

2%二甲亚砜在血细胞抗凝血保存中的实验探讨

陈 少¹, 裴 兵² (1. 江苏省泗阳康达医院 223700; 2. 江苏省泗洪县人民医院 223900)

【摘要】 目的 探讨用 2%二甲亚砜(DMSO)和乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)组成复合型抗凝剂用于血细胞分析仪标本保存。**方法** 制备含有 2%DMSO 复合抗凝剂的抗凝管,随机抽取患者血液及已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 患者血液各 45 份,每份标本分别装于 1 号管(含 EDTA-K₂ 国产抗凝管)、2 号管(制备含 2%DMSO 的复合抗凝管)、3 号管(无抗凝剂采集管)。将 3 号管立即在美国雅培 CD1800 血细胞分析仪上测定,将 1 号管和 2 号管标本分别于室温下 1、4、8、12 h 测定,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示并采用配对 *t* 检验。**结果** 1 号管标本,其平均血小板体积于 8 h,其值增大,与 2、3 号管比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 患者的标本在 4~8 h 与之比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。2 号管在 12 h 内,随机抽取患者血液及已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 患者的标本各项参数与 3 号管比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 初步试验探讨表明,制备 2%DMSO 和 EDTA-K₂ 组成的复合抗凝剂更适用于血细胞分析的血液标本保存,在常规医学检验中为医疗纠纷提供了有利的凭据。

【关键词】 二甲亚砜; 血细胞分析仪; 抗凝剂

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.04.002 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)04-0387-02

Experimental study on 2% dimethyl sulfoxide in anticoagulant preservation of blood cells CHEN Shao¹, PEI Bing²
(1. Kangda Hospital of Siyang, Siyang, Jiangsu 223700, China; 2. People's Hospital of Sihong County, Sihong, Jiangsu 223900, China)

【Abstract】 Objective To study using 2% dimethyl sulfoxide (DMSO) and EDTA-K₂ to constitute the compound anticoagulant for preserving the sample in blood cell analyzer. **Methods** To prepare the anticoagulant tube containing 2% DMSO compound anticoagulant. The patient's blood was randomly collected and the blood of the patients with known platelets less than $50 \times 10^9/L$ was collected, 45 samples in each group and loaded in different tubes respectively, No. 1 tube containing domestic EDTA-K₂, No. 2 tube containing 2% DMSO compound anticoagulant and No. 3 collecting tube without anticoagulant. No. 3 tube was immediately detected in the U. S. Abbott CD1800 hematology analyzer. No. 1 tube and No. 2 tube samples were detected under room temperature at 1, 4, 8, 12 h. The data were expressed by $\bar{x} \pm s$ and performed the paired *t* test. **Results** The MPV value in the sample of NO. 1 was increased at 8 h, showing the statistical difference compared with No. 2 and No. 3 tubes ($P < 0.05$). Compared with the samples of the patients with known platelet less than $50 \times 10^9/L$ at 4, 8 h, there was statistical difference ($P < 0.05$). In No. 2 tube within 12 h, the various indexes of randomly collected blood samples and the samples of the patients with known blood platelets less than $50 \times 10^9/L$ had no statistical difference compared with No. 3 tube ($P > 0.05$). **Conclusion** The preliminary experimental study shows that the compound anticoagulant prepared by 2% DMSO and EDTA-K₂ is more suitable for the blood samples preservation of blood cells analysis, which could provide a favorable credentials for medical disputes in the routine medical examinations.

【Key words】 2% dimethyl sulfoxide; hematology analyzer; anticoagulants

随着科技的发展,目前血液分析仪已在多数医院普及使用,合理使用抗凝剂对保证血液分析仪的检测结果的准确性有重要的意义。国际血液学标准化委员会(ICSH)要求血细胞分析在尽可能短的时间内完成,最好在 2 h 内进行,但随着工作量的增加,许多医院由于各种原因全部标本不可能在规定时间内完成,这就加大了对抗凝剂对血液保存的要求。作者对以前报道的抗凝剂配方进行改良,配制了 2%二甲亚砜(DMSO)和乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)组成的新型抗凝剂,将收集的标本与未抗凝的新鲜血和 ICSH 推荐的含 EDTA-K₂ 国产抗凝管的抗凝血进行结果比较,2%DMSO 组成的复合抗凝剂不但结果重复性好,变异系数小,还能防止假性血小板减少,更适合做血细胞分析的血液保存^[1]。

1 材料与方法

1.1 标本 随机抽取患者血液及已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 的患者血液各 45 份。

