

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.14.001

不同试管对脑脊液常规检测结果影响的对比分析*

张婉君,许金玲,杨夏婉,宋娟娟,裴艳茹,霍磊,白炎亮,张文荟,牛俊伟,孙恺[△]
郑州大学人民医院血液内科,河南郑州 450001

摘要:目的 比较不同试管对脑脊液常规检测结果的影响。方法 取该院血液内科 45 例血液病患者脑脊液标本,分为 A、B、C 3 次试验(每次 15 例),将其分别贮存于两种真空采血管(普通管-红帽、EDTA-K₂ 抗凝管-紫帽)及一次性透明塑料管(以下分别简称为红头管、紫头管及透明管)中,行潘氏试验及白细胞计数测定,同时结合脑脊液生化检测、脑脊液细胞涂片结果及患者临床症状,比较透明管与其他两种真空采血试管间在脑脊液常规检测结果方面的差异。结果 红头管与透明管盛装标本在白细胞计数及潘氏试验阳性率方面比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。紫头管与透明管盛装标本在白细胞计数及潘氏试验阳性率方面比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 临床实验室有必要对所采用的真空采血管进行某些指标的比对试验,判断其是否适合临床检验工作质量要求。脑脊液常规检测可以采用紫头管或腰椎穿刺包中自带的透明管,避免使用红头管。

关键词:脑脊液; 分析前质量控制; 不同试管; 中枢神经系统; 白血病

中图分类号:R-331;R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)14-1953-04

Comparative analysis of the effects of different tubes on routine examination results of cerebrospinal fluid*

ZHANG Wanjun, XU Jinling, YANG Xiawan, SONG Juanjuan, PEI Yanru,
HUO Lei, BAI Yanliang, ZHANG Wenhui, NIU Junwei, SUN Kai[△]

Department of Hematology, People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001, China

Abstract: Objective To compare the effects of different tubes on the routine detection of cerebrospinal fluid. **Methods** The cerebrospinal fluid samples of 45 patients with hematological diseases in People's Hospital of Zhengzhou University were divided into test A, B and C (15 patients in each test). The samples were stored in two kinds of vacuum blood collection tubes (common tube-red cap, EDTA-K₂ anticoagulant tube-purple cap) and one-time transparent plastic tubes (hereinafter referred to as red cap tube, purple cap tube and transparent tube respectively), and conducted Pan test and white blood cell count, combined with cerebrospinal fluid biochemical test, cerebrospinal fluid cell smear results integrating with clinical symptoms of patients, the differences of the conventional plastic cerebrospinal fluid test results between the transparent plastic tube and the other two vacuum blood collection tubes were compared. **Results** The differences between the red cap tube and the transparent tube on the white blood cell count and the positive rate of the Pan test were statistically significant ($P < 0.05$). The differences between purple cap tube and transparent tube on the white blood cell count and the Pan test were not significant ($P > 0.05$). **Conclusion** It is necessary for clinical laboratories to conduct comparison experiments on certain indexes of vacuum blood collection tubes to determine whether they are suitable for clinical inspection work quality requirements. Conventional detection of cerebrospinal fluid can be carried out with a disposable transparent plastic tube in the purple-cap vacuum blood collection tube or waist-worn bag, avoiding the use of red-cap tube.

Key words: cerebrospinal fluid; pre-analytical quality control; different tubes; central nervous system; leukemia

脑脊液常规检测作为脑脊液液体活检的项目之一^[1-3],包括一般性状检测、蛋白定性、细胞计数及细

胞分类等,因其操作简单、费用低廉,在临床上得到广泛应用,但目前许多医疗单位仍在非一次性灭菌

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81471589,81273259);河南省科技攻关计划省部共建项目(201201005);河南省科技厅基础与前沿基金项目(142300410078)。

