

# 新型冠状病毒感染诱导冷凝集现象对血常规参数的影响

朱名超<sup>1</sup> 朱娅<sup>2</sup> 郭飞波<sup>1</sup> 黄银娥<sup>1</sup>

**【摘要】目的** 探讨新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染导致冷凝集现象对血常规参数的影响,以及37℃温育30 min纠正后的效果,以提高血常规检测结果的准确性。**方法** 收集天门市第一人民医院2022年12月26日~2023年1月17日SARS-CoV-2感染者血常规标本2 875例为COVID-19组,同期SARS-CoV-2核酸阴性的流感患者50例为对照组;同时选取2022年8月~11月SARS-CoV-2核酸阴性的所有住院患者血常规标本28 072例为非COVID-19组,COVID-19组患者又进一步分为冷凝集组(54例)和无冷凝集组(2 821例),COVID-19组再分为轻型、中型、重型、危重型4组;根据MCHC结果将冷凝集组分为强冷凝集组( $> 380$  g/L)(32例)和弱冷凝集组( $\leq 380$  g/L)(22例),采用37℃温育方法纠正处理冷凝集标本,对比纠正前后各型各组血常规各参数的变化。**结果** COVID-19组[1.88%(54/2 875)]与非COVID-19组患者冷凝集率[0.071%(20/28 072)]差异有统计学意义( $\chi^2 = 356.97$ 、 $P < 0.001$ ),COVID-19组与非COVID-19组患者白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、血细胞比容(HCT)和血小板(PLT)差异均无统计学意义( $Z = -1.680$ 、 $P = 0.093$ ,  $t = 1.376$ 、 $P = 0.185$ ,  $t = 1.069$ 、 $P = 0.299$ ,  $t = 1.127$ 、 $P = 0.274$ ,  $Z = -0.532$ 、 $P = 0.601$ );平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、红细胞平均体积(MCV)和平均血红蛋白浓度MCV(MCHC)差异有统计学意义( $t = -3.194$ 、 $P = 0.005$ ,  $Z = -3.622$ 、 $P < 0.001$ ,  $Z = -2.435$ 、 $P = 0.015$ );COVID-19组轻型、中型、重型和危重型患者冷凝集率分别为0.18%(4/2 242)、3.96%(18/455)、17.88%(27/151)和18.52%(5/27),差异有统计学意义( $Z = 260.40$ 、 $P < 0.001$ ),中型与轻型、重型与轻型、危重型与轻型以及重型与中型患者组间两两比较差异均有统计学意义( $\chi^2 = 97.97$ 、18.87、20.66、93.85,  $P$ 均 $< 0.001$ );危重型与中型、重型与危重型患者差异均无统计学意义( $\chi^2 = 3.068$ 、 $P = 0.08$ ,  $\chi^2 = 1.06$ 、 $P = 0.937$ )。冷凝集组标本经37℃温育30 min均得以纠正,纠正前后WBC、RBC、HCT、MCV、MCH和MCHC差异均有统计学意义( $Z = -4.953$ 、 $t = 10.137$ 、 $t = 8.614$ 、 $t = -6.307$ 、 $t = -4.918$ 、 $Z = -6.334$ ,  $P$ 均 $< 0.001$ );而PLT( $Z = -1.317$ 、 $P = 0.188$ )和HGB( $t = 0.212$ 、 $P = 0.833$ )差异无统计学意义。强冷凝集组(MCHC $> 380$  g/L)标本温育前后WBC和PLT差异亦有统计学意义( $Z = -4.283$ 、 $-3.489$ ,  $P$ 均 $< 0.001$ ),而弱冷凝集组标本温育前后PLT差异无统计学意义( $Z = -1.923$ 、 $P = 0.054$ )。**结论** SARS-CoV-2感染者易出现冷凝集现象,且随着病情加重冷凝集增强,冷凝集除影响红细胞水平外,还可能会导致WBC和PLT检测结果偏低,故及时纠正冷凝集可提高COVID-19患者血常规检测结果的准确性。

**【关键词】** 新型冠状病毒; 冷凝集; 平均血红蛋白浓度; 红细胞; 血小板; 温育法

**Influence on blood routine parameters of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection induced cold condensation aggregation** Zhu Mingchao<sup>1</sup>, Zhu Ya<sup>2</sup>, Guo Feibo<sup>1</sup>, Huang Yine<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory, <sup>2</sup>Department of Neurology, the First People's Hospital of Tianmen City, Tianmen 431700, China

Corresponding author: Zhu Ya, Email: 645249756@qq.com

**【Abstract】Objective** To investigate the influence of cold agglutination caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection on routine blood parameters and the effect of 30 min correction at 37℃, and to improve the accuracy of routine blood test results. **Methods** From December 26th, 2022

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2023.04.005

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金(No. 2042020kfxg05); 深圳市科技计划项目(No. JSGG 20200225152911537)

