

一例严重冷凝集样本的血常规检验解决方案

张时民

作者单位:100730 北京市,中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院检验科

冷凝集一般源于体内冷凝集素过高而导致血液在体外、低温条件下产生的红细胞(red blood cell, RBC)自凝,从而影响血液检查,特别是导致血常规检查以及血型鉴定出现错误结果。冷凝集素是一种能在低于37℃条件下凝集细菌、RBC等颗粒抗原的抗体,引起凝集反应温度一般小于30℃,其最高滴度在4℃时出现,温度上升到37℃时凝集现象可消失^[1]。近日在常规检验工作中发现一例严重的冷凝集样本,我们采取了多种检验方法进行处理,并最终给出正确血常规检验结果。现报告如下。

1 病程情况

患者72岁,男性,因小肠疝气到北京郊区某医院就诊,术前进行例行血常规检查,因患者抽血后出现凝集现象,该医院未能得出结果;后转到北京市某三甲医院复查,同样因血液出现凝集现象而未能给出血常规检查报告;最终患者被推荐来我院就诊并进行血常规检查。

2 实验室检查

初次接到患者血液时不知道其在两医院就诊和检查的经历,将其随机进行检验,所用仪器为Siemens Advia2120全自动血液细胞分析仪,未能得到正确的结果,检视标本后发现有明显的冷凝集现象,改用Sysmex XE-5000全自动血液分析仪再次复检测定,仍未获得满意的结果。两种仪器检测血常规相关参数结果见表1。

因检测结果中RBC极低,与HGB不成比例的降低,且MCH、MCHC明显升高,因而对血液外观进行检视,发现在试管壁上明显附着有斑块样凝集颗粒,摇动试管即可见到凝块出现,因此仪器测定RBC数据不正确,WBC数和分类结果有可能不可靠,且由表1可见XE-5000不能获得分类结果。因

此需要排除冷凝集现象后再行血常规测定,我们根据以往经验采用下列方法处理。

方法1:将标本立即放在37℃水浴中,大约半小时后略有解离,立即以闭盖急检模式上机测定,其结果与表1中结果类似,肉眼检视标本外观,见血液冷凝集现象未消失。方法2:将患者叫到实验室,在血细胞分析仪旁采集静脉血,立即上机测定,还是不能获得满意结果,复检视标本外观仍然呈现冷凝集状。方法3:将血标本用37℃温生理盐水稀释四倍后立即上机测定,将RBC、WBC、HGB、PLT等计数结果×4,测定结果仍不满意,特别是RBC结果明显低,无法获得正确结果。方法4:回归传统的显微镜检查法:将血液标本和2.0ml的生理盐水稀释液同置37℃度水箱内孵育30min,后用加样器取孵育好的血液10μl迅速加入2.0ml的温盐水中稀释,混合均匀,滴到计数板上计数,在显微镜下观察。在显微镜下仍然看到有少许聚在一起的RBC,无法准确计数。再将稀释后的标本用力振摇几下,再次混合均匀,然后滴到计数板下观看,RBC在适当温度和外力作用下解聚,此时在计数板上分布均匀。然后依RBC计数操作规程,用显微镜法计数RBC。WBC和PLT计数也在孵育后,采用WBC稀释液和PLT稀释液稀释后,采用传统的显微镜计数法进行了检验。

为了观察RBC凝集情况及进行WBC分类,需做血涂片。该患者血涂片无法正常进行,血滴于载玻片上,立即出现聚集,这些聚集的RBC团块被推到涂片尾部。尝试将玻片预先放在暖气片上进行预温,然后滴一滴血液在载玻片后立即推片,仍然感觉到出现细沙颗粒状,多数细胞都被推到尾部。镜下RBC仍呈聚集状态,而且是明显的聚集,几乎未见散在的RBC,在团块中包裹有WBC,且能够见到许多散在的

表1 两种仪器检测血常规相关参数结果

组别	RBC ($\times 10^3/L$)	HGB (g/L)	MCV (fl)	HCT (%)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)	WBC ($\times 10^9/L$)	Neut (%)	Lymph (%)	Mono (%)	Eos (%)	Bas (%)
Advia2120	1.35	116.00	92.50	12.50	86.20	933.00	205.00	20.58	17.50	65.60	0.90	0.80	1.50
XE-5000	0.73	111.00	117.80	8.60	152.10	1291.00	102.00	20.22	-	-	-	0.14	-

表 2 最终报告结果

项目	RBC ($\times 10^{12}/L$)	HGB (g/L)	MCV (fl)	HCT (%)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)	WBC ($\times 10^9/L$)	Neut (%) (#)	Lymph (%) (#)	Mono (%) (#)	Eos (%) (#)	Bas (%) (#)
结果	3.2	111.0	92.5	28.4	31.1	339.0	205.0	20.6	15(3.1)	82(16.9)	0.0(0.0)	3.0(0.6)	0.0(0.0)