1.2 仪器与试剂 美国雅培 CD-1800 型自动血液分析仪及原装进口试剂(上海雅培代理有限公司)。国产抗凝管每管内含 3.0 mg EDTA-K₂(江苏康健医用品有限公司)。2%DMSO 进口分装(上海诺泰化工有限公司)。自制抗凝管内含 2%DMSO、EDTA-K₂、pH 调节剂,配成液体无菌过滤,装于无菌清洁管中,每管 0.1 mL,于 37~45 ℃烘干备用,每瓶含抗凝剂复合物 3.2 mg^[2]。

1.3 试验方法 随机抽取患者血液及已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 的患者血液各 45 份,每份标本分别装于 1 号管(含 ED-

TA-K₂ 国产抗凝管)、2 号管(2% DMSO 复合抗凝剂管)、3 号管(不含抗凝剂)。将 3 号管立即在美国雅培 CD1800 血细胞分析仪上测定,2 号管和 3 号管血液在室温下,分别于 1、4、8、12 h 测定,重复 5 次测定并记录结果。

1.4 统计学方法 对白细胞(WBC)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、红细胞比容(HCT)、血小板(PLT)、淋巴细胞百分率(LYM%)、单核细胞百分率(MON%)、中性粒细胞

百分率(GRA%)、红细胞体积分布宽度(RDW)和平均血小板体积(MPV)测定结果分别用 $\bar{x} \pm s$ 表示,管间比较采用配对 *t* 检验。

2 结 果

2.1 在室温下,抽取已知患者血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 的患者血液,3 号管标本立即测定,1、2 号管标本于不同时间内测定的各值情况见图 1、表 1。

表 1 未含抗凝管、国产抗凝管、2% DMSO 抗凝管标本在美国雅培 CD1800 血细胞分析仪上测定结果($\bar{x} \pm s, n=45$)

测定参数	未抗凝 立即测定	1 h		4 h		8 h		12 h	
		国产	2%DMSO	国产	2%DMSO	国产	2%DMSO	国产	2%DMSO
WBC	6.35±1.38	6.43±1.39	6.36±1.38	6.48±1.42	6.32±1.36	6.50±1.18	6.38±1.41	6.30±1.37	6.31±1.37
Hb	142.00±5.80	140.00±5.74	143.00±5.86	139.00±4.49	141.00±5.78	147.00±5.92	142.00±5.81	150.00±6.01*	144.00±4.81
MCV	95.50±4.51	94.50±4.61	94.80±4.65	95.80±4.73	94.50±4.48	95.60±4.71	95.40±5.05	99.90±6.60*	96.10±4.81
HCT	40.50±2.40	40.90±2.60	41.00±2.70	39.90±2.30	40.40±2.30	41.10±2.60	40.30±2.40	44.20±3.00*	40.10±2.20
PLT	153.00±14.30	157.00±14.20	155.00±14.80	160.00±16.80	149.00±14.40	139.00±17.10*	151.00±14.50	140.00±16.20*	148.00±13.90
LYM%	0.31±0.06	0.32±0.06	0.31±0.05	0.33±0.07	0.30±0.05	0.32±0.06	0.31±0.05	0.29±0.04	0.31±0.05
MON%	0.09±0.03	0.08±0.02	0.09±0.03	0.09±0.03	0.09±0.03	0.08±0.02	0.09±0.03	0.11±0.07	0.09±0.03#
GRA%	0.60±0.08	0.60±0.08	0.62±0.07	0.58±0.06	0.61±0.09	0.60±0.07	0.61±0.07	0.64±0.09	0.61±0.08
RDW	0.13±0.01	0.14±0.02	0.13±0.01	0.13±0.01	0.14±0.02	0.13±0.02	0.15±0.02	0.12±0.01	0.13±0.01
MPV	12.30±1.02	12.40±1.03	12.30±1.02	13.40±0.90	12.70±1.03	10.90±1.09	12.80±1.02#	10.20±1.08	12.40±1.04#

注:与国产抗凝剂管比较,#*P*<0.05;与未抗凝血立即测定比较,**P*<0.05。

2.2 1、2 号管标本血小板分布情况见图 2。从图中可以看出,保存的血小板影响最明显,因此 2% DMSO 复合管在血常规保存中起到很好的作用。

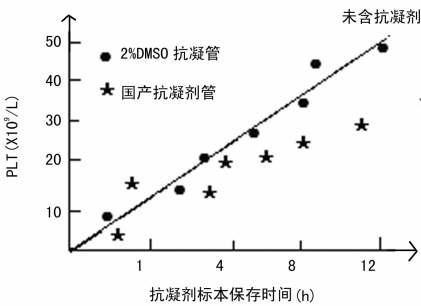


图 1 血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 标本在 3 种抗凝管中不同时间结果比较

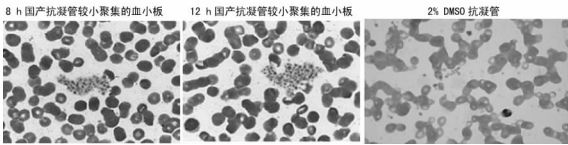


图 2 国产抗凝管、2% DMSO 抗凝管在 12 h 的血小板图片

3 讨 论

DMSO 是一种无色黏稠液体,有吸湿性,能与水任意互溶,属于万能溶媒,在细胞生物学领域内用途广泛,既是一种保护剂,又是细胞融合和通透性的增强剂。在血液常规检验中,对于血细胞分析,ICSH 推荐用 EDTA-K₂ 抗凝剂,但有作者认为 EDTA-K₂ 抗凝之标本有一些不足^[3],具体原因是:(1)个别标本白细胞、血小板可发生聚集;(2)血小板参数(MPV)比值