作者单位: 431700 天门市, 天门市第一人民医院检验科<sup>1</sup>、神经内科<sup>2</sup>

通讯作者: 朱娅, Email: 645249756@qq.com

to January 17th, 2023, a total of 2 875 blood routine samples of patients infected with SARS-CoV-2 were collected from the First People's Hospital of Tianmen, which were classified as the coronavirus disease 2019 (COVID-19) group. Total of 50 influenza patients with SARS-CoV-2 nucleic acid negative were selected as the control group, while 28 072 inpatients with SARS-CoV-2 nucleic acid negative were selected as the non-COVID-19 group from August to November 2022, and the COVID-19 group was further divided into the cold agglutination group (54 cases) and the non-cold agglutination group (2 821 cases). The COVID-19 group was divided into four groups: light, medium, severe and critical groups. According to the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) results, the cold agglutination group was divided into the strong cold agglutination group ( $> 380 \text{ g/L}$ ) (32 cases) and the weak cold agglutination group ( $\leq 380 \text{ g/L}$ ) (22 cases). The cold agglutination specimens were warmed at  $37^\circ\text{C}$ , and the changes of blood routine parameters in each group before and after the correction were compared. **Results** The cold agglutination rate of the COVID-19 infected group was 1.88% (54/2 875) compared with that of the non-COVID-19 group [0.071% (20/28 072)], the difference was statistically significant ( $\chi^2 = 356.97, P < 0.001$ ). There were no significant differences in white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT) and platelet (PLT) between COVID-19 infected patients and non-COVID-19 infected patients ( $Z = -1.680, t = 1.376, t = 1.069, t = 1.127, Z = -0.532; P = 0.093, 0.185, 0.299, 0.274, 0.601$ ); The differences of mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and MCHC were statistically significant ( $t = -3.194, Z = -3.622, -2.435; P = 0.005, < 0.001, 0.015$ ). The incidence of cold agglutination in mild, medium, severe and critical COVID-19 patients was 0.18% (4/2 242), 3.96% (18/455), 17.88% (27/151) and 18.52% (5/27), respectively, with significant difference ( $Z = 260.40, P < 0.001$ ). Comparison between moderate and mild, severe and light, critical and light, and severe and medium showed statistically significant differences ( $\chi^2 = 97.97, 18.87, 20.66, 93.85$ ; all  $P < 0.001$ ). There were no significant difference between severe and medium type, severe and critical type ( $\chi^2 = 3.068, P = 0.08; \chi^2 = 1.06, P = 0.937$ ). The cold agglutination group samples were all corrected after incubation at  $37^\circ\text{C}$  for 30 min, and there were significant differences between WBC, RBC, HCT, MCV, MCH and MCHC before and after correction ( $Z = -4.953, t = 10.137, t = 8.614, t = -6.307, t = -4.918, Z = -6.334$ ; all  $P < 0.001$ ), PLT ( $Z = -1.317, P = 0.188$ ), HGB ( $t = 0.212, P = 0.833$ ) had no significant difference. There were also significant differences between WBC and PLT before and after incubation in strong condensing group (MCHC  $> 380 \text{ g/L}$ ) ( $Z = -4.283, -3.489$ ; both  $P < 0.001$ ), but there was no significant difference in PLT before and after mild condensation group ( $Z = -1.923, P = 0.054$ ). **Conclusions** Patients with COVID-19 are prone to cold agglutination, and the condensation increased with the severity of the disease. Besides affecting erythrocyte parameters, cold agglutination may also lead to lower level of WBC and PLT. Therefore, timely correction of COVID-19 cold agglutination can improve the accuracy of blood routine test results.

**【Key words】** Corona virus disease 2019; Cold agglutination; Mean hemoglobin concentration; Red blood cell; Platelet; Warming method

血常规检测作为新冠肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 诊断及治疗重要的实验室检查项目, 被列入《新型冠状病毒感染诊疗方案 (试行第十版)》<sup>[1]</sup>, 其结果准确性值得高度关注。冷凝集素 (cold agglutinins, CAs) 会严重干扰血常规参数的准确性, CAs是一种存在于红细胞 (red blood cell, RBC) 表面的单克隆或多克隆抗体, 多数为IgM型, 也有少部分为IgG型和或IgA型<sup>[2]</sup>。这些冷抗体在一定温度下 ( $30^\circ\text{C}$  以下) 易与RBC表面的I、i或SP1 3种寡糖抗原结合, 发生凝集现象, 从而干扰RBC计数及其参数检测<sup>[3]</sup>, 甚至干扰白细胞 (white blood cell, WBC) 及血小板 (platelet,

PLT) 参数的测定<sup>[4-5]</sup>。本研究于COVID-19患者血常规中发现了高比例的冷凝集现象, 严重干扰了其血细胞分析结果的准确性, 现将其影响及纠正结果报道如下。

## 资料和方法

### 一、研究对象

1. 收集2022年12月26日~2023年1月17日天门市第一人民医院所收治COVID-19患者的血常规标本2 875例为COVID-19组, COVID-19组患者根据冷凝集标本识别方法分为冷凝集组 (54例) 和