WBC, 见图 1、图 2。根据这些完整形态的 WBC, 可初步分类。

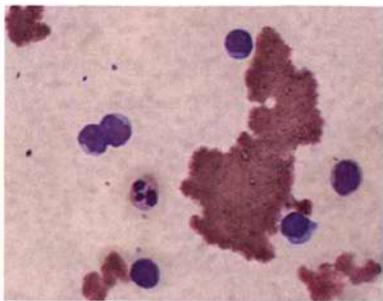


图 1 冷凝集标本血涂片瑞-姬染色($\times 1000$)

注: 片中可见 RBC 凝集成大团块状, 淋巴细胞和中性粒细胞散在, PLT 少见

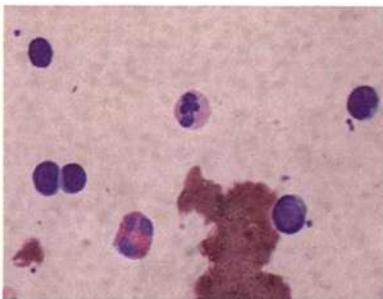


图 2 冷凝集标本血涂片瑞-姬染色($\times 1000$)

注: 片中几乎见不到散在的 RBC, 淋巴细胞较多、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞可见, PLT 数量明显减少

对计算参数应该按照公式重新计算, 虽然 HGB 测定结果也可能受到部分影响, 但根据 RBC 计数的结果来看, 该仪器测定的 HGB 结果基本可靠; RDW 参数无法人工计算, 因此可以删除不报告。WBC 分类结果也是采用镜下分类的结果, 再根据 WBC 总数分别算出各类细胞的绝对值并发出报告, 并在备注上说明此标本为严重冷凝集标本。WBC 总数和 PLT 数量经显微镜下复核, 与 Advia 2120 仪器法计数结果非常接近, 故以该仪器计数结果为最终报告结果。表 2 为最终报告结果。

3 讨论

冷凝集现象所导致的血常规检验无法完成或错误结果的病例并不少见, 以往发表过的文章中已经多有报道, 其解决方法也有多种, 许多作者都采用将血液标本放置在 37 ℃水浴箱内孵育后测定^[1,2]。但是在日常工作中有些特殊情况还需特殊处理方法, 实验可以采取多种尝试, 没有固定模式, 以期

获得尽可能接近准确的结果。针对本病例, 本实验室尝试用了 4 种方法进行检测, 当然可以采用生理盐水置换血浆的方法^[3], 尽量将血浆中的冷凝集素置换掉, 本例患者没有采用这种尝试。还有作者采用多种不同条件的水浴温度, 尝试找到发生冷凝集现象的证据和最佳解聚的条件, 其结论是在 25~37 ℃条件下, RBC 基本可以解聚, 能够保证血常规测定的准确^[4]。

从文献^[5]报道来看, 某些病例可以有明显的 HGB、WBC 和 PLT 变化, 因为 RBC 可以将 WBC 或 PLT 凝集在一起, 从而影响他们计数的准确性。但是也有病例并未出现对这些参数的明显影响, 经显微镜计数法确认, 本病例所用 Advia 2120 仪器计数结果对 WBC 和 PLT 影响不大, 因此最终报告时仍采用仪器法报告该两项参数。所以具体情况均需通过将 RBC 解聚以后再测定而确认, 并将结果进行综合分析后再发出报告。而对计算参数则需根据实测结果报告或重新计算。此外冷凝集素效价过高可导致血型测定错误和血交叉配血不合, 在采供血工作中也应引起注意^[6]。

冷凝集素是冷反应型抗 RBC 抗体, 属 IgM 型抗体, 在 0~4 ℃时最易和 RBC 膜抗原结合, 是一种可出现在正常人血清中的能凝集 RBC 的一种抗体, 正常情况下效价 < 1:32, 不会出现与 RBC 的凝集反应, 没有临床意义。RBC 出现冷凝集现象多发生于血液冷凝集综合征, 是 IgM 抗体引起的自体免疫性疾病, 又叫“冷凝集素病”。其特点是在 31 ℃以下温度时这种冷抗体能作用于自身的 RBC 抗原, 发生可逆性的 RBC 凝集。当体表皮肤温度较低时, 凝集的 RBC 可阻塞微循环而发生发绀, 出现手足紫绀症或伴有较轻的溶血。在体外冷凝集素与 RBC 抗原发生作用的最适温度是 0~4 ℃, 在 31~32 ℃以上时他们发生的凝集反应是可逆的。在实验室检查中, 血液采集以后, 在体外标本温度会迅速下降, 因而出现肉眼可见的细沙样颗粒现象, 如果样本能迅速放置于 37 ℃水浴箱内, 此凝集现象可产生可逆性反应, 带 RBC 解聚后上机测定, 仍然可以获得准确的实验结果。但当冷凝集现象非常严重时, 可出现凝集成团、成大块样现象, 水浴也不能完全消除或从水浴箱中取出后会再次迅速凝集, 使得样本不能顺利进行血常规测定(如本例), 甚至可以堵塞仪器管道时, 则需要采用其他方法处理。

