

· 论 著 ·

红细胞比容对全血 C 反应蛋白结果影响及校正方案的探讨*

田野¹, 陶恬², 张岩¹, 李佩¹, 郑芳芳¹, 聂秋燕¹, 刘晴¹,
王晓宁¹, 古媛¹, 李卓敏¹, 谭延国^{1△}

(1. 首都医科大学附属复兴医院检验科, 北京 100038; 2. 首都医科大学 2013 级
医学检验系本科, 北京 100050)

摘要:目的 分析使用快速 C 反应蛋白(CRP)测定仪时,在全血模式下,红细胞比容(HCT)对结果的影响,并初步探讨校正方案。方法 (1)使用乙二胺四乙酸(EDTA-K₂)抗凝的全血,配制两组 HCT 系列梯度的标本,用快速 CRP 测定仪测定其 CRP 水平,同时用血细胞分析仪测定其 HCT,探讨 HCT 对全血 CRP 水平的影响;(2)检测 120 例患者的血液标本,每例患者同时测定其 HCT、快速法测定全血 CRP,IMMAGE 800 测定血清 CRP(作为参照检测系统),以后者为因变量、前两者为自变量做线性回归,推导校正公式;(3)使用 50 例 HCT 处于不同范围的标本验证校正公式。结果 (1)全血 CRP 水平与 HCT 值呈显著负相关关系($P < 0.05$);(2)以 120 例标本的全血 CRP 水平和 HCT 值推导出的校正公式为: $CRP_{校正} = 49.3 \times HCT + 0.84 \times CRP_{全血} - 14.17$ ($R^2 = 0.991, P < 0.05$);(3)Bland-Altman 分析法显示,校正前全血 CRP 水平与参照结果无一致性,而校正后则一致性很好。结论 HCT 值显著地影响全血 CRP 测定结果,有必要对全血模式下测定的 CRP 结果结合 HCT 进行校正,以使结果更准确。

关键词: C 反应蛋白; 红细胞比容; 校正公式

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.002 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)23-3425-03

The investigation of hematocrit influence on CRP detection using whole blood samples and corresponding corrective measure*

TIAN Ye¹, TAO Tian², ZHANG Yan¹, LI Pei¹, ZHENG Fangfang¹, NIE Qiuyan¹,
LIU Qing¹, WANG Xiaoning¹, GU Yuan¹, LI Zhuomin¹, TAN Yanguo^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China;
2. Grade 2013, Laboratory Medicine, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To investigate the influence of hematocrit(HCT) on C reactive protein(CRP) level under the whole blood mode of a Point of Care Test(POCT) CRP analyzer, and to discuss preliminarily corrective measure. **Methods** Two sets of samples of serial HCT gradients were respectively prepared with routine blood samples collected into EDTA-K₂ tubes from two patients, whose CRP levels and HCT were tested with POCT CRP analyzer under whole blood mode and blood cell analyzer, respectively, so as to show the impact of HCT on CRP levels. CRP levels were tested by POCT CRP analyzer using whole blood samples(CRP whole blood) from the same patients, and Immunochemistry system(IMMAGE 800, as reference system) using serum samples(CRP serum), respectively, from a total of 120 patients, whose HCT values were also tested. Then linear regression was performed to deduce correction formula, with CRP whole blood and HCT as independent variables, and CRP serum as dependent variable. The correction formula was further validated with samples of different HCT values from 50 patients. **Results** The CRP levels of whole blood samples negatively correlated with HCT values(all $P < 0.05$). The correction formula: $CRP_{correction} = 49.3 \times HCT + 0.84 \times CRP_{whole\ blood} - 14.17$ ($R^2 = 0.991, P < 0.05$). Bland-Altman Analysis method showed that the original CRP_{whole blood} levels were incomparable with CRP serum levels, but after correction, a comparable outcome was observed. **Conclusion** HCT values affect CRP_{whole blood} levels remarkably, which needs to be corrected based on their corresponding HCT values, so as to obtain more accurate results.

Key words: C-reactive protein; hematocrit; corrective formula

C 反应蛋白(CRP)是一种能与肺炎链球菌 C 多糖反应的急性时相反应蛋白,具有多种生物活性。CRP 除了常被用于细菌和病毒感染的鉴定外,在机体防御、心血管疾病的发生发展中也扮演着重要角色^[1-3]。CRP 的检测方法众多,目前应用最为广泛的技术为免疫比浊法(包括透射比浊和散射比浊)^[4]。为了能够在尽量短的时间内得到检测报告,快速全血 CRP 检测系统被日益广泛使用^[5]。它虽具有检测周期短、操作简单等优点,但由于使用全血标本加样,最终结果需转化为血清或血