无冷凝集组(2 821例), 冷凝集率为1.88%(54/2 875), COVID-19组患者按照《新型冠状病毒诊疗方案试行(第十版)》分为轻型(2 242例)、中型(455例)、重型(151例)、危重型(27例)4型; 54例冷凝集患者根据平均血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)结果分为强冷凝集组( $> 380 \text{ g/L}$ )(32例)和弱冷凝集组( $\leq 380 \text{ g/L}$ )(22例); 同时选取同一时段入院的排除COVID-19的50例呼吸道感染者血常规标本作为对照组; 选取2022年8月~11月非COVID-19感染者血常规标本28 072例为非COVID-19组, 其中冷凝集标本20例, 冷凝集率为0.07%(20/28 072)。对照组选取标准: ①新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)核酸检测阴性; ②男女比例与冷凝集组接近(34/20与32/18); ③血红蛋白低于 $90 \text{ g/L}$ 患者占比与冷凝集组接近[33.3%(18/54)]和[34.0%(17/50)]; ④甲型或乙型流感病毒感染者, 即甲型和(或)乙型流感病毒抗原检测阳性。

2. 本研究经天门市第一人民医院伦理委员会批准(批号: 20230026), 并获得患者知情同意, 同时签署知情同意书。

## 二、方法

1. 标本测定: 采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝真空采血管采集患者静脉全血 $2.0 \text{ ml}$ 颠倒混匀, 立即送检, 血标本混匀后立即应用XN-9000全自动血液分析仪及原装配套试剂(日本Sysmex公司)进行血液学分析, 检测白细胞(white blood cell, WBC)、RBC、血红蛋白(hemoglobin, HGB)、血细胞比容(hematocrit, HCT)、平均红细胞血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)、红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)、MCHC及PLT等。

2. 冷凝集标本识别及纠正验证: 识别方法:

①RBC和HGB比例异常(正常比例HGB约为RBC的30倍); ②MCHC  $\geq 380 \text{ g/L}$ ; ③标本外观可见细沙样凝集于管壁现象; ④涂片镜检可见RBC聚集; ⑤仪器报警提示“RBC Agglutination?(RBC凝集?)”或RBC直方图出现小段波峰。以上达到任意1条, 即采用涂片瑞氏染色显微镜检证实是否存在冷凝集。

纠正及验证方法: 温育法, 将标本置于 $37^\circ\text{C}$ 水温箱, 温浴30 min, 取出后颠倒混匀, 立即上机

检测; 同时将上述标本推片, 制作外周血涂片进行瑞氏染色, 显微镜下观察RBC分布, 验证RBC是否呈单个分布, 同时温育后检测结果RBC和HGB比例正常,  $\text{MCHC} \leq 370 \text{ g/L}$ , 仪器无“RBC Agglutination?”报警则为冷凝集被有效纠正的标准。

## 三、统计学处理

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。正态分布计量资料(RBC、HGB、HCT、MCV)以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对样本 $t$ 检验进行比较分析。非正态分布计量资料(WBC、MCH、MCHC和PLT)以中位数(四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示, 采用Wilcoxon符号秩检验分析两个相关样本间的非正态分布数据; 率的比较采用 $\chi^2$ 检验; 不同临床分型患者冷凝集率采用趋势卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

一、COVID-19组与非COVID-19组患者的冷凝集率

COVID-19组患者冷凝集率[1.88%(54/2 875)]显著高于非COVID-19组凝集率[0.071%(20/28 072)], 差异有统计学意义( $\chi^2=356.98$ ,  $P < 0.001$ )。

二、COVID-19组与非COVID-19组的冷凝集血常规指标

COVID-19组与非COVID-19组患者WBC、RBC、HGB、HCT和PLT差异均无统计学意义( $Z=-1.680$ ,  $t=1.376$ ,  $t=1.069$ ,  $t=1.127$ ,  $Z=-0.532$ ;  $P=0.093$ ,  $0.185$ ,  $0.299$ ,  $0.274$ ,  $0.601$ ); MCV、MCH和MCHC差异有统计学意义( $t=-3.194$ ,  $P=0.005$ ,  $Z=-3.622$ ,  $P < 0.001$ ,  $Z=-2.435$ ,  $P=0.015$ ), 见表1。

三、冷凝集组与对照组标本 $37^\circ\text{C}$ 温育前后血常规指标

冷凝集组患者血液标本温育后WBC、RBC、HCT均显著高于温育前( $Z=-4.953$ ,  $t=10.137$ ,  $t=8.614$ ,  $P$ 均 $< 0.001$ ), MCV、MCHC和MCH均显著低于温育前( $t=-6.307$ ,  $Z=-4.918$ ,  $-6.334$ ,  $P$ 均 $< 0.001$ ); 温育前后HGB和PLT差异均无统计学意义( $t=0.212$ ,  $P=0.833$ ,  $Z=-1.317$ ,  $P=0.188$ )。对照组患者血液标本 $37^\circ\text{C}$ 温育后MCV、MCH和MCHC值显著高于温育前

( $t = -4.431$ 、 $P < 0.001$ ， $Z = -3.505$ 、 $P < 0.001$ ， $Z = -1.760$ 、 $P = 0.047$ )；温育前后WBC、RBC、HGB、HCT和PLT差异均无统计学意义( $Z = -0.071$ 、 $P = 0.943$ ， $t = 1.022$ 、 $P = 0.094$ ， $t = 0.000$ 、 $P = 1.000$ ， $t = 0.551$ 、 $P = 0.584$ ， $Z = -1.760$ 、 $P = 0.078$ )。见表2。

