

LH750 血细胞分析仪白细胞分类失败的原因及对策^{*}

唐劲光, 郭 谊, 李世生, 谭鸿霞(广西医科大学第一附属医院检验科, 南宁 530021)

【关键词】 血细胞分析仪; 白细胞分类; 原因; 对策

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 08. 083 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2013)08-1050-02

LH750 全自动血细胞分析仪由美国 Beckman Coulter 公司生产的比较先进的血细胞分析仪。白细胞分类采用 VCS 技术, 通过检测白细胞的体积(V)、核质比(C)、激光散射光(S)参数而综合分析白细胞, 具有分析速度快、结果准确、重复性好、性能稳定等特点, 被广泛应用于各级大医院检验科。但日常工作常会出现白细胞分类失败的现象, 白细胞失败的常见报警提示有两类: PC1 与 PC2。PC1 表示流式通道检测时间延长, 超过预期计数时间 50%, 仍未数到 8 192 个细胞, 表明流式细胞池(Flowcell)堵塞; PC2 则表示流式通道检测时间缩短, 在 1~2 s 内数完 8 192 个细胞, 表明溶血不完全, 白细胞悬液仍含有部分未溶解的红细胞。影响白细胞分类失败的原因有多种, 现将白细胞分类失败的影响因素及处理对策报告如下。

1 温度的问题

按照仪器使用说明, 要求温度控制在 16~32 ℃, 最佳温度 20~28 ℃, 从本实验室的经验发现, 25 ℃ 为最佳温度。在南方的冬季, 晚上室温往往低于 10 ℃ 甚至更低, 试剂置于这样的室温一个晚上, 试剂的温度也应与室温一样。第二天早上上班后开暖气, 室温很容易达到最佳温度, 而试剂温度就没那么容易了, 特别是 20 L 的稀释液, 需要放到水浴箱中水浴加热到约 25 ℃ 后使用才不影响白细胞分类, 否则, 仪器不分类的比例要比平常多。溶血剂中的表面活性剂能与细胞膜作用, 破坏脂质双层结构在细胞膜表面的表面活性剂, 倘若试剂温度太低, 会使溶血剂溶解红细胞的能力减弱, 使红细胞不能完全溶解。大量通过流式细胞池(Flowcell)的红细胞被误认为白细胞, 又因为血液里的红细胞约是白细胞的 1 000 倍左右, 即使只有少部分的红细胞不溶解, 白细胞悬液亦含有比白细胞多得多的红细胞。正常情况需 8~10 s 才计数完 8 192 个细胞, 仅需 1~2 s 便计数完毕, 极大干扰白细胞的分类计数, 这时仪器的散点图上提示 PC2。处理对策: 室内温度太低时, 应 24 h 开空调暖风系统, 让仪器与试剂的温度都能保持在 25 ℃ 左右。

2 标本本身的问题

2.1 黄疸标本 笔者通过对 45 例肝细胞性黄疸、32 例阻塞性黄疸、50 例新生儿黄疸(溶血性黄疸)研究发现, 分类失败占总数的 23%, 不分类比例比非黄疸的标本高得多。仪器报警提示均为 PC2, 表明红细胞溶血不全, 大量的红细胞伴随白细胞通过流式细胞池而使分类失败。作者研究发现, 分类失败的标本并不随着胆红素浓度的增加而增多, 有些胆红素浓度很高的标本分类了, 而有些胆红素浓度低得多的标本反而不分类, 与朱红军等^[1]的研究有差别, 他们的结论是: 当血浆总胆红素浓度高于 150 μmol/L 时, 对白细胞分类有很大影响, 而且随着胆红素浓度的增高, 影响也会越明显。把其中一个不分类的黄

疸标本离心, 吸取上层黄疸血浆, 按正常比例加到一个相同血型、经离心弃掉上层血浆的红白细胞混合液里, 混匀后上机检测, 发现原来仪器检测分类的标本依然是分类的, 正常分类的标本并不因为置换了黄疸的血浆而不分类。由此可以推测, 胆红素并不是白细胞不分类的主要原因, 标本分类与否与标本胆红素浓度关系不大, 而应该与红细胞膜的不同分子结构与脆性关系密切。这主要是由于肝病患者红细胞膜表面的胆固醇和卵磷脂代谢异常, 使其红细胞膜结构发生改变, 膜表面抵抗溶血素的能力增强^[2]。可能有如下原因: (1) 在某些肝病患者体内, 胆红素自由基与红细胞膜脂质成分的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应后, 膜不饱和脂肪酸减少, 引起膜分子结构的改变, 脂质与蛋白质的相互作用下降, 从而降低表面活性剂对红细胞膜的破坏作用, 造成溶血不全; (2) 重症肝病患者常伴有脂质代谢紊乱, HDL-C 的逆向转运受阻, 胆固醇酯就不可避免地堆积在红细胞膜表面, 使膜结构发生变化, 使红细胞脆性降低, 抗溶性增强^[3]。

