效率, 但是在鉴别血细胞形态和结构方面还存在一定的缺陷, 尤其是白细胞分类计数, 导致部分结果的不准确, 影响临床上对病情的判断。由于其临床意义重大, 血细胞分析仪测定只能作为一种过筛手段。

1 血液分析仪的发展历史

传统的血液常规检查完全采用显微镜手工方法。血细胞计数、白细胞分类结果准确性、可靠性受到一定影响,检验人员费时费力,在大批量标本检查时难以发出报告。1947 年美国科学家库尔特(Coulter)发明了用电阻法计数粒子的专利技术。1956 年他又将这一技术应用于血细胞计数获得成功,其原理是根据血细胞非传导的性质,以电解质溶液中悬浮血细胞在通过计数小孔时引起的电阻变化进行检测为基础,进行血细胞计数和体积测定,这种方法称为电阻法或库尔特原理。20 世纪 60 年代末血细胞分析仪除可进行血细胞计数外,还可以同时测定血红蛋白。20 世纪 70 年代计算机技术快速发展,将血小板计数的繁琐手续(手工分离富血小板血浆后再进行血小板计数),改进成血小板与红细胞同时计数。20 世纪 80 年代,在 8 项检测基础上加上红细胞指数、三个直方图的报告,不仅提供是否贫血,且可对贫血的类型和原因进行分析;血小板参数对止血和血栓疾病的诊断及一些疾病的疗效观察有重要价值。20 世纪 90 年代,将激光、射频、化学染色技术应用于对细胞特性的分析,出现了五分类血细胞分析仪。

2 白细胞分类技术的进展

最早进行白细胞分类的设备仅根据白细胞的体积分布情况将淋巴细胞单独划分出来。在 1970 年起 Coulter 公司开始设计对白细胞进行分群的仪器,并首先推出了两分类的 S-PLUS 系列仪器,然后在 1980 年又推出了 T 系列,都是可进行白细胞两分群的仪器,大家比较熟悉并仍在使用的 Sysmex F800 和 F820 型也是根据白细胞体积分布直方图进行粗略两分类的仪器。目前半自动或全自动型具有 18 参数含白细胞三分群的血细胞分析仪已经成为我国医院检验科的主流血细胞分析仪。仅仅根据简单的体积分析法就将血细胞进行分类,无论是三分群还是两分群,其实是将细胞按照体积大小进行了简单的分群处理,实际上是不科学的,因此,国内专家建议将此分类统一称呼为分群(group),即两分群型或三分群型血细胞分析仪。

3 仪器法与手工法的临床应用现状

随着五分类血细胞分析仪的逐渐普及和不断发展,测试原理也不断更新,但计数和分类原理大同小异,分析结果和显微镜检查仍有一定差距,迄今为止尚无一台血细胞分析仪能完全替代显微镜检查,检验工作人员对三分群血细胞分析结果的复检还比较重视,而对五分类血细胞分析有较大的依赖性,即显微镜涂片检查的重视程度不够。因此,给临床提供了一定数量的假阴性结果,这必将导致漏诊及误诊,因此强调显微镜检查和制定适宜的镜检筛选条件对保证血细胞分析结果的准确性具有十分重要的意义^[5]。目前在血细胞形态学方面,无论是五分类还是更多的分类,仍然不能根本解决血液细胞形态学的问题。此外仪器还存在一些固有的误差产生因素、影响仪器计数准确性的少数因素,某些仪器还存在缺陷和局限性,因此仍然会有问题发生。由于血细胞形态的多样性和复杂性,特别是在病理情况下,仅仅依靠分析仪无法保证检测结果的可靠性^[6]。多种原因所致仪器测定白细胞假性减少或假性增高,例如许多血细胞分析仪会把没有被溶血素溶解的较大颗粒(如体积大于血小板)误认为是白细胞,从而导致假性白细胞计数增高和分类不准确,如果不及时识别则会造成临床的误诊或误治。因此,对此类问题的认识和及时地识别有重要的临床指导意义,同时亦可避免由此引起的医疗纠纷。

在临床检验工作中,作者有以下体会:随着全自动血细胞分析仪的普及,它一方面提高了临床血细胞分析的质量和效

率,另一方面由于仪器的机械性及血细胞形态的多变性,使得仪器结果存在一定比例的误差,遗漏以细胞结构为主且数量、大小方面变化不大的病理细胞,如不典型淋巴细胞、白血病细胞等。显微镜镜检可以检测仪器的准确性及弥补细胞形态方面的不足^[7]。如血涂片镜检寻找寄生虫,观察白细胞中的中毒颗粒、空泡变化、核变性及多分叶现象等。仪器对分析异常细胞仍是筛选,对于提示检测结果异常的标本或临床上高度怀疑细胞形态异常,均应按操作规程认真进行显微镜的细胞形态学符合检查,以免漏检或误诊,给临床诊断、治疗工作带来不良影响^[8]。有文献报道单核细胞不易与淋巴细胞相区别,如在仪器提示单核细胞增多而显微镜镜检未见增多的患者,实际是异型淋巴细胞^[9]。异常的直方图只能提示检查者,患者的血样中可能存在白细胞分类异常,需要结合患者的病情进行综合分析。对仪器检测结果与患者病情不一致时,要及时复查,并制订复查的标准。要认真对待每个实验样品和结果,这一切都有待于在熟练掌握仪器性能和不断提高自己知识水平的基础上,通过扎实的临床检验学基本功来解决。