浆 CRP。而红细胞比容(HCT)高低决定了单位体积血液标本中血清或血浆的水平,从而影响 CRP 的最终结果。由于多数实验室并未就 HCT 水平对全血 CRP 测定的影响进行关注并采取校正措施,本文就这一问题进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 12 月至 2017 年 7 月在首都医科大学附属复兴医院就诊的 120 例患者,其中男 71 例,女 49 例;年龄 20~85 岁,平均(43±12.5)岁。

* 基金项目:国家卫生和计划生育委员会医药卫生科技发展研究中心专项课题资助(28-5-5);首都临床特色应用研究(吴阶平)基金项目(Z141107006614008)。

作者简介:田野,男,主管技师,主要从事自身免疫性疾病方面的研究。△ 通信作者,E-mail:tanyanguo61@126.com。

1.2 仪器与试剂 分别使用 IMMAGE 800 特定蛋白分析仪、深圳国赛 Nephstar Plus 特定蛋白分析仪(POCT CRP 分析仪,速率散射比浊法),以及 Sysmex XN2000 全自动血细胞分析仪及各自配套检测试剂,测定血清 CRP 水平、全血标本的 CRP 水平、HCT 值。

1.3 方法 实验前对所用检测仪器进行维护保养并确保室内质控数据在控。

1.3.1 HCT 对全血标本 CRP 水平测定结果影响的初步探索

分别留取两例患者同一时间抽取的两管乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝全血,室温下自然沉降 2 h 后分离血浆,并收集剩余血细胞混匀。以血细胞与血浆不同比例(7:1,6:1,5:1,4:1,3:1,2:1,1:1,1:2,1:3,1:4,1:5,1:6)配制 13 份血液标本(每份标本 200 μL),分别测定 HCT、全血 CRP 水平,并以直线回归的方式探索 HCT 值和全血 CRP 测定结果的关系。

1.3.2 全血 CRP 校正公式的推导 同一时间收集 EDTA 抗凝全血及非抗凝血标本各 1 管,每例患者同时测定其 HCT、快速法测定全血 CRP,IMMAGE 800 测定血清 CRP(作为参照检测系统),以后者为因变量、前两者为自变量做线性回归,推导校正公式。

1.3.3 校正公式有效性的验证 随机选取 50 例患者,分别测定其 HCT 值、全血标本的 CRP 及血清 CRP 水平,然后把 HCT 和全血标本 CRP 水平带入 1.3.2 中校正公式,得到校正后的全血 CRP 水平。再分别比较校正前后全血 CRP 水平与参照检测系统结果的一致性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行数据处理。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。HCT 对全血 CRP 测定的影响,以及以 HCT 和全血 CRP 水平为基础校正公式的推导分别采用单变量和双变量直线回归进行分析。经校正公式校正前后的全血 CRP 水平分别与参照检测系统结果的一致性和可比性使用 Bland-Altman 分析法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HCT 对全血标本 CRP 水平测定结果影响的初步探索

按 1.3.1 方法所得到的两组标本信息见表 1。以全血 CRP 水平与 HCT 值作散点图,显示二者呈明显的负相关关系。两组数据分别经线性回归分析,得到回归方程如下: $Y_1 = 33.04 - 0.325X_1 (r_1 = -0.985, P < 0.05)$, $Y_2 = 60.34 - 0.67X_2 (r_2 = -0.979, P < 0.05)$ 。由此可见,全血 CRP 水平随着 HCT 值的增加明显降低,反之亦然。

表 1 两组标本基本信息描述

分组	n	血浆 CRP 水平 (mg/L)	HCT 值 ($\bar{x} \pm s, \%$)	全血 CRP 水平 ($\bar{x} \pm s, \text{mg/L}$)
第 1 组	13	19.0	38.7 ± 20.8	20.5 ± 6.9
第 2 组	13	33.4	33.8 ± 21.1	37.8 ± 14.3

2.2 HCT 对全血 CRP 检测结果校正公式的推导 以 120 例标本(标本信息见表 2)所对应的 3 个变量(因变量:血清 CRP 水平;自变量 1:全血标本的 HCT 值;自变量 2:全血标本的 CRP 水平)为参数,采用双变量线性回归的方法推导校正公式。最后得到的校正公式为: $CRP_{校正} = 49.3 \times HCT + 0.84 \times CRP_{全血} - 14.17 (R^2 = 0.991, P < 0.05)$ 。

2.3 校正公式的验证 共 50 例标本,其校正前后全血 CRP

水平(标本信息见表 3)分别与参照系统 CRP 水平的可比性或一致性,使用 Bland-Altman 法进行分析。即分别计算校正前或校正后 CRP 水平与参照系统 CRP 水平的差值(DIFF)及均数,用单样本 t 检验比较 DIFF 值是否接近零($P > 0.05$)、DIFF 是否随 CRP 水平的均数有系统性变化(线性回归时 $P > 0.05$ 表示无系统变化),以及其超出 DIFF 的 $\bar{x} \pm 1.96s$ 标本例数是否小于 5%。当同时满足 DIFF 接近零、DIFF 不随均数有系统性变化,以及超出 DIFF 的 $\bar{x} \pm 1.96s$ 标本例数小于 5% 这 3 个条件时,认为结果具有一致性。结果显示,校正前全血 CRP 结果与参照系统结果不具有线性回归分析时 $P < 0.05$, 不满足 $P > 0.05$ 而校正后具有一致性,见表 4。