增大^[4]。而 2% DMSO 具有抑制血小板膜表面 PAC-1 和 CD62p 表达作用,保护血小板功能和活性,不发生聚集。有人利用细胞膜研究 DMSO 与各细胞膜之间,尤其与细胞膜的脂质成分之间的相互作用,结果提示,DMSO 的这一生物学机制可能源于它对膜脂质排列的稳定性和特征性的作用^[5],使血小板及各细胞保持良好的形态而不发生聚集,Reid 等^[6]研究也证明了这一点。

本试验结果显示,在 8 h 内随机患者血液及已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 患者血液用制备 2% DMSO 复合抗凝剂的标本各项测定值与未含抗凝剂的新鲜血立即测定结果间差异均无统计学意义。含 EDTA-K₂ 的随机患者血标本 MPV 于 8 h 开始增高,白细胞分类中 MON%在 8 h 也明显增高,而自制 2% DMSO 的复合抗凝剂的标本 MPV 在 8 h 内与立即测定值基本一致,其 MON%也基本上无改变。含 EDTA-K₂ 的已知血小板小于 $50 \times 10^9/L$ 患者血标本测定,4~8 h PLT 有显著性差异,可能因血小板外膜形成的微小管游离端向外伸展、或因肌动蛋白纤维丝向中心方向延长时遇到阻力而产生向膜外方向的反作用推力,从而在血小板周围形成丝状伪足,数个这样的血小板的伪足相互缠绕,形成血小板可逆聚集体^[7]。结合国内外一些报道的情况^[8-9]来看,较适用于 2 h 内可完成的标本。甚至有些学者提出在 1 h 内完成测定较好^[10]。因此,在标本量较大而又无法按时完成测定的情况下,本研究用 2% DMSO 和 EDTA-K₂ 组成的新型复合抗凝剂不但防止血小板假性聚集,而且还能保护各细胞膜,维持细胞之间形态。DMSO 对血小板保存的分析作用途径值得作进一步探讨,为减少医疗风险提供有力的依据。

(下转第 391 页)

3 讨 论

从试验结果可以看出, IQ200 ELITE 检测血细胞悬液中的 RBC 的线性范围为 7~3 800, 范围较宽, 且其检测下限也在尿液 RBC 的正常参考范围之内, 能基本满足临床绝大多数标本的需要。但需要指出的是: 为寻找 IQ200 ELITE 检测 RBC 的检测范围, 本试验使用的是人体静脉血稀释成的细胞悬液, 其与尿液比较, 成分比较单一, 条件比较理想, 各种细胞之间以及细胞成分与基质之间的干扰较少, 因此获得的结果也较检测尿标本的结果理想, 但此试验也能反映 IQ200 ELITE 检测 RBC 的大致范围, 对临床应用还是具有一定的指导意义。

从上述试验结果还可看出, IQ200 ELITE 能对尿液中的 RBC 进行灵敏而精确地鉴别和计数, 具备极高批内及批间精密度和较高的日间精密度, 总重复性良好, 携带污染率极低, 适应于临床工作中患者样本测定的精密密度要求, 能够满足临床检测的需要。采用 Fast-Read 板定量分析尿中有形成分是目前定量测定的“金标准”, 将 IQ200 ELITE 计数 RBC 数与 Fast-Read 计数 RBC 结果比较, 可以看出两种方法之间的差异值不随 RBC 浓度升高而升高, 或升高而降低, 即提示 IQ200 ELITE 计数 RBC 没有明显恒定的系统误差, 但还有个别点偏离零线较远。作者通过分析偏离较远点的尿液发现, 这几份尿液中存在着一些干扰物误判为红细胞的现象, 其中最为明显的是小圆形草酸钙对 RBC 计数的干扰, 这一点与干扰物验证试验结果一致。实际上, 在作者的日常应用 IQ200 ELITE 的过程中, 发现除草酸钙对 RBC 计数存在明显影响外, 真菌、无定形结晶、磷酸盐结晶等都会对 RBC 计数干扰产生假性增高, 而尿中 RBC 自身形态对 IQ200 ELITE 计数 RBC 也有很大的影响, 如肿胀红细胞常常被误判为白细胞, 而使 RBC 数量假性降低。