作者简介:张婉君,女,在读硕士,主要从事血液病研究。△ 通信作者,E-mail:sunkai@cellscience.org。

腰椎穿刺包行腰椎穿刺术,这类穿刺包内不含试管,所以临床工作中经常使用不同种类采血试管盛装脑脊液以方便检测。既往对不同试管引起血标本中某些检测指标异常的报道屡见不鲜^[4-5],但迄今为止,因不同试管造成脑脊液检测结果出现偏倚的报道国内外尚少见。为分析不同试管对脑脊液常规检测项目结果的影响,本研究进行了对比分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 45 例血液内科住院患者的脑脊液标本,分别制成红头管、紫头管及透明管脑脊液标本。45 例患者中男 25 例,女 20 例;年龄 3~67 岁;包括急性淋巴细胞白血病(ALL)患者 14 例,急性髓系白血病(AML)患者 26 例,淋巴瘤患者 5 例,其诊断均符合血液病相关诊断标准^[1]。45 例患者中并发中枢神经系统白血病(CNSL)1 例,诊断按照 1978 年全国白血病防治会议制定的有关标准^[1]:(1)有 CNSL 的临床症状和体征;(2)脑脊液检测显示压力增高>0.02 KPa 或 60 滴/分;白细胞计数>0.01×10⁹/L,涂片见到白血病细胞,蛋白>0.45 g/L,或潘氏试验阳性。具备上述一项条件且排除其他原因造成的中枢神经系统或脑脊液的相似改变即可确诊。

1.2 检测项目 白细胞计数、潘氏试验、蛋白质定量及细胞学涂片。

1.3 试验试管 红头管(普通管,湖南浏阳三力医用科技发展有限公司,生产许可证编号:湘食药监械生产许 20150049 号,注册证编号:湘械注准 20152410045,产品技术要求编号:湘械注准 20152410045);紫头管(ED-TA-K₂ 抗凝管,湖南浏阳三力医用科技发展有限公司,生产许可证编号:湘食药监械生产许 20150049 号,注册证编号:湘械注准 20152410045,产品技术要求编号:湘械注准 20152410045);透明塑料管(一次性使用麻醉穿刺包中自带,型号:AS-S,河南宇安医疗器械股份有限公司,生产许可证编号:豫食药监械生产许 20170023 号,注册证编号:国械注准 20163662417,产品技术要求编号:国械注准 20163662417);一次性玻璃试管(江苏泰州科健医疗用品有限公司)。

1.4 仪器与试剂 5%苯酚溶液(天津市科密欧化学试剂有限公司,ISO9001 认证);瑞姬染色液 BA-4017(生产备案凭证编号:粤珠食药监械生产备 20160002 号,医疗器械备案凭证编号:粤珠械备 20170093 号,产品技术要求编号:粤珠械备 20170093 号);XN-10

(B4)全自动模块式血液、体液分析仪购自日本希森美康公司;ADVIA-2400 全自动生化分析仪购自德国西门子公司;SIGMA3-15 细胞离心甩片机购自上海珂淮仪器有限公司;Olympus-CX22 显微镜及倒置显微镜购自上海通灏光电科技有限公司。

1.5 方法 为了减少个体差异,更真实观察检测结果,郑州大学人民医院血液内科自 2018 年 4 月开始采用红头管、紫头管及一次性透明塑料管对患者脑脊液常规检测进行对照试验,观察试验 A(红头管与透明管对比)、试验 B(紫头管与透明管对比)、试验 C(红头管、紫头管及透明管对比)脑脊液常规分析中各项指标间的差异,其检测结果由本院病房检验室审核后提供。试验 A、B、C 各 15 例患者脑脊液标本,在同一时间(距标本采集时间<1 h)行脑脊液检测,比较不同试管盛装的同一患者脑脊液在白细胞计数、潘氏试验上是否有差异;部分患者多次送检,45 例中有 2 例检测 4 次,2 例检测 3 次,3 例检测 2 次,其余均检测 1 次。

1.5.1 潘氏试验 用一次性滴管吸取等量石炭酸(5%苯酚)溶液分别置于相同的玻璃管中,分别抽取某试验组不同试管内的脑脊液,加入对应的玻璃试管内,在黑色背景下观察其是否有白色沉淀从而判定潘氏试验结果,有白色沉淀为阳性,无白色沉淀为阴性。

1.5.2 脑脊液细胞学检测方法 取适量(一般为 0.1~0.5 mL)标本置于甩片机中制成涂片,吹干后,经瑞姬染色法染色,之后将染色玻片移至 100 倍显微镜下,根据细胞形态进行阅片分类。

