Chulalongkorn Medical Journal

Volume 37
Issue 12 *December 1993*

Article 2

12-1-1993

Factors causing the spurious results for hemotological tests in automated blood cell analyzes

N. Charuruks

P. Krailadsiri

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal

Part of the Medicine and Health Sciences Commons

Recommended Citation

Charuruks, N. and Krailadsiri, P. (1993) "Factors causing the spurious results for hemotological tests in automated blood cell analyzes," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 37: Iss. 12, Article 2.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol37/iss12/2

This Special Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

บทความพิเศษ

ปัจจัยที่ทำให้เกิดความผิดพลาดของผลการตรวจทางโลหิตวิทยาโดยเครื่องมือวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ

นวพรรณ จารุรักษ์*
ปราณี ไกรลาศศิริ*

Charuruks N, Krailadsiri P. Factors Causing the Spurious Results for Hematological Tests in Automated Blood Cell Analyzers. Chula Med J 1993 Dec; 37(12) : 715-720

Nowadays advances in technology have resulted in increasing usage of automated blood cell analyzers in stead of old conventional manual method. However, physicians and technologists should be familiar with instrument principle to keep awarness of any incorrected results might happen from the instruments and so should the other factors that may cause the spurious results. This article lists and explains some of factors causing the spurious results in hope of recognition of these factors not only prevent reporting of incorrected results by alternate methods, but also provide efficiency care for the patients.

Key words : *Automated blood cell analyzer, Spurious results.*

Reprint request : Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.
Received for publication. October 10, 1993.

* Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

CBC (complete blood count) รวม differential leukocyte count เป็นการทดสอบทางห้องปฏิบัติการที่แพทย์สั่งตรวจบ่อยที่สุดประการหนึ่ง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่แพทย์รับไว้รักษาในโรงพยาบาล เกือบทุกรายที่แพทย์จะสั่งตรวจ CBC การตรวจ CBC โดยวิธีเดิม (manual method) อาศัยกำลังคนจำนวนมาก ใช้ระยะเวลาการตรวจนาน และผลที่ได้มีคลาดเคลื่อนและผิดพลาดได้ง่ายเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ในขั้นตอนการตรวจ เช่น ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคการทำ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอุปกรณ์[1] นอกจากนี้ยัง ปัจจัยที่ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนอีกประการหนึ่งซึ่งไม่สามารถกำจัดให้หมดไปได้ คือ Field error ที่เกิดขึ้นตาม Poisson's law of Distribution[2,3] ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีในปัจจุบัน ทำให้มีการพัฒนาวิธีการตรวจ CBC ทั้งในด้านการนับจำนวน (cell counting), การวัดขนาด (cell sizing) และการนับแยกประเภทของเม็ดเลือดขาว (differential leukocyte count) โดยการใช้เครื่องอัตโนมัติซึ่งสะดวกประหยัดแรงงานและเวลา ให้ผลถูกต้องและแม่นยำ[3-5] อย่างไรก็ตามในกรณีที่ตัวอย่างที่ตรวจมีความผิดปกติบางอย่าง เช่น abnormal protein ในเลือดซึ่งก่อให้เกิด rouleaux formation จะทำให้เกิดความผิดพลาดของการนับเม็ดเลือด หรือในกรณีมี abnormal cell เช่น plasma cell หรือ blast จะทำให้ผลการนับแยกประเภทของเม็ดเลือดขาวที่ได้จากเครื่องอัตโนมัติไม่ถูกต้อง ดังนั้นการดู blood smear ที่ถูกวิธีโดยผู้ชำนาญซึ่งยังคงเป็นมาตรฐานในการแสดงถึงความผิดปกติของลักษณะของเซลล์ (cell morphology) และในการวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยาบางโรค[1,3] บทความนี้ได้รวบรวมปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์โดยเครื่องอัตโนมัติผิดพลาด และวิธีการแก้ไขโดยมุ่งหวังว่าจะช่วยให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากเครื่องอัตโนมัติ จะมีประสิทธิภาพต่อแพทย์ และเกิดผลดีต่อผู้ป่วยยิ่งขึ้น