综上所述, IQ200 ELITE 检测尿中 RBC 具有良好的线性, 较宽的线性范围, 精密密度较高, 携带污染率极低, 没有明显的系统误差。近几年国外文献对其性能及检测结果也有较高评价^[3-4]。IQ200 ELITE 采用高速频闪光源(stroboscopic lamp)(24 次/秒)和电视摄像(video camera)的光学系统, 在位相差显微镜下, 由数码相机拍摄 500 个高倍视野照片, 储存并显示在荧光屏上, 十分方便人工选取可疑的成分进行辨认和识别。

若对 IQ200 ELITE 自动识别结果进行人工修饰, 能减少仪器判定的误差, 大大提高检测的准确性^[5]。但是, 作者也发现, 对含杂质多, 如结晶、非结晶型盐类多的标本, 其图像模糊, 会有假阳性图像出现, 审核结果时, 需对假阳性图像用显微镜重新进行正确的分类, 重新分类的数量约占 4%^[6]; 此外, IQ200 ELITE 不能区分尿红细胞的均一性与非均一性等形态, 不能判断泌尿系统出血部位, 因此必要时还是需要进行人工镜检。

在提倡尿沉渣标准化的今天, 手工镜检法由于操作工作量大, 无法做到每一份标本都做镜检, 且难以实现各种尿液有形成分标准化, 而 IQ200 ELITE 作为一种具有良好的线性范围和高精密密度、准确度、敏感度、特异性的尿沉渣分析仪, 可用于过筛检查和治疗监控, 具有较高的临床应用价值。

参考文献

- [1] Reinhard Z, Ffirdrich P. Routine workflow for use of urine strips and flow cytometer UF-100 in the hospital laboratory [J]. Clin Chem, 1999, 45(5): 1305.
- [2] 丛玉隆, 马俊龙, 张时民, 等. 尿液细胞成分定量分析方法学研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 211-214.
- [3] Hughes C, Roebuck MJ. Evaluation of the IRIS 939 UDx flow microscope as a screening system for urinary tract infection[J]. J Clin Pathol, 2003, 56: 844-849.
- [4] Wah DT, Wises PK, Butch AW. Analytic performance of the IQ200 automated urine microscopy analyzer and comparison with manual counts using Fuchs-Rosenthal cell chambers[J]. Am J Clin Pathol, 2005, 123: 290-296.
- [5] 王丹玲, 杨俊芳, 赵亚静, 等. IRISIQ200 全自动尿沉渣分析仪修饰前后与不离心镜检定量方法的对比研究[J]. 中国医学检验杂志, 2007, 8(5): 311-313.
- [6] 毛菊珍, 顾国浩, 丰斌, 等. IQ200 全自动尿沉渣分析仪假阳性图像的影响因素探讨[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(5): 397-398.

(收稿日期: 2010-08-11)

(上接第 388 页)

参考文献

- [1] 徐龙强, 隋静. EDTA-K₂ 致血小板计数假性减少[J]. 青岛大学医学院学报, 2006, 42(3): 206.
- [2] 赛启政, 喻华, 陈梅, 等. 一种多用途抗凝剂的研究及处步应用[J]. 西部医学, 2003, 1(2): 97.
- [3] Michele MD, Nereo M, Mareo N, et al. Advantages of a New Anticoagul-ant in Routine Hematology on the Coulter Counter S-Plus STKR Analyzer[J]. Am J Clin Pathol, 1990, 93: 760-774.
- [4] 许德英. 4 种抗凝剂对血液分析计数结果的影响[J]. 洛阳医专学报, 2001, 19(2): 119-120.
- [5] Johnston GI, Pickett EB, Mcever RP, et al. Heterogeneity of platelet secretion in response to thrombin deconstrat-

- ed by fluorescence flow cytometry[J]. Blood, 1987, 69: 1401-1403.
- [6] Reid TJ, Larusss VF, Esteban G, et al. Cooling and freezing damage plateletme mbrane integrity[J]. Cryobiology, 1999, 38: 209.
- [7] 刘景汉, 王青梅, 李锡金, 等. 低温保存血小板临床应用效应研究[J]. 解放军医学杂志, 2001, 26(3): 222-223.
- [8] 陈军浩, 王以立, 顾光煜, 等. 一种用于自动血细胞分析仪的新型抗凝剂[J]. 上海医学检验杂志, 1996, 11(4): 214.
- [9] 汪先春, 汪奇伟. 血细胞分析仪测定不同放置时间的全血样品分析[J]. 中原医刊, 1999, 26(9): 48.
- [10] 丛玉隆. 今日临床检验学[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1997.

(收稿日期: 2010-08-17)