表 2 入组 120 例标本 HCT 值及 CRP 水平等信息

参数	最小值	P_{25}	均值	中位数	P_{75}	最大值
HCT 值(%)	7.1	26.7	35.1	33.2	37.2	65.1
CRP 水平(mg/L)	0.5	16.2	53.9	45.8	64.2	297.0

注: P_{25} 第 25 百分位数; P_{75} 为第 75 百分位数

表 3 入组的 50 例标本 HCT 值及 CRP 水平等信息

参数	最小值	P_{25}	均值	中位数	P_{75}	最大值
HCT 值(%)	7.5	28.4	38	36.6	52.6	64.5
CRP 水平(mg/L)	0.71	11.4	36.8	28.8	43.1	213.6

表 4 校正前、后全血 CRP 结果与参照系统血清 CRP 结果的一致性分析(n=50)

项目	单样本 t 检验		百分比 (%)	线性回归	
	t	P		R^2	P
校正前全血 CRP 与血清 CRP 比较	1.152	0.254	4.00	0.639	<0.05
校正后全血 CRP 与血清 CRP 比较	-0.391	0.697	4.00	0.196	0.147

注:百分比为 DIFF 处于 $\bar{x} \pm 1.96s$ 之外的标本数占总标本数的百分比

3 讨 论

快速 CRP 检测系统由于使用全血标本,从而使出具检验报告的周期大大缩短。由于 CRP 主要存在血浆或血清中,使用全血检测 CRP 水平时,HCT 值决定了单位体积全血标本中血浆或血清的水平。当 HCT 下降时,在加入固定体积全血标本的前提下,导致实际参与测定反应血浆或血清量相对增加,而使检测结果高于真实水平,反之亦然^[6]。本文使用两组 HCT 系列梯度的数据,非常直观地显示了利用全血直接测定时,HCT 对 CRP 水平的影响。

本文以 120 例标本的 HCT 值、全血 CRP 水平及经参照系统测定的血清 CRP 水平为基础(均为实测值),经双变量线性回归得到了校正公式($R^2 = 0.991$),如此高的拟合度不但表明 HCT 与全血 CRP 水平关系紧密,同时也说明本文推导校正公式的科学性。在临床实践应用中,不同检测原理、不同厂家等多种快速 CRP 全血检测系统被广泛应用。某些检测系统使用全血进行 CRP 水平的检测过程中,会假定 CRP 水平与血浆量(1-HCT)成比例关系,通过公式:参照仪器测定 CRP 结果/最佳理论血浆比例=全血 CRP 结果/实际血浆比例,来确定其校正公式的最佳理论 HCT^[7],从而得到 HCT 对全血 CRP 的

校正公式。这一方法是否受仪器 CRP 检测线性范围等因素的影响, 还需进一步论证。与其他校正公式的推导方法相比, 本研究采用相对较大的样本量, 基于各种参数的实际测定值推导了校正公式, 而且拟合度非常高, 说明本方法更为科学合理。

应用 50 例全血标本对校正公式进行验证显示, 校正后的结果与作为参照方法的 IMMAGE 800 检测结果具有很好的一致性, 而未校正结果则与其不一致。IMMAGE 800 特定蛋白分析仪是封闭检测系统, 其准确性可以溯源到 BCR470, 是公认的、性能比较好的 CRP 检测系统^[8]。故本文选择其为参照检测系统能够保证较高的公正性和客观性。另外本文在进行一致性检验时, 使用了 Bland-Altman 分析法^[9], 此方法同时考虑了检测过程中的随机误差及系统误差, 是非常严格的一致性评价方法。本文得到的校正后结果与参照检测系统 CRP 结果具有一致性的结论, 也说明本研究得到的校正公式具有很好的校正能力。

在实际工作中会遇到 HCT 明显升高或降低的标本, 如脱水、真性红细胞增多症和继发性红细胞增多症等导致的 HCT 升高, 以及各种贫血等造成 HCT 显著降低的情况。对这些标本, 除了可以采取上述方法实时校正外, 还可以测定其血清或血浆 CRP 水平作为最终依据。另外, 由于不同海拔地区、不同人群 HCT 的分布范围存在差异^[10], 加之各实验室所用的检测系统不同, 故应该建立适合各实验室的校正公式, 以保证检测结果的准确性及与其他检测系统结果的可比性^[6,11]。当然, 本实验也存在不足之处, 即入组的样本量不够多, 没有涵盖非常大范围的 HCT 和 CRP 水平, 故本实验得出的数据不宜直接应用于临床, 需加大样本量对此科学问题进行更深入的探讨。

综上所述, 鉴于 HCT 值对全血 CRP 水平具有非常显著的影响, 临床实验室需使用校正公式对全血 CRP 检测结果进行实时校正, 以保证结果的准确性。

参考文献

[1] Park HE, Cho GY, Chun EJ, et al. Can C-reactive protein

predict cardiovascular events in asymptomatic patients? Analysis based on plaque characterization[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 224(1): 201-207.