四、强冷凝集组(MCHC  $> 380$  g/L)与弱冷凝集组(MCHC  $\leq 380$  g/L) 37℃温育前后血常规指标

强冷凝集素组32例患者血液标本(MCHC  $> 380$  g/L)温育后WBC、RBC、HCT和PLT均显著高于温育前( $Z = -4.283$ 、 $t = 10.576$ 、 $t = 8.348$ 、

表1 COVID-19组与非COVID-19组患者冷凝集血常规参数

指标	参考区间	COVID-19组(2 875例)	非COVID-19组(28 072例)	统计量	P值
WBC ( $\times 10^9/L$ ) <sup>a</sup>	3.5~9.5	6.96 (4.51, 8.35)	5.06 (5.11, 6.08)	$Z = -1.680$	0.093
RBC ( $\times 10^{12}/L$ ) <sup>b</sup>	3.8~5.8	$2.43 \pm 0.96$	$1.77 \pm 0.91$	$t = 1.376$	0.185
HGB (g/L) <sup>b</sup>	115~175	$99.19 \pm 25.32$	$86.65 \pm 29.86$	$t = 1.069$	0.299
HCT (%) <sup>b</sup>	35~50	$24.23 \pm 8.54$	$19.60 \pm 7.80$	$t = 1.127$	0.274
MCV (fL) <sup>b</sup>	82~100	$101.94 \pm 10.07$	$113.67 \pm 8.62$	$t = -3.194$	0.005
MCH (pg) <sup>a</sup>	27~34	46.59 (36.10, 47.03)	52.26 (45.40, 52.32)	$Z = -3.622$	$< 0.001$
MCHC (g/L) <sup>a</sup>	316~354	457.11 (366.25, 448.75)	458.35 (398.00, 452.25)	$Z = -2.435$	0.015
PLT ( $\times 10^9/L$ ) <sup>a</sup>	125~350	229.91 (127.0, 303.75)	219 (181.25, 279.00)	$Z = -0.532$	0.601

注：<sup>a</sup>：数据采用[M (P25, P75)]表示，<sup>b</sup>：数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示

表2 54例冷凝集组与50例对照组患者37℃温育前后血常规指标

指标	温育前	温育后	统计量	P值
WBC ( $\times 10^9/L$ ) <sup>a</sup>				
冷凝集组	6.96 (4.51, 8.35)	7.48 (4.88, 9.44)	$Z = -4.953$	$< 0.001$
对照组	6.89 (4.96, 10.91)	6.81 (5.0, 10.98)	$Z = -0.071$	0.943
RBC ( $\times 10^{12}/L$ ) <sup>b</sup>				
冷凝集组	$2.43 \pm 0.96$	$3.1 \pm 0.88$	$t = 10.137$	$< 0.001$
对照组	$3.38 \pm 0.86$	$3.40 \pm 0.87$	$t = 1.022$	0.094
HGB (g/L) <sup>b</sup>				
冷凝集组	$99.19 \pm 25.32$	$99.33 \pm 26.47$	$t = 0.212$	0.833
对照组	$106.26 \pm 28.72$	$106.26 \pm 27.98$	$t = 0.000$	1.000
HCT (%) <sup>b</sup>				
冷凝集组	$24.23 \pm 8.54$	$30.04 \pm 7.83$	$t = 8.614$	$< 0.001$
对照组	$32.17 \pm 8.44$	$32.51 \pm 7.65$	$t = 0.551$	0.584
MCV (fL) <sup>b</sup>				
冷凝集组	$101.94 \pm 10.07$	$97.19 \pm 9.58$	$t = -6.307$	$< 0.001$
对照组	$95.41 \pm 8.98$	$94.90 \pm 8.88$	$t = -6.307$	$< 0.001$
MCH (pg) <sup>a</sup>				
冷凝集组	46.59 (36.10, 47.03)	31.4 (29.5, 34.03)	$Z = -4.918$	$< 0.001$
对照组	31.41 (29.45, 34.03)	31.12 (29.08, 33.58)	$Z = -3.505$	$< 0.001$
MCHC (g/L) <sup>a</sup>				
冷凝集组	457.11 (366.25, 448.75)	326.87 (313, 340.25)	$Z = -6.334$	$< 0.001$
对照组	328.8 (311.75, 349.00)	327.42 (312.50, 344.75)	$Z = -1.988$	0.047
PLT ( $\times 10^9/L$ ) <sup>a</sup>				
冷凝集组	229.91 (127.0, 303.75)	230.19 (123.5, 304.75)	$Z = -1.317$	0.188
对照组	72 (49, 182)	76 (51.5, 173.25)	$Z = -1.760$	0.078

注：各指标的参考区间同表1；<sup>a</sup>：数据采用[M (P25, P75)]表示，<sup>b</sup>：数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示