Autoagglutination เป็นผลให้เซลล์เม็ดเลือดที่เกาะกันถูกเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัตินับรวมเป็นเซลล์เม็ดเลือดเซลล์เดียวทำให้ค่า RBC ลดลง และค่า MCV สูงขึ้น[6] เซลล์เม็ดเลือดที่เกาะกันดังกล่าวนี้ มีปริมาตรรวมน้อยกว่าเซลล์เม็ดเลือดแต่ละเม็ดรวมกันเล็กน้อยเป็นผลให้ค่า Hct ลดลง และค่า MCHC สูงขึ้น[6] แก้ไขโดยการอุ่นตัวอย่างเลือดที่จะตรวจนี้ และ diluent ที่ 37°C และค่า Hct ควรจะใช้ค่าที่ได้จากการปั่น

Carboxyhemoglobin เนื่องจาก carboxyhemoglobin ถูกเปลี่ยนเป็น cyamethemoglobin ช้ากว่า oxyhemoglobin ทำให้ค่า Hb ลดลง[7,8] อาจแก้ไขโดยการทำ manual method ด้วยการใช้ $K_3Fe(CN)_6$ ที่เข้มข้นกว่าปกติ 5 เท่า ซึ่งสามารถลดเวลาเปลี่ยนเป็น cyamethemoglobin ลงเหลือ 15 นาที[7,8]

Clotting มีผลต่อจำนวนนับของเซลล์ทุกชนิด ทำให้ค่า RBC, WBC และ platelet ลดลงรวมทั้งค่า Hb ด้วย ควรเจาะเลือดตรวจใหม่[1,3,5]

Cryoglobulin และ Cryofibrinogen พบได้ในผู้ป่วยบางโรค เช่น myeloma มีคุณสมบัติจับตัวกันเป็นตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีผลทำให้ค่า WBC สูงขึ้น และอาจมีผลให้ RBC, Hb, Hct และ platelet สูงขึ้นเล็กน้อยทำให้ค่า MCV ต่ำลงเล็กน้อย ในการตรวจ blood smear อาจจะพบ amorphous material แก้ไขโดยการอุ่นตัวอย่าง เลือดที่จะตรวจที่อุณหภูมิ 37°C หรือโดยใช้วิธี manual[9-13]

Giant Platelets เนื่องจาก giant platelets มีขนาดใหญ่ใกล้เคียงกับเม็ดเลือดแดงฉะนั้นจะถูกนับเม็ดเลือดแดง ทำให้ค่า RBC และ Hct สูงขึ้น, ส่วนค่า MCV จะมีค่า Vary, สำหรับ platelet, MCH และ MCHC จะลดลง[5] ควรจะใช้วิธี manual ในการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดดังกล่าว[5]

Hemolysis (in vitro) เนื่องจากเป็นการแตกของเม็ดเลือดแดงที่เกิดขึ้นหลังจากการเก็บตัวอย่างเลือด ฉะนั้นเศษของเม็ดเลือดแดงจะถูกนับเป็นเกล็ดเลือด[14] ควรจะเจาะเลือดตรวจใหม่[14]

Hemolysis (in vivo) เนื่องจากเป็นการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงในร่างกาย ค่า RBC และ Hct ถือว่าถูกต้อง ส่วนค่า Hb ที่วัดได้จะเป็นค่ารวมของ Hb ในเม็ดเลือดแดงและน้ำเลือด[15] แต่ก็อาจจะมีเศษของเม็ดเลือดแดงที่จะถูกนับเป็นเกล็ดเลือดได้อาจมีผลให้ platelet สูงขึ้น[14,15]

Heparin เนื่องจาก heparin ทำให้เกล็ดเลือดเกาะกัน ทำให้ค่า WBC สูงขึ้น และ platelet ลดลง และทำปฏิกิริยากับ lysing reagents ทำให้ค่า Hb สูงขึ้น[3,16,17] ควรใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง[18,19] ส่วนในผู้ป่วยที่ได้รับ heparin ใน therapeutic level นั้น พบว่าไม่มีผลกับเลือดที่นำมาตรวจวิเคราะห์[5]

High White Cell Count ตัวอย่างเลือดที่มีค่า WBC>50,000/ul มีผลทำให้ค่า Hb สูงขึ้นเนื่องความขุ่น[3,17] และบางส่วนจะถูกนับเป็นเม็ดเลือดแดง ทำให้ค่า RBC สูงขึ้น และมีค่า MCV สูงขึ้น เป็นผลให้ Hct สูงขึ้นด้วย[3,20]

Table 1. Potential Causes of Erroneous Results with Automated Cell Counters[5]