[2] Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells LA, et al. C-Reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(14): 1310-1320.

[3] 白彩娟, 吉尚戎. C-反应蛋白研究进展及热点争议[J]. *兰州大学学报(自然科学版)*, 2013, 49(3): 361-376.

[4] 杜豪伟, 栗朋辉, 蒋晓. 两种方法检测 C-反应蛋白结果的可比性分析[J/CD]. *临床医药文献电子杂志*, 2015, 2(19): 3898.

[5] 蒋玲丽, 唐大海, 张健, 等. 5 种 C 反应蛋白快速检测系统检测性能比较[J]. *检验医学*, 2016, 31(4): 293-298.

[6] 曾凤群, 丘仲柳, 利雯秀, 等. 全血与血浆标本 CRP 检测的对比分析[J]. *中外医学研究*, 2016, 14(20): 4-6.

[7] 隆维东, 李坚, 刘万彬. 不同红细胞压积对全血 CRP 测定的影响及校正措施[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(1): 107-109.

[8] 曹科, 马东礼, 罗小娟, 等. 3 种不同检测系统 C 反应蛋白测定结果的偏倚评估和可比性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(9): 1108-1109.

[9] 谭延国, 刘楠, 田野, 等. 不同化学发光法系统测定血清人生长激素水平的现状分析[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(2): 161-163.

[10] 宋晓萍, 傅新文. 血液分析仪对不同年龄组红细胞压积参照值分析[J]. *实验与检验医学*, 2008, 26(2): 207.

[11] 卓兰云, 黎小琼, 何敏, 等. POCT 仪器与全自动生化分析仪 C 反应蛋白检测结果的比对[J]. *广东医学*, 2014, 35(1): 110-111.

(收稿日期: 2017-05-16 修回日期: 2017-07-28)

(上接第 3424 页)

统性红斑狼疮诊断价值研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2015, 14(1): 48-51.

[2] 季娜, 李立, 于箭, 等. 五种特异性自身抗体联合检测在系统性红斑狼疮诊断中的意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(9): 1263-1264.

[3] Ktona E, Barbullushi M, Backa T, et al. Evaluation of thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus and correlation with different organs damages[J]. *Mater Sociomed*, 2014, 26(2): 122-124.

[4] 何晶晶, 乔永霞, 王艳茹, 等. 系统性红斑狼疮诊断与治疗[J]. *临床荟萃*, 2016, 31(5): 475-481.

[5] Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(8): 2677-2686.

[6] 刘艳慧, 武丽君, 李彩萍. 抗双链 DNA 抗体、抗核小体抗体、抗 dsDNA-NcX 抗体在系统性红斑狼疮中的研究进展[J]. *新疆医学*, 2013, 43(2): 9-12.

[7] 田野, 张云聪, 冯珍如, 等. 不同方法联合检测 SLE 患者血清中双链 DNA 抗体的性能评估[J]. *检验医学与临床*,

2016, 13(19): 2697-2699.

[8] 刘玉枝, 代荣琴, 陈洋, 等. 自身抗体对系统性红斑狼疮的诊断价值[J]. *热带医学杂志*, 2016, 16(1): 39-41.

[9] Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies as a classification criterion and a diagnostic marker for systemic lupus erythematosus: critical remarks[J]. *Clin Exper Immunol*, 2015, 179(1): 5-10.

[10] Robert B, Cornelia D, Anke R, et al. Anti-dsDNA-NcX ELISA: dsDNA-loaded nucleosomes improve diagnosis and monitoring of disease activity in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthr Res Ther*, 2011, 13(1): 1-9.

[11] 李晶, 贾汝琳, 李春, 等. 抗 dsDNA-NcX 抗体测定对 SLE 的诊断意义[J]. *临床检验杂志*, 2009, 27(6): 456-457.

[12] Ohnuma K, Hayashi N, Fukuzumi N, et al. Evaluation of cut-off value for autoantibodies against double-stranded DNA-complexed nucleosomes based on enzyme linked immunosorbent assay[J]. *Rinsho Byori*, 2014, 62(3): 223-230.

(收稿日期: 2017-04-29 修回日期: 2017-07-28)