$Z=-3.489$ ,  $P$ 均 $<0.001$ ), MCV、MCH和MCHC均显著低于温育前( $t=-6.072$ 、 $Z=-4.937$ 、 $Z=-4.937$ ,  $P$ 均 $<0.001$ ); 温育前后HGB差异无统计学意义( $t=-1.343$ 、 $P=0.189$ )。弱冷凝集素组22例患者血液标本HGB和PLT温育前后差异无统计学意义( $t=1.509$ 、 $P=0.146$ ;  $Z=-1.923$ 、 $P=0.054$ ), MCV、MCH和MCHC均显著低于温育前( $t=-3.174$ 、 $P=0.005$ ,  $Z=-3.980$ 、 $P<0.001$ ,  $Z=-4.015$ 、 $P<0.001$ ), WBC、RBC和HCT则显

著高于温育前( $Z=-2.242$ 、 $P=0.025$ ,  $t=8.818$ 、 $P<0.001$ ,  $t=5.574$ 、 $P<0.001$ )。见表3。

#### 五、COVID-19组不同临床分型患者冷凝集现象发生率

COVID-19组患者中, 轻型患者冷凝集率为0.18%, 危重型冷凝集率高达18.52%, 不同临床分型患者冷凝集率采用趋势卡方检验差异有统计学意义( $Z=260.40$ 、 $P<0.001$ ), 提示随病情严重程度加重冷凝集率随之增加。见表4。

表3 32例强冷凝集素组和22例弱冷凝集素组患者血液标本37℃温育前后血常规指标

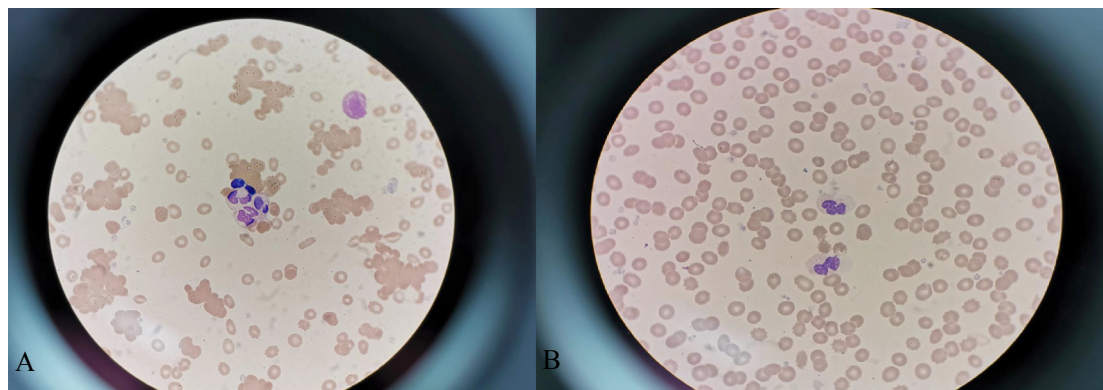
指标	37℃温育前	37℃温育后	统计量	P值
WBC ( $\times 10^9/L$ ) <sup>a</sup>				
强冷凝集组	5.59 (4.23, 7.21)	6.26 (4.53, 7.74)	$Z=-4.283$	$<0.001$
弱冷凝集组	7.18 (5.04, 10.02)	7.41 (5.15, 11.35)	$Z=-2.242$	0.025
RBC ( $\times 10^{12}/L$ ) <sup>b</sup>				
强冷凝集组	$2.09 \pm 0.98$	$3.04 \pm 0.98$	$t=10.576$	$<0.001$
弱冷凝集组	$2.94 \pm 0.67$	$3.27 \pm 0.69$	$t=8.818$	$<0.001$
HGB (g/L) <sup>b</sup>				
强冷凝集组	$95.19 \pm 28.95$	$94.16 \pm 29.93$	$t=-1.343$	0.189
弱冷凝集组	$105.00 \pm 17.93$	$106.86 \pm 18.59$	$t=1.509$	0.146
HCT (%) <sup>b</sup>				
强冷凝集组	$20.93 \pm 9.00$	$28.73 \pm 8.85$	$t=8.348$	$<0.001$
弱冷凝集组	$29.04 \pm 4.84$	$31.96 \pm 5.71$	$t=5.574$	
MCV (fL) <sup>b</sup>				
强冷凝集组	$102.92 \pm 10.38$	$96.35 \pm 10.32$	$t=-6.072$	$<0.001$
弱冷凝集组	$100.51 \pm 9.66$	$98.41 \pm 8.48$	$t=-3.174$	0.005
MCH (pg) <sup>a</sup>				
强冷凝集组	53.66 (39.48, 59.83)	31.34 (29.25, 32.65)	$Z=-4.937$	$<0.001$
弱冷凝集组	36.31 (34.28, 37.85)	32.46 (30.75, 34.28)	$Z=-3.980$	$<0.001$
MCHC (g/L) <sup>a</sup>				
强冷凝集组	438.5 (396.0, 514.5)	327.5 (315, 336.75)	$Z=-4.937$	$<0.001$
弱冷凝集组	361.50 (353.5, 371.5)	330.55 (311.25, 343.00)	$Z=-4.015$	$<0.001$
PLT ( $\times 10^9/L$ ) <sup>a</sup>				
强冷凝集组	237 (160.75, 307.25)	251 (168.25, 317)	$Z=-3.489$	$<0.001$
弱冷凝集组	205 (71.5, 299.5)	211.5 (60.75, 280.25)	$Z=-1.923$	0.054