Parameter	Causes of Spurious Increase	Causes of Purious Decrease
WBC	Cryoglobulin, cryofibrinogen	Clotting
	Heparin	Smudge cells
	Monoclonal proteins	Uremia plus
	Nucleated red cells	Immunosuppressants
	Platelet clumping	
	Unlysed red cells	
RBC	Cryoglobulin, cryofibrinogen	Autoagglutination
	Giant platelets	Clotting
	High WBC (>50,000/µl)	Hemolysis (in vitro)
		Microcytic red cells
Hb	Carboxyhemoglobin (>10%)	Clotting
	Cryoglobulin, cryofibrinogen	Sulfhemoglobin(?)
	Hemolysis (in vivo)	
	Heparin	
	High WBC (>50,000/µl)	
	Hyperbilirubinemia	
	Lipemia	
	Monoclonal proteins	
Hct	Cryoglobulin, cryofibrinogen	Autoagglutination
	(Automated) Giant platelets	Clotting
	High WBC (>50,000/µl)	Hemolysis (in vitro)
	Hyperglycemia (>600 mg/dl)	Microcytic red cells
MCV	Autoagglutination	Cryoglobulin,
	High WBC (>50,000/µl)	cryofibrinogen
	Hyperglycemia	Ciant platelets
	Reduced red cell deformability	Hemolysis (in vitro)
		Microcytic red cells
		Swollen red cells
MCH	High WBC (>50,000/µl)	Spuriously low Hb
	Spuriously high Hb	Spuriously high RBC
	Spuriously low RBC	
MCHC	Autoagglutionation	High WBC (50,000/ul)
	Clotting	Spuriously low Hb
	Hemolysis (in vitro)	Spuriously high Hct
	Hemolysis (in vivo)	
	Spuriously high Hb	
	Spuriously low Hct	
Platelets	Cryoglobulin, cryofibrinogen	Clotting
	Hemolysis (in vitro nad in vivo)	Giant platelets
	Microcytic red cells	Heparin
	Red cell inclusions	Platelet clumping
	White cell fragments	platelet satellitosis

WBC = whit blood cell count
RBC = red blood cell count
Hb = Hemoglobin
Hct = Hematocrit
MCV = mean corpuscular volume
MCH = mean corpuscular hemoglobin
MCHC = mean corpuscular hemoglobin concentration

แก้ไขโดยการปั่นแยกเม็ดเลือดขาวออกทำให้ค่าHbถูกต้องขึ้น และแก้ไขค่า RBC โดยการหักด้วยค่า WBC, ส่วนค่า Hct ควรจะใช้วิธีปั่น[5]

Hyperbilirubinemia การรบกวนของ bilirubin ทำให้ค่า absorbance ในการหาค่า cyamethemoglobin สูงขึ้น เป็นผลให้ Hb สูงกว่าที่ควรจะเป็น[5] ควรแก้ไขโดยใช้สูตร[5]

Corrected Hb = whole blood Hb - (1-Hct) X plasma Hb

Hyperglycemia ค่าน้ำตาลในเลือดที่สูงกว่า 600 mg/dl ทำให้ส่วนที่เป็นน้ำในน้ำเลือดไหลเข้าไปในเซลล์เม็ดเลือดแดง ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงบวมโต[22,23] ทำให้ค่า MCV และ Hct สูงขึ้น แก้ไขโดยการทำการเจือจางตัวอย่างเลือดที่จะตรวจเพื่อเจือจางปริมาณน้ำตาลลงแล้วทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้ส่วนที่เป็นน้ำที่ไหลเข้าไปในเซลล์เม็ดเลือดแดงไหลกลับออกมาแล้ว จึงทำการตรวจวิเคราะห์[22] ส่วนค่า Hct ควรจะใช้วิธีปั่น

Lipemia ทำให้ค่า Hb สูงขึ้นเนื่องจากความขุ่นของน้ำเลือด[24,25] ควรแก้ไขโดยการเจือจากตัวอย่างเลือดด้วย normal saline หรือ resuspend ใน normal saline หรือโดยสูตร[5]

Corrected Hb = whole blood Hb - (1-Hct) x plasma Hb

Microcytic Red Cells เนื่องจากเม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กจึงถูกนับรวมเป็นเกล็ดเลือดทำให้ค่าRBCต่ำลง[16,26] ส่วนค่า MCV และ platelet สูงขึ้น และค่า Hct ต่ำลง ควรตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดโดยวิธี manual[5]

Nucleated Red Cells เนื่องจาก n RBC จะถูกนับเป็น WBC จะทำให้ค่า WBC สูงขึ้นแก้ไขโดยสูตร[3]

$$\text{True WBC} = \frac{\text{instrument count} \times 100}{100 + \text{n RBC}}$$

n RBC = the number of nucleated red cells are seen in the slide differential per 100 leukocytes.