1.6 统计学处理 采用 SPSS24.0 统计软件进行数据处理及统计分析,非正态分布的计量资料以中位数(百分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,组间比较采用秩和检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 试验 A 红头管潘氏试验阳性率为 100.00%,而透明管为 6.67%,红头管中白细胞计数($M=0.061\times 10^9/L$)较透明管($M=0.001\times 10^9/L$)高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结合患者脑脊液生化结果(透明管盛装),发现脑脊液蛋白定量结果高于正常参考范围上限(0.15~0.45 g/L)的有 1 例,15 例患者脑脊液细胞学涂片均未找到白血病细胞,临床表现中仅有 1 例患者出现头痛,头颅 CT 未见明显异常。见表 1。

表 1 试验 A 脑脊液检测结果($n=15$)

试管类型	潘氏试验阳性率(%)	白细胞计数[$M(P_{25}, P_{75}), \times 10^9/L$]	蛋白质定量>0.45 g/L(n)	涂片见白血病细胞(n)
红头管	100.00	0.061(0.024, 0.077)	—	0
透明管	6.67	0.001(0.001, 0.002)	1	0
χ^2/Z	34.107	-3.408	—	—
P	0.000	0.001	—	—

注:—为无数据

表 2 试验组 B 脑脊液检测结果 (n=15)

试管类型	潘氏试验阳性率(%)	白细胞计数[M(P ₂₅ , P ₇₅), ×10 ⁹ /L]	蛋白质定量>0.45 g/L(n)	涂片见白血细胞(n)
紫头管	6.67	0.002(0.001, 0.002)	—	0
透明管	6.67	0.002(0.001, 0.002)	1	0
χ ² /Z	0.000	—0.535	—	—
P	1.000	0.593	—	—

注:—为无数据

表 3 试验 C 脑脊液检测结果 (n=15)

试管类型	潘氏试验阳性率(%)	白细胞计数[M(P ₂₅ , P ₇₅), ×10 ⁹ /L]	蛋白质定量>0.45 g/L(n)	涂片见白血细胞(n)
紫头管	6.67	0.001(0.001, 0.001)	—	0
透明管	6.67	0.001(0.001, 0.002)	1	0
红头管	100.00	0.034(0.021, 0.055)	—	—
χ ² /Z	37.059	22.428	—	—
P	0.000	0.000	—	—

注:—为无数据

2.2 试验 B 紫头管与透明管潘氏试验阳性者均为 1 例,阳性率为 6.67%,两管中白细胞计数均在正常范围内,差异均无统计学意义(P>0.05)。结合患者脑脊液生化结果(透明管盛装),发现脑脊液蛋白质定量>0.45 g/L 的有 1 例,15 例脑脊液细胞学涂片均未见到白血细胞,15 例患者均无明显中枢神经系统受累表现。见表 2。

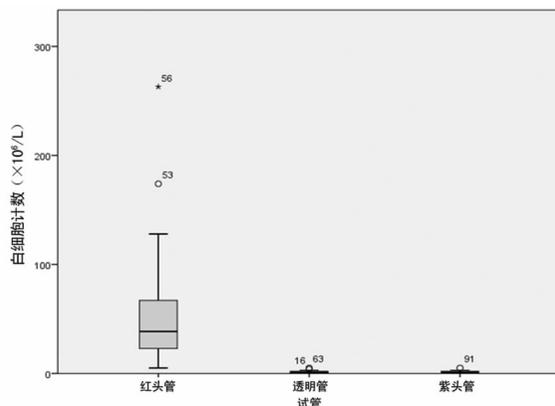
表 4 试验 C 两两比较

因变量	试管 ^a	试管 ^b	Z	P
白细胞计数	红头管	透明管	-3.408	0.001
		紫头管	-3.408	0.001
	透明管	红头管	-3.408	0.001
		紫头管	-0.540	0.589
	紫头管	红头管	-3.408	0.001
		透明管	-0.540	0.589
潘氏试验	红头管	透明管	-3.742	0.000
		紫头管	-3.742	0.000
	透明管	红头管	-3.742	0.000
		紫头管	0.000	1.000
	紫头管	红头管	-3.742	0.000
		透明管	0.000	1.000