注: 各指标的参考区间同表1; <sup>a</sup>: 数据采用[M (P25, P75)]表示, <sup>b</sup>: 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示

表4 COVID-19组不同临床分型患者冷凝集率[例(%)]

临床分型	例数	冷凝集	非冷凝集
轻型	2 242	4 (0.18)	2 238 (99.82)
中型	455	18 (3.96)	437 (96.04)
重型	151	27 (17.88)	124 (82.12)
危重型	27	5 (18.52)	22 (81.48)
合计	2 875	54 (1.88)	2 821 (98.12)
Z值		260.40	
P值		$<0.001$	

注: 组间两两比较: 中型 vs. 轻型:  $\chi^2=97.97$ 、 $P<0.001$ , 重型 vs. 轻型:  $\chi^2=18.87$ 、 $P<0.001$ , 危重型 vs. 轻型:  $\chi^2=20.66$ 、 $P<0.001$ , 重型 vs. 中型:  $\chi^2=93.85$ 、 $P<0.001$ , 危重型 vs. 中型:  $\chi^2=3.068$ 、 $P=0.080$ , 重型 vs. 危重型:  $\chi^2=1.06$ 、 $P=0.937$



注：A：37 °C温育前可见RBC凝集（方框）和WBC聚集（圆圈）及部分PLT聚集（箭头）；B：37 °C温育后RBC、WBC和PLT呈单个、散在分布

图1 37 °C温育前后冷凝集患者外周血涂片

## 六、37 °C温育前后血涂片RBC、WBC和PLT形态变化

冷凝集患者外周血涂片可见RBC凝集和WBC聚集及部分PLT聚集现象；经过37 °C温育30 min后，再次涂片见凝集的RBC、WBC和PLT均已散开呈单个排列，见图1。

## 讨 论

COVID-19是由SARS-CoV-2感染所引起的严重呼吸系统传染病<sup>[6]</sup>，可累及除呼吸系统外的多个系统病变<sup>[7]</sup>，血细胞分析作为临床诊断COVID-19或疑似COVID-19的重要依据之一<sup>[8]</sup>，其检测结果的准确性至关重要，而笔者发现部分COVID-19患者血液标本易发生RBC冷凝集现象。

冷凝集现象是一种由于体内冷凝集素效价过高而引起的血液在体外及低温环境下发生的RBC可逆性自凝现象<sup>[9]</sup>。冷凝集素可凝集细菌、RBC等颗粒性抗原，常发生于30 °C以下，在4 °C时滴度最高，因此冬季高发。当温度升至37 °C时凝集现象可消失<sup>[10]</sup>。冷凝集形成机制：一般认为，在某些病原体感染人体后，如肺炎支原体、EB病毒和巨细胞病毒等，能修饰RBC表面唾液酸上的I型活性结构，使其暴露I/i抗原，机体产生针对I/i抗原的特异性抗体就是冷凝集素。RBC膜表面I/i抗原的构型会随环境温度的变化而发生改变。在35 °C左右时，RBC细胞膜表面物质的构型不利于冷凝集素与I/i抗原决定簇结合，此时便不会发生凝集。而随着温度的降低，RBC膜表面物质构型会发生改变，暴露某些抗原（如I/i抗原）决定簇，其与冷凝集素特异性结合就会发生凝

集反应。但这种凝集反应是可逆的，随着温度的升高，会逐渐解聚。基于这一原因，笔者推测由于SARS-CoV-2表面有较多的刺突蛋白，其感染人体后可吸附于RBC表面，进而修饰红细胞表面唾液酸上的活性结构，使其具有免疫性，机体可能产生相应的抗体（冷凝集素），加之冬季温度较低，会使RBC细胞膜表面物质的构型发生改变，I/i抗原决定簇暴露从而发生了RBC的冷凝集。另有研究表明<sup>[11]</sup>，COVID-19导致红细胞凝集的机制是由于RBC表面的唾液酸分子带负电荷，而SARS-CoV-2刺突蛋白上的聚糖结构带正电荷，SARS-CoV-2刺突蛋白可以吸附RBC表面，加之正负电荷又彼此抵消了RBC之间同种电荷相互排斥的作用，促使RBC凝集。本研究显示，COVID-19组患者冷凝集率显著高于非COVID-19组，可能与上述原因有关，二者血常规参数仅MCHC有差异，其余参数无差异，提示COVID-19感染引起的冷凝集现象与其他因素引起的冷凝集现象对血常规检测的影响一致。此外，MCHC有差异，也可能与非COVID-19患者的冷凝集标本数量少，导致的抽样误差有关。在54例冷凝集素患者中，仅有9.26%（5/54）患者同时感染支原体，12.96%（7/54）患者乙型肝炎病毒表面抗原阳性。其余患者流感病毒抗原、出血热病毒抗体、HIV抗体、丙型肝炎病毒抗体、梅毒螺旋体抗体均为阴性。Finland等<sup>[12]</sup>和Peterson等<sup>[13]</sup>在对非典型肺炎患者的研究中报道了冷凝集素的存在，甚至在锥虫病和单核增生李斯特菌感染者中也存在低滴度的冷凝集素<sup>[14]</sup>。近年来国外也有报道COVID-19合并冷凝集素综合征的案例<sup>[15-17]</sup>，Patil等<sup>[18]</sup>报道了1例冷凝集病继发于SARS-CoV-2感染的自身免疫性溶血性贫血。