Red Cell Inclusions เซลล์เม็ดเลือดแดงพวกนี้มักจะแตกและถูกนับรวมเป็นเกล็ดเลือดทำให้ค่า platelet สูงขึ้น[27-29] แก้ไขโดยการใช้วิธี manual[27-29]

Red Cell Deformability (eg. sickle cells, spherocytes) เซลล์เม็ดเลือดแดงพวกนี้มีความยืดหยุ่นในการผ่านช่องแคบได้น้อยกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติทำให้ค่า MCV[30] สูงขึ้น แก้ไขโดยการใช้วิธี manual[2,3]

Smudge Cells เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวพวกนี้มักจะแตกง่าย ทำให้ค่า WBC ลดลง[31,32] แก้ไขโดยการใช้วิธี manual[2,3]

สรุป

ถึงแม้ว่าเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติมีความถูกต้องแม่นยำสูงและได้รับการพัฒนาจนมีความสะดวกและรวดเร็ว แต่ยังคงมีข้อจำกัดในการบ่งชี้ถึงความผิดปกติของตัวอย่างเลือดที่ตรวจ และมีปัจจัยอื่น ๆ ในเลือดอีกหลายอย่างตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น เพื่อให้ผลการตรวจมีความถูกต้องและแสดงความผิดปกติของตัวอย่างเลือดที่ทำการตรวจอย่างมีประสิทธิภาพ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องอาศัยสัญลักษณะต่าง ๆ ที่แสดงในใบรายงานผลร่วมด้วย เพื่อช่วยเป็นตัวบ่งชี้ว่าต้องอย่างใดควรต้องทำการตรวจด้วยวิธีเดิมซึ่งยังมีความจำเป็นอยู่ เช่นการตรวจ blood smear ด้วยกล้องจุลทรรศน์, การทำ microhematocrit เป็นต้น เพื่อตรวจสอบความถูกต้องและความผิดปกติที่พบ[33,34,35] เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากเครื่องมืออัตโนมัติที่ใช้ตรวจได้เต็มที่อย่างมีประสิทธิภาพและถูกต้อง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด และบริษัท เมดิทอป จำกัด ในความอนุเคราะห์ข้อมูลต่าง ๆ และขอขอบคุณ คุณรภีวรรณ วิมลสูตร์ ที่ช่วยพิมพ์บทความให้เป็นอย่างดี

อ้างอิง

1. Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR. Principles of hematologic examination. In:Wintrobe MM, ed. Clinical Hematology. Philadelphia : Lea & Febiger, 1981, : 7-32
2. เติมศรี ชำนิจารกิจ. สถิติประยุกต์ทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ ฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2525 : 118.
3. Nelson Da, Morris MW. Basic examination of blood. In : Henry JB,ed. Clinical Diagnosis &Management by Laboratory Methods. Philadelphia : WB Saunders. 1991 : 553-603