注:a 与 b 比较,a 为固定管,b 为比较管

2.3 试验 C 从试验 A、B 脑脊液常规检测自身对照试验中发现红头管与透明管相比易造成白细胞计数和潘氏试验阳性率增高,而紫头管则与透明管结果相差不大。为避免组间差异又随机选取了 15 例血液病患者脑脊液标本纳入试验 C,一针多管将脑脊液制成红头管、紫头管及透明管脑脊液标本,行潘氏试验和仪器检测,并比较各管之间的差异,结果见表 3。红头管 15 例患者脑脊液标本潘氏试验均为阳性,而紫头管与透明管潘氏试验阳性者各为 1 例,3 管相比,差异均有统计学意义(P<0.05),两两比较,结果显示红头管与透明管、紫头管相比,差异均有统计学意义(P<0.05),而紫头管与透明管相比,差异无统计学意义(P>0.05)。同样的,在白细胞计数结果上 3 管比较,

差异有统计学意义(P<0.05),两两比较,红头管与紫头管、透明管比较,差异有统计学意义(P<0.05),而紫头管与透明管比较,差异无统计学意义(P>0.05)。试验 C 中两两比较结果,见表 4。15 例患者脑脊液标本中,蛋白质定量>0.45 g/L 者 1 例(透明管盛装),脑脊液涂片均未见到白血细胞,见表 3。试验 C 取得结果与试验 A 和 B 相一致,证实了红头管在脑脊液常规检测中易造成白细胞计数及潘氏试验阳性率增高,见图 1。在盛装了生理盐水的普通管(红头管)与 EDTA-K₂ 抗凝管(紫头管)中,分别加入等量的苯酚溶液,红头管中出现白色絮状沉淀(潘氏试验阳性),而紫头管未见明显变化(潘氏试验阴性)。为了进一步证实该观点,又随机选取试验 C 中某一患者脑脊液标本(红头管、紫头管及透明管 3 管各 10 μL),放于倒置显微镜下行手工计数,发现紫头管和透明管盛装的脑脊液中细胞数目较少,与仪器检测所得结果几乎一致,且视野清;而红头管盛装的脑脊液中,杂质多,多为细小颗粒和絮状物,与正常细胞大小相差不大,混淆不清,见图 2。