血病例, Kaur等<sup>[19]</sup>也报道了1例COVID-19导致的短暂的冷凝集增高病例。这些研究表明, 不仅是支原体感染, 寄生虫、细菌和病毒感染如COVID-19感染也可以诱导冷凝集素产生, 同时SARS-CoV-2还可能合并其他病原体感染共同诱导产生冷凝集素。

本研究显示, COVID-19患者会随着病情加重, 冷凝集发生率增高, 这可能与以下因素有关: 第一, 与病毒载量有关, 病毒载量越高, 病毒吸附的RBC就越多, 冷凝集发生率就越高; 第二, 与患者缺氧程度及肺部病变程度相关。在COVID-19临床分型中, 呼吸频率及氧饱和度是其重要的分型指标(如氧饱和度< 93%), 而RBC具有重要的携氧功能, 症状越严重, 肺部感染浸润越多, 肺泡进行气体交换的能力变差, RBC携氧功能就会越差, RBC会代偿性增多, 被病毒感染的细胞数也会随之增多, RBC形成冷凝集的凝集率就会加强。

研究发现, 冷凝集素增高会干扰仪器法RBC及相关参数的结果<sup>[20-21]</sup>, 而HGB结果基本不受干扰<sup>[22]</sup>, 与本研究一致。其原因为HGB是溶血后采用比色法测定其吸光度而间接得到的浓度。RBC测定是对单个RBC进行鞘流阻抗法计数, 凝集的RBC成团无法被计入或计入减少, 从而导致RBC计数结果偏低。HCT测定采用脉冲累积高度, 因脉冲数减少, 而导致HCT结果偏低。MCV、MCH、MCHC通过RBC、HGB和HCT计算而来, 因此结果也会受到影响。

MCHC是识别冷凝集较为敏感的指标, 当MCHC结果异常增高时, 应先观察并分析标本是否存在冷凝集<sup>[23]</sup>, 本研究显示当MCHC> 380 g/L时, 会发生比较强的冷凝集, 此时不仅影响RBC及其相关参数测定, 还会使WBC和PLT结果偏低, 实验室采用温浴法处理标本后, WBC、PLT计数可回归正常。可能原因: ①RBC及其形成凝集时包裹了部分WBC, 导致仪器计数的WBC结果偏低。温育后, 凝集的RBC解聚, 被包裹的WBC被释放出来, 因而计数可回归正常; ②据文献报道<sup>[4-5, 24]</sup>, WBC和PLT表面也存在I/i抗原, 当环境温度降低达到凝集条件时, WBC和PLT也会发生凝集, 从而导致WBC和PLT结果偏低。涂片显微镜检结果证实了此猜测, 冷凝集标本涂片, 显微镜下可见RBC大量凝集, 部分WBC被包裹, 同时也可见部分PLT聚集。温育后再次涂片镜检, RBC、WBC聚集消失, 呈单个散在分布, PLT聚集也得到显著改善。虽然在普通

人群中可通过HGB与RBC比值(约为30:1)<sup>[25]</sup>初步判断是否存在冷凝集现象, 但在贫血人群此法适用范围受限。本研究发现在部分贫血病例中, 即使MCHC< 380 g/L, 也可能存在微弱的冷凝集, 弱冷凝集对RBC、HCT、MCV、MCH和MCHC影响仍较大, 常因其变化不明显而被漏检, 因此, 必须引起重视。有报道指出, 可采用Sysmex XNTM系列血液分析仪网织RBC通道, 检测冷凝集标本的光学法RBC(RBC-O)<sup>[26]</sup>, 也有研究采用41℃温育, 解决部分37℃温育后不能纠正的强冷凝集现象<sup>[27]</sup>, 但对血小板计数会产生一定影响, 因此, 温育仍然是解决冷凝集最便捷、最有效的方法。此外, 本研究显示COVID-19患者在轻型、中型、重型和危重型中HGB、PLT和HCT 3个参数变化有统计学差异, 是否有助于临床分型判别, 尚需更进一步深入探讨。

综上, SARS-CoV-2感染可能是诱导产生冷凝集的原因之一, 并随着病情严重程度增加冷凝集发生率增高。冷凝集可影响RBC检测结果, 严重的强冷凝集还可导致WBC和PLT计数结果偏低。37℃温育法可使绝大多数冷凝集患者血常规参数恢复正常。弱冷凝集易被漏检, 应引起足够重视。在签发检验报告时, 应通过仪器的报警信息结合显微镜下的涂片结果, 及时发现冷凝集现象, 排除纠正错误的检测结果, 避免误导临床, 同时, 本研究资料有限, SARS-CoV-2感染诱导的冷凝集现象的确切机制尚需进一步探讨。