处理对策: 对于黄疸且不分类的标本, 往标本里加入生理盐水或仪器配套稀释液约 2 mL, 充分离心洗涤后, 准确吸取等量的上层稀释血浆弃掉, 混匀重新检测, 这时细胞的浓度并没有改变, 可结果发现绝大多数标本都能分类, 并且分类结果与人工分类结果基本相同。其他的血常规检测指标结果与不洗涤前的结果从统计学上看差异无意义, 极个别仍不分类的标本需要涂片染色人工分类。该方法简单、准确而实用, 值得推广。至于上述标本经离心洗涤处理后仪器能很好地分类, 是因为离心洗涤稀释了血浆里某种抵抗溶血剂的物质, 还是改变了红细胞膜的分子脆性, 有待进一步研究。作者曾怀疑加入稀释液的标本离心后, 红细胞受到离心压力而改变自身的溶血性, 而当用同样的离心速度离心前面不分类的标本后, 上机检测该标本, 仪器仍不分类。可见, 标本的分类与否与离心压力无关。

2.2 脂血标本(血浆脂浊) 通过对 48 例不同脂浊浓度的标本在仪器上检测发现, 全部标本都能分类, 并且分类结果与人工分类结果基本相同, 与朱乐攀等^[4]的研究有出入。他们认为高血脂直接干扰 VCS 三项参数的测定, 同时溶血素中表面活性剂亲脂基团与脂质融合, 减少了溶血素与细胞的作用, 红细胞破坏不完全, 且白细胞体积变小, 干扰白细胞分类。

2.3 非黄疸非脂血标本 部分患者的标本非黄疸非脂血, 但常常会出现白细胞分类失败的现象, 如珠蛋白生成障碍性贫血、孕产妇、肾病、白血病患者。仪器报警提示亦为 PC2, 同样表明红细胞溶血不全。珠蛋白生成障碍性贫血共同特点是由于珠蛋白基因的缺陷使血红蛋白中的珠蛋白肽链合成障碍, 导致红细胞的脆性降低, 部分红细胞抵抗分类溶血剂而溶血不

* 基金项目: 广西卫生厅科研课题(Z2012093)。

完全;孕妇本身血液处于高凝状态,尤其一些高龄孕妇红细胞膜特别厚,在溶血剂作用下很难胀破,常会出现 PC2 报警^[5]。

处理对策:对于这些血浆颜色正常而不分类的标本,虽然不是黄疸标本,同样可以使用 2.1 的处理对策,标本离心洗涤后基本都能分类,并且仪器分类结果与人工分类结果基本相同。对于极度贫血含有幼红细胞的标本与白血病的标本,仪器即使分类了,分类的结果往往不准确,更不能辨别出幼稚的白血病细胞,此时仍需要涂片染色人工分类。

3 试剂问题

LH750 全自动血细胞分析仪分类溶血剂的量都配有夏天模式(28 μ L 全血+350 μ L 溶血剂+134 μ L 稳定剂)与冬天模式(28 μ L 全血+540 μ L 溶血剂+205 μ L 稳定剂),在排除仪器异常的情况下,仪器还常常不分类,建议把仪器调到冬天模式,提高溶血剂与稳定剂试剂量。作者实验室曾有一台仪器不分类的比例偏高,将该仪器试剂模式调到冬天模式,问题就解决了。

4 仪器问题

(1)流式通道堵塞:Flowcell 堵塞,常导致计数时间延长,仪器提示 PC1。(2)五分类混合池单向阀堵塞:五分类混合池下方的单向阀堵塞,造成排废不畅将出现 PC2。每次计数完,混合池中的液体将被排空并冲洗 1 次,最后杯中余有一点无色的稀释液。如果排废不好,杯中则有较多残留液体,降低了分类溶血剂的相对浓度。(3)混合池混匀马达故障:马达不转或不停地旋转,也会导致 PC2。正常情况混合池内的每份标本混匀 2 次,即加溶血剂和稳定剂后各混匀 1 次。若不混匀则溶血不充分,而不停地混匀则可能影响鞘流。(4)溶血剂或稳定剂