根据朱晓辉等^[10]提出的复检条件,参照有关血细胞分析复检规则^[11],总结以下需要涂片镜检的条件:(1)直方图或散点图出现异常;(2)仪器检测结果各参数之间出现矛盾;(3)仪器检测结果与临床表现和初诊明显不符;(4)临床初诊或提示有白血病等血液病;(5)临床医生指定要镜检;(6)新生儿的血样;(7)白细胞分类计数没有或不全,或结果异常;(8)白细胞计数首次结果大于 $20.0 \times 10^9/L$ 或小于 $3.0 \times 10^9/L$,血小板计数首次结果大于 $500.0 \times 10^9/L$ 或小于 $70 \times 10^9/L$,血红蛋白首次结果小于 $70 g/L$ 。

4 结 语

目前,国内使用的五分类仪器都是根据白细胞的体积大小分类,它虽能区分嗜酸性、嗜碱性及单核细胞,但尚不能识别幼稚细胞、异型淋巴细胞和有核红细胞及中性粒细胞中毒性病变,尽管现代高科技不断在血细胞分析仪上应用,多方位测定同一个细胞的高档血细胞分析仪相继问世,但迄今无一台血细胞分析仪能完全代替显微镜进行白细胞分类,而只能起筛选作用。显微镜(油镜)白细胞分类计数被业界公认为细胞分类的“金标准”。结合临床患者及有关资料提出重视血常规的涂片染色镜检,是临床工作的需要,是多年来在医学检验界形成的良好传统,应坚持下去。不能单方面使用自动血细胞分析仪就不再做涂片染色镜检,从而影响检验结果的质量,甚至造成漏检和误诊,这样给临床诊断、治疗工作带来不良影响,应予以高度重视。

总之,在日常的血细胞分析中,不能过分依赖血细胞分析仪,其会因多种因素出现假性白细胞计数,这类仪器在鉴别血细胞形态和结构方面还不够完善,目前仅可作为血细胞分析的一种过筛手段^[12]。情况较为复杂,很难及时发现和准确鉴别。因此,必须根据仪器的提示进行显微镜复检,并结合散点图再根据临床病情方可提供准确、可靠的检验报告。有异常结果也要及时与临床医师联系,防止疾病的漏检、漏诊,同时也应更多地了解临床方面的知识。

参考文献

- [1] 陈斌,周小棉.全自动血细胞分析仪中白细胞假性计数研究进展[J].国际检验医学杂志,2009,30(3):240-241.
- [2] 敖继红,谭为,朱小燕.XT-2000i 血液分析仪报警信息分析及临床应用探讨[J].中国实用医药,2008,3(35):246-247.

- [3] 江虹,曾婷婷.全自动血细胞分析和白细胞分类复检规则的制定及评价[J].中华检验医学杂志,2007,30(9):996-998.
- [4] 王靖.白细胞分类显微镜法与 CD1600 血细胞分析仪法的对比分析[J].中国中医药咨询,2010,7(2):119.
- [5] 尹杰,权志博,贾平选,等.血细胞分析镜检标本筛选条件的制定及应用[J].现代检验医学杂志,2006,21(3):85.
- [6] 田露,汤萌,程爱香.血细胞形态学检查在临床工作中的应用体会[J].实验与检验医学,2010,28(5):527.
- [7] 薛春玲,黄东平. SF-3000 血细胞分析仪显微镜复检规则的制定和应用[J].临床医学工程,2010,17(1):41-42.
- [8] 吴玲玲,秦芳,黄爱军,等. SYSMEX XS800i 血液分析仪提示白细胞异常的可信度分析[J].临床输血与检验,2008,10(4):300-302.
- [9] 陈小剑,王晓欧,李绵绵,等. XE-2100 血细胞分析仪血涂片复检标准制定及评价[J].中华医学检验杂志,2007,30(4):384-386.
- [10] 朱晓辉,马洪玉,朱忠勇.应用血液学分析仪后显微镜复检标准刍议[J].中国实验诊断学,2006,3(10):296-298.
- [11] XE-2100 血细胞分析复检标准制定协作组. Sysmex XE-2100 自动血细胞分析和白细胞分类的复检规则探讨[J].中华检验医学杂志,2008,31(7):752-757.
- [12] 许顺姬. Sysmex SE-9000 血液分析仪白细胞异常信息的相关分析[J].现代预防医学,2007,34(21):4155.