## 参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)[EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/ylyjs/pqt/202301/32de5b2ff9bf4eaa88e75bdf7223a65a.shtml>
- [2] Berentsen S, Malecka A, Randen U, et al. Cold agglutinin disease: where do we stand, and where are we going?[J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2020, 18(1): 35-44.
- [3] 解鸿翔, 沈燕, 庞珍珍, 等. 41℃温浴对高效价冷凝集素样本血常规检测结果的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2021, 43(4): 507-512.
- [4] Kumar TB, Bhardwaj N. Platelet cold agglutinins and thrombocytopenia: A diagnostic dilemma in the intensive care unit[J]. J Anaesthesiol Clin Pharmacol, 2014, 30(1): 89-90.
- [5] Lee JH. Neutrophil aggregation on the peripheral blood smear in a patient with cold agglutinin disease[J]. Ann Hematol, 2017, 96(5): 885-886.
- [6] 王凌航. 新型冠状病毒感染的特征及应对[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020, 14(1): 1-4.
- [7] Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19[J]. Nat Med, 2020, 26(7): 1017-1032.

- [8] 黄琼, 徐云云, 刘海燕, 等. 新型冠状病毒肺炎患者IgM抗体与血细胞计数及C反应蛋白的相关性研究[J]. 临床输血与检验, 2020, 22(3): 322-325.
- [9] 李敏, 李建英, 罗国菊, 等. 血液分析仪RBC-O和R-MFV参数在纠正冷凝集标本MCHC中的作用[J]. 检验医学, 2022, 37(10): 948-951.
- [10] Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments[J]. Diabetes Care, 2010, 33(10): 2285-2293.
- [11] Boschi C, Scheim DE, Bancod A, et al. SARS-CoV-2 spike protein induces hemagglutination: implications for COVID-19 morbidities and therapeutics and for vaccine adverse effects[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(24): 15480.
- [12] Finland M, Peterson OL, Allen HE, et al. Cold agglutinins. I. occurrence of cold isohemagglutinins in various conditions[J]. J Clin Invest, 1945, 24(4): 451-457.
- [13] Peterson OL, Ham TH, Finland M: Cold agglutinins (autohemagglutinins) in primary atypical pneumonia[J]. Science, 1943, 97(2511): 167.
- [14] Yorke W. Auto-agglutination of red blood cells in trypanosomiasis[J]. Ann Trop Med Parasitol, 1911, 83(563): 238-258.
- [15] Gupta R, Singh S, Anusim N, et al. Coronavirus disease 2019 and cold agglutinin syndrome: an interesting case[J]. Eur J Case Rep Intern Med, 2021, 8(3): 002387.
- [16] Ahmed Y, Khandelwal A, Walker L. Cold agglutinin disease and COVID-19 requiring therapeutic plasma exchange[J]. BMJ Case Rep, 2021, 14(7): e244227.
- [17] Dawudi Y, Federici L, Debus J, et al. Cold agglutinin disease secondary to severe SARS-CoV-2 treated with eculizumab[J]. BMJ Case Rep, 2022, 15(4): e242937.
- [18] Patil NR, Herc ES, Girgis M. Cold agglutinin disease and autoimmune hemolytic anemia with pulmonary embolism as a presentation of COVID-19 infection[J]. Hematol Oncol Stem Cell Ther, 2022, 15(4): 213-216.
- [19] Kaur J, Mogulla S, Khan R, et al. Transient cold agglutinins in a patient with COVID-19[J]. Cureus, 2021, 13(1): e12751.
- [20] 李发爵, 李湘成, 胡燕琴. 冷凝集对红细胞检测及其相关参数严重影响1例处理并文献复习[J]. 医学检验与临床, 2019, 30(2): 72-74.
- [21] 朱李登, 蔡丽平, 黄庆凤, 等. 冷凝集素对不同类型血液分析仪结果的影响及消除方法探讨[J]. 医学检验与临床, 2017, 28(2): 26-29.
- [22] 周益花, 于农. 红细胞冷凝集现象对血常规检验结果影响分析[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2020, 9(2): 209.
- [23] 陆英杰, 徐倩倩, 姜王庆, 等. MCHC用于发现和纠正血常规分析结果的价值探讨[J]. 检验医学, 2022, 37(8): 754-756.
- [24] 李敏, 李进京, 齐林, 等. 冷凝集致假性血小板减少1例[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(8): 1844-1846.
- [25] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜主编. 全国临床检验操作规程[M]. 3版. 南京: 东南大学出版社, 2006.
- [26] Roccaforte V, Sciarini F, Proserpio V, et al. Use of the reticulocyte channel warmed to 41 °C of the XN-9000 analyzer in samples with the presence of cold agglutinins[J]. Hematol Transfus Cell Ther, 2021, 43(2): 147-155.
- [27] 解鸿翔, 沈燕, 庞珍珍, 等. 41 °C温浴对高效价冷凝集素标本血常规检测结果的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2021, 43(4): 507-512.

(收稿日期: 2023-03-23)

(本文编辑: 孙荣华)

朱名超, 朱娅, 郭飞波, 等. 新型冠状病毒感染诱导冷凝集现象对血常规参数的影响 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2023, 17(4): 244-251.