的泵管道破裂:溶血剂泵管道破裂难免出现 PC2,图点偏下。稳定剂泵管道破裂也将出现 PC2,此时可看到分类图点纵向上偏,计数不足 8 192 个。

综上所述,五分类血细胞分析仪在细胞分类方面还存在着一定的问题。白细胞不分类的原因很多,在实际工作中应根据不同的原因采取不同的对策。同时,各实验室应建立自己的复检规则进行手工涂片复检。

参考文献

[1] 朱红军,费选文,陈书裕. 黄疸因素对 Coulter Maxm 血细胞分析仪白细胞分类的影响[J]. 实用医学杂志,2000,16(5):422-423.

[2] 黄秀琴,黄学忠,陈晓飞,等. 肝硬化患者红细胞膜抗溶性增强对白细胞检测的干扰及其纠正[J]. 江西医学检验杂志,2002,20(6):347-348.

[3] 孙杨,丘江. 106 例重症肝病患者白细胞检测结果异常情况分析及原因分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):754-755.

[4] 朱乐攀,张扬南,廖晓梅,等. Beckman Coulter LH750 血液分析仪故障原因处理与对策[J]. 中国医学检验杂志,2010,11(6):332.

[5] 李芙琴,李华,王军. Coulter LH750 血细胞分析仪白细胞不分类的常见原因[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(12):1237.

(收稿日期:2012-09-26 修回日期:2012-11-12)

血小板计数偏差原因分析及对策的探讨

刘美琴(湖北省十堰市房县人民医院 442100)

【关键词】 血细胞分析仪; 血小板计数; 影响因素
DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 08. 084 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2013)08-1051-02

血小板具有体积小、易凝集、易破坏等特点,在某些情况下血小板计数值常出现较大偏差。为提高血小板计数的准确性,现对标本的验收、患者自身因素、仪器引起的偏差、药物引起的偏差 4 个方面进行总结如下。

1 标本接收应进行严格的验收

1.1 采血要求 采血速度和出血顺畅是保证血小板计数准确性的关键。有研究表明,采取末梢血与静脉血相比,可使血小板计数明显下降 9%^[1]。因末梢血的准确性和重复性较差,所以作血小板计数时除婴儿及抽血困难者使用末梢血外,其余都应使用静脉血。

1.2 抗凝要求 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)是国际血液学标准委员会(ICSH)推荐检查血常规抗凝剂,用 EDTA-K₂ 抗凝血液时,抽血时血量一定要符合抗凝的比例要求,血量过多过少都会引起血小板计数减少。若出现 EDTA 依赖性凝集或“血小板卫星现象”,应更换枸橼酸钠代替 EDTA-K₂ 或在 EDTA 抗凝血中加入肝素钠^[2-3]。

1.3 送检要求 应在半小时内送检。因为血小板容易黏附、聚集且易破碎,静脉血最好在标本采集 10 min 后到 2 h 内完

成^[4]。采血后立即检测,抗凝剂与血小板形成可逆聚集体,被误认为是红细胞,使计数下降;时间过长,血小板发生自溶、变形、体积变小或黏附聚集和破坏,使血小板计数减少。

2 患者自身因素引起血小板变化

2.1 冷凝集素的影响 急性感染、溶血性贫血等疾病均可引起冷凝集素在短时间升高,引起血小板计数假性偏低。把血液放入在 37 ℃温育 15 min 后检测,可排除冷凝集素对血细胞分析仪的干扰及影响。

2.2 血小板体积偏大的影响 某些患者由于某些疾病或者是妊娠期,会造成血小板体积偏大。血细胞分析仪在计数时,不会将体积大的血小板纳入血小板计数范围,使血小板计数偏低,这一情况可以通过直方图来判断或涂片镜检观察血小板体积和数量。

2.3 小红细胞的影响 某些疾病如小细胞低色素性贫血、溶血性贫血等,在计数血小板时易受小红细胞和红细胞碎片的影响,使血小板计数假性增高。此时要注意观察红细胞直方图的起点及血小板曲线下限是否达基底,也可根据红细胞平均体积来判断,同时仪器警示栏中也会有提示,可涂片观察及用目视