注:○表示温和的异常值,*表示极端的异常值

图 1 3 种试管检测脑脊液白细胞计数分布

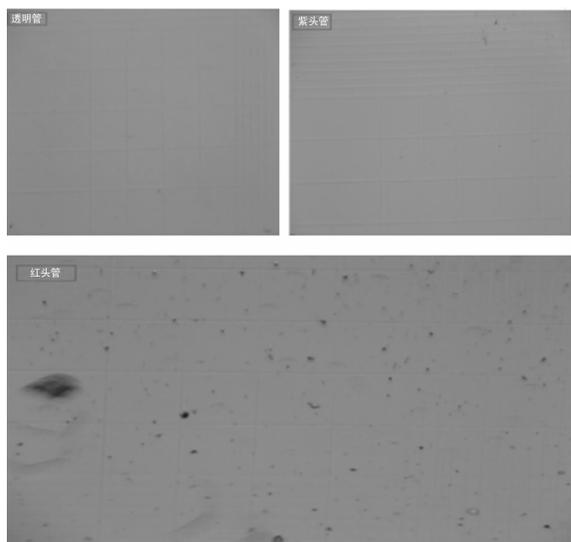


图2 同一患者脑脊液3管盛装后镜检结果示意图

3 讨 论

真空采血管是一种真空负压的采血管,在临床工作中不仅用于血液的收集,同时也多用于体液(腹水、脑脊液等)收集,它有9个种类,根据管帽颜色不同来进行区分^[6-7]。本研究中所涉及的红头管即普通管,不含添加剂,多用于常规血清学指标检测。紫头管即血常规管,内含有EDTA-K₂抗凝剂,即一种氨基多羧基酸,可以有效地螯合血液标本中钙离子,螯合钙或将钙反应位点移去将阻滞和终止内源性或外源性凝血过程,从而防止血液标本凝固,红头管多适用于血细胞分析、镜检、血细胞计数、血红蛋白试验^[6]。理论上讲,本研究使用的红头管和透明管内壁均干燥无菌,且不含任何添加剂,在脑脊液常规检测项目上,不同试管盛装标本的检测结果理应一致,然而,临床工作中发现红头管测得的潘氏试验阳性率及白细胞计数结果与透明管及紫头管差异明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。推测造成上述误差的原因可能与试管本身的清洁度有关,因为目前国内医疗机构用来检测血细胞的分析仪,其原理是以液体中细胞颗粒直径大小和形态区别血细胞种类及数目^[7-8],而真空采血管中污染微粒的直径一般在1~25 μmol/L,与正常血细胞直径十分接近,在进行分析时会被机器误计为红细胞、白细胞或血小板等,最终使所测结果偏离正常值^[7-9]。为证明该猜测,取2 mL 0.9%无菌生理盐水置于红头管与紫头管中,上下振荡后检测,结果显示紫头管中白细胞计数为0,而红头管中白细胞计数为 $64 \times 10^6/L$ 。仪器检测后用无菌滴管吸取等量的苯酚溶液,分别加入上述两管生理盐水中,在黑色背景下观察发现红头管中有白色沉淀生成,说明红头管因自身的材质、管帽及内壁的处理等问题就可以造成潘氏试验假阳性及白细胞计数增多,而与脑脊液中蛋白质定量的多少无关^[7]。选取试验C中1例患者脑脊液标本进行镜检也得到了类似结果,与试验A、B、C证实红头管易造成潘氏试验假阳性及白细胞计数增多

的研究结果一致,更加肯定了研究结果的准确性。

综上所述,该研究比较了不同试管对脑脊液白细胞计数及潘氏试验结果的影响,并探讨存在差异的可能原因,结果提示在 CNSL 的诊断中,除了常见因素可造成检测结果发生偏倚外,还应特别重视试管因素。发现白细胞计数增多及潘氏试验结果阳性时,不能轻易诊断为 CNSL,需结合脑脊液生化、细胞学等检测,以及患者是否有中枢神经系统浸润的临床表现^[10-11],做好脑脊液检测的质量控制,提高脑脊液检测的准确性,从而避免误诊及过度治疗^[9]。同时,在选用真空采血管时,需要从安全、质量、检测指标(尤其涉及细胞计数时)等方面去选择,扬长避短,充分利用不同分类采血管的优点,避开其缺点,使选用的试管对临床检测结果的影响最小化,最大程度提高实验结果的可靠度^[12-13]。

参考文献

- [1] 张之南,沈梯. 血液病诊断和疗效标准[M]. 3版. 北京:科学出版社,2011:130-131.
- [2] 黄秀,光明. 基于脑脊液的液体活检在中枢神经系统肿瘤诊治中的作用[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(7):554-558.
- [3] ALIX-PANABIERES C, PANTEL K. The circulating tumor cells; liquid biopsy of cancer[J]. Klin Lab Diagn, 2013, 59(1):110-118.
- [4] 陈益川,张德亭,李莉莉,等. 3种采血管制备的标本对6种生化指标检测结果的影响[J]. 检验医学,2014,29(4):402-404.
- [5] 郑军. EDTA依赖性假性血小板减少症的临床相关因素探讨[J]. 中国医科大学学报,2007,36(4):489-490.
- [6] 秦培华. 真空采血管的使用及注意事项[J]. 检验医学与临床,2012,9(22):2911-2912.
- [7] 孙荣华,程占锋. 如何正确选购真空采血管[J]. 实用医技杂志,2013,20(8):861-862.
- [8] 乐家新,周建山,兰亚婷. 血细胞分析仪检测原理[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(3):205-208.
- [9] 沈军,陈因,王国镇,等. 自动血细胞分析仪液体模式对脑脊液白细胞计数及分类检测的能力评估[J]. 中华血液学杂志,2013,34(7):629-631.
- [10] 周激,李军民. 急性淋巴细胞白血病中枢浸润的机制及早期评估[J]. 中国实验血液学杂志,2013,21(5):1361-1364.
- [11] 胡惠萍,袁晓华,朱中梁. 中枢神经系统白血病患者脑脊液中生化指标检测的临床意义[J]. 中国实用神经疾病杂志,2014,17(9):74-75.
- [12] 张丽敏,张国军. 脑脊液实验室检查的回顾与展望[J]. 中华检验医学杂志,2017,40(12):911-915.
- [13] LIMA-OLIVEIRA G, CESARE G G, GUIMARAES A V, et al. Preanalytical Nonconformity management regarding primary tube mixing in brazil[J]. J Med Biochem, 2017, 36(1):39-43.