冷凝集素效价增高主要见于原发性冷凝集素综合征, 其效价可高达 1:1000 以上, 而轻度增高常见于非特异性炎症、间质性肺炎、自身免疫性疾病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴

瘤等,也可以是特发性的或继发于淋巴组织系统的恶性肿瘤或支原体肺炎^④及传染性单核细胞增多症等病毒感染性疾病。本例患者因仅仅来我院做血常规检查,其详尽病例和其他相关检查,特别是冷凝集实验,免疫球蛋白等相关检查未能得到结果,也是本病例报道的一大缺憾,但从患者后续来院检查并提供的外院诊断报告资料,配合本次检验结果,特别是 WBC 分类中见到高比例的淋巴细胞,可以支持外院做出的慢性淋巴细胞白血病的诊断。通过本病例,我们深刻认识到在以后的实际工作中应尽量与临床配合,结合尽可能多的实验结果,对分析探讨病例会有较大帮助。

4 参考文献

- 孙宝旗,张庆.冷凝集素对 2 例血常规检测多项参数干扰分析.河

北医药,2010,32:2109-2110.

- 乐家新,马骏龙,徐茵,等.红细胞冷凝集对不同类型血细胞分析仪检测结果的影响探讨.医疗卫生装备,2009,30:69-71.
- 曾琼,周燕,邹毅.肺炎支原体肺炎致血常规严重冷凝集.临床误诊误治,2005,18:791-791.
- 朱业华,梁佩贤.冷凝集素过高对血常规检测结果的影响.右江民族医学院学报,2002,24:413.
- 魏寿忠,李晓红,林列.冷凝集素引起血液分析仪测定结果异常及处理.中国医学检验杂志,2004,5:351-352.
- 林国连,詹奕荣,刘红杏,等.冷凝集素对血型鉴定和交叉配血的影响相关研究分析.河北医学,2010,16:302-304.

(收稿日期:2011-03-11)

(本文编辑:陈淑莲)

消息

第五届(2011)检验医学新进展热点会暨解放军总医院临床检验新技术、新进展国家继续教育学习班

“检验医学新进展热点会”及“解放军总医院临床检验新技术、新进展国家继续教育学习班”均已连续举办四届,参会代表共计近二千人。为了继续拓宽广大检验从业人员的知识领域,了解和掌握疑难病症的诊断方法与操作规范,提高工作水平,并对检验科工作的新理念、新技术有更全面的认识和了解。中华医学学会继续教育部、解放军总医院继续医学教育指导委员会与北京检验学会定于 2011 年 7 月于北京联合举办“第五届(2011)检验医学新进展热点会暨解放军总医院临床检验新技术、新进展国家继续教育学习班”。期间安排参观解放军总医院(301 医院)检验科室。

会议将邀请:丛玉隆、左大鹏、郭健、马俊龙、袁家颖、张时民、毛远丽、李永哲、赵辉、王辉、沈定霞、杨铁生、栗绍刚、袁慧、王成彬等专家进行专题讲座。

主要内容为:1、血小板功能检测方法学进展及质量控制;2、抗凝治疗实验室检测临床价值与方法学评价;3、临床实验室室内质量控制的基本措施;4、尿液分析方法学进展及问题的思考;5、末梢血涂片细胞形态学检查及临床意义;6、尿液有形成分形态学检查及临床意义;7、肝脏病生物化学检查方法学进展及临床意义;8、自身免疫病检查方法学进展及临床意义;9、生物安全与生物安全管理;10、细菌耐药与抗生素合理应用;11、真菌检验及临床应用;12、人体寄生虫病检验方法学进展及方法学评价;13、常见寄生虫(疟疾,孢子虫

等)形态学检查及注意的问题;14、全面质量控制与全自动流水线;15、流式细胞技术及其应用;16、活动安排为参观考察学习解放军总医院。

1 会议时间及地点

会议日期:2011-7-13 至 2011-7-18

会议地点:解放军总医院

2 联系方式

联系人:李明、汪琪、兰亚婷

电话:(010)-51213558;51213556;66937371

传真:(010)-51213550;51213551

E-mail:qizhi5410@hotmail.com

3 注意事项

会议费用:980 元

食宿安排:会务组统一安排,费用自理。

会议人数:因会议将在 301 医院内召开,受会场限制并为保证授课效果,会议人数将严格控制在 200 人以内,有意参会人员尽快确定报名,并确定住宿天数与方式。

4 主办单位及承办单位

主办单位:中华医学学会继续教育部;解放军总医院继续医学教育指导委员会;北京市检验学会

承办单位:北京康迪亚医学技术有限公司