(收稿日期:2011-10-01)

提高计算机辅助精液分析结果的准确性

李 丽,曾金良 综述,卢卫国 审校(广州中医药大学第一附属医院,广州 510405)

【关键词】 精液分析; 男科疾病; 计算机; 辅助系统; 图像处理

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.08.038 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)08-0963-03

精液分析是评价男性生殖能力的一项重要临床检验项目,也是为男科疾病诊断治疗及疗效观察提供的实验室依据。20 世纪 80 年代发展起来的计算机辅助精液分析(computer-aided semen analysis,CASA)系统将现代化的计算机技术和先进的图像处理技术应用于精子质量的临床检验,通过对精子动态图像中精子特性的全面分析,为临床提供有关精子质量各项指标的准确数据^[1]。随着计算机辅助精液分析的不断发展,精液的常规分析(routine semen analysis,RSA)有逐渐被计算机辅助系统取代的趋势^[2]。但是由于实验室环境、样本制备、检验人员工作态度、理论和操作水平、实验室所用显微镜光学系统、系统分析软件、系统参数设置等的不同,造成精液分析报告的可比性和通用性较差,因此,探讨 CASA 结果的影响因素及改进方法,对提高其临床应用价值及建立实验室标准操作程序、质量控制和评估体系均有重要意义。

1 CASA 检测原理及与 RSA 的比较

CASA 是利用录像机或摄像机和计算机视屏技术产生的新技术,其原理是通过摄像机或录像机与显微镜连接,确定和跟踪单个精子细胞的活动,根据设定的有关参数对采集到的图像进行动态处理分析,并打印结果,其具有高效、客观、高精度的特点,同时多种精子运动参数、动态图像及运动速度和活力分级的直方图可为临床医生提供更多的信息。RSA 虽有规范化的操作规程,但操作繁琐费时、带有很大的主观性、重复性差,尤其对精子运动能力的判断缺少严格量化指标,不能完全适应临床工作的需要。而 CASA 系统大大克服了传统精液测定方法的缺陷,但同时它也有一定的局限性,如识别精子的准确性受精液中细胞成分和非细胞颗粒的影响,计算精子存活率时只有精子发生了一定的移位,CASA 系统才认为是活动精子,而对原地摆动的精子则判定为不活动精子,测出的值常低于实际结果。CASA 测定的是单个精子运动参数,缺乏对精子群体的了解。精子密度高时通常会增加碰撞的频率,并可能由此得出错误结果。安茂伟等^[3]对 145 例精液标本在进行 CASA 的同时进行 RSA 分析,发现 RSA 检测同一份精液标本,不同的检验者得出的结果往往相差很大,即使同一位检查者进行多次检查时其结果也不相同。这主要是因为检测者受主观因

素的影响较大,特别是对精子活率和活力分级的统计很大程度上依赖于检测者的经验和主观判断。CASA 技术能够克服 RSA 中主观因素的影响,在快速测定精子密度、活率、活力等参数的同时,还能显示精子的运动轨迹,分析与精子运动相关的各类参数,并且可以进行报告的打印、存储、查询,便于临床科研的比较和分析。张华等^[4]通过对 27 例生育男性及 317 例不育男性患者采用 CASA 与 RSA 各参数的比较,认为 CASA 对精子形态、活力辨别能力较 RSA 低,但其增设的量化指标及动态图像能客观、真实地反映精子的质量,是 RSA 所不能的。蔡志华等^[5]认为 CASA 改变了传统繁琐的手工操作方法,提高了检验质量,是精子动态学分析技术领域里程碑式的突破,然而影响其准确性的因素还很多,如系统阈值、灰度的调整、圆细胞的记数、检验人员对仪器性能的熟悉程度、仪器日常的质量控制等。综上所述,CASA 虽有 RSA 无法比拟的优势,但也不是完美无缺,有时需与手工常规分析结合验证才能保证结果的准确。

2 对影响 CASA 系统检测结果准确性主要相关因素分析

造成 CASA 报告结果的差异有多方面的原因,主要有待检标本、检验人员、仪器试剂三方面的因素,加强对上述因素及环节的监控是提高精液分析结果准确性的唯一途径。

2.1 标本因素 泛指分析前影响标本质量的所有因素,包括患者准备、精液采集与送检、标本确认等,而这些往往是检验人员最难以控制的环节,故需加强对医护人员相关知识的宣传和培训,建立送检标本的验收制度和验收程序,对质量不符合要求的标本应有退回或拒收的标准操作程序^[6]。标本采集前应禁欲至少 48 h 但不超过 7 d,否则会影响标本精子密度、活动力及形态等。由于男性精液分析结果可有相当大的波动性和变异性,初检者应检查 2 次或 2 次以上,2 次之间间隔应大于 7 d 但不超过 3 周,禁欲的天数应尽可能恒定。标本采集以手淫法为宜,收集精液要用对精子无毒性作用的广口玻璃或塑料容器。采集地点最好在实验室附近的取精室内单独进行,室温应保持在 20~40 ℃,将完整标本 1 h 内送检。如果未收集到射出的全部精液,特别是丢失了射精过程中的第一部分精液的标本,以及标本运送时间过长(超过 2 h)的标本,均不能进行精