4. Krailadsiri P. Automated blood cell analyzer. Chula Med J 1992 Jul; 36(7) : 489-97
5. Cornbleet J. Spurious results from automated hematology cell counters. Lab Med 1983 Aug; 14(8) : 509-14
6. Bessman JD, Banks D. Spurious macrocytosis, a common clue to erythrocyte cold agglutinins. Am J Clin Pathol 1980 Dec; 74(6) : 797-800
7. Taylor JD, Miller JDM. A source of error in the cyanmethemoglobin method of determination of hemoglobin concentration in blood containing carbon monoxide. Am J Clin Pathol 1965 Mar; 43(3) : 265-71
8. Behrens JA, Brown WP, Gibson DF, Detter JC. Whole-blood hemoglobin determinations. A comparison of methodologies. Am J Clin Pathol 1979 Dec; 72(6) : 904-8
9. Emori HW, Bluestone R, Goldberg IS. Pseudoleukocytosis associated with cryoglobulinemia. Am J Clin Pathol 1973 Aug; 60(2) : 202-4
10. Gulliani GL,Hyun BH, Gabaldon H. Falsely elevated automated leukocyte count on cryoglobulinemic and/or cryofibrinogenic blood samples. Lab Med 1977; 8(1) : 14-16
11. Black C. Cryoglobulinemia studeied using S-Plus II. Coulter Currents Casebook. 1982; 1: 608
12. Chang YW. Peculiar protein droplets. Lab Med 1980; 11: 100-1
13. Taft EG, Grossman J, Abraham GN, Leddy JP, Lichtman MA. Pseudoleukocytosis due to cryoprotein crystals. Am J clin Pathol 1973 Nov; 60(5) : 669-71
14. Weisbrot IM, Hollenberg LM. Platelet counting methods. Lab Med 1980; 11 : 307-12
15. Zucker-Franklin D, Karpatkin S. Red-cell and platelet fragmentationin idiopathic autoimmune thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 1977 Sep 8; 297(10) : 517-23
16. Gagon TE, Athens JW, Boggs DR, Cartwright GE. An evaluationof the variance of leukocyte counts as performed with the hemocytometer,Coulter and Fisher instruments. Am J Clin Pathol 1966 Dec; 46(6) : 684-91
17. Kjeldsberg CR, Hershgold EJ. Spurious thrombocytopenia. JAMA 1974 Feb 11; 227(6) : 628-30
18. Brittin GM, Brecher G, Johnson CA. Elimination of error in hematocrit produced by excessive EDTA : experience with the Coulter Counter Model S. Am J Clin Pathol 1969 Dec; 52(6) : 780-3
19. Lampasso JA. Error in hematocrit value produced by excessive ethylenediamine tetraacetate. Am J Clin Pathol 1965 Jul; 44(1) : 109-10
20. Brittin GM, Brecher G, Johnson CA. Evaluation of Coulter Counter Model S. Am J Clin Pathol 1969 Dec; 52(6) : 679-89
21. Drewinko B, Bollinger P, Rountree M, Johnston D, Corrigan G, Dalton WT,Trujillo JM. Eight parameter automated hematology analyzers : comparison of two flow cytometric systems. Am J Pathol 1982 Nov; 78(5) : 733-47
22. Holt JT, DeWandler MJ. Arvan DA. Spurious elevation of the electronically determined mean corpuscular volume and hematocrit caused by hyperglycemia. Am J Clin Pathol 1982 May; 77(5) : 561-7
23. Strauchen JA, Alston W, Anderson J, Gustafson Z, Fajardo LF. Inaccuracy in automated measurement of hematocrit and corpuscular indices in the presence of severe hyperglycemia. Blood 1981 Jun; 57(6) : 1065-7
24. Gagne C, Auger PL, Moorjani S, Brun D, Lupien PJ. Effect of hyperchylomicronemia on the measurement of hemoglobin. Am J Clin Pathol 1977 Nov; 68(5) : 584-6
25. Nosanchuk JS, Roark MF, Wanser C. Anemia masked by triglyceridemia. Am J Clin Pathol 1974 Dec; 62(6) : 838-9
26. Akwari AM, Ross DW, Stass SA. Spuriously elevated platelet counts due to microspherocytosis. Am J Clin Pathol 1982 Feb; 77(2) : 220-1
27. Greipp PR, Gralnick HR. Platelet to leukocyte adherence phenomenon associated with thrombocytopenia. Blood 1976 Mar; 47(3) : 513-21
28. Morton BD, Orringer EP, LaHart LA, Stass SA. Pappenheimer bodies. Additional cause for a spurious platelet counts. Am J Clin Pathol 1980 Sep; 74(3) : 310-1
29. Rowan RM, Allan W, Prescott RJ. Evaluation of an automatic platelet counting system utilizing whole blood. J Clin Pathol 1972 Feb; 25(2) : 218-26
30. Mel HC. Erythrocyte size and deformability studies by resistive pulse spectroscopy. Blood Cells 1975; 1: 397-9
31. Nosanchuk JS. The effect of smudge cells on leukocyte counting : arechamber counts necessary. Am J Clin Pathol 1979 Feb; 71(2) : 161-6
32. International Committee for Standardization of Haematology : Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood(ICHS standard EP6/2 : 1977) and specifications for international haemiglobincyanide reference preparation (ICHS standard EP6/3 : 1977). J Clin Pathol 1978 Feb; 31(2) : 139-43
33. Cox CJ, Habermann TM, Payne BA, Klee GG, Pierre RV. Evaluation of the Coulter Counter model S-Plus IV. Am J Clin Pathol 1985 Sep; 84(3) : 297-306
34. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). The white cells differential I : a symposium. Blood Cells 1985; 11: 1-159

35. Pierre RV, Payne BA, Lee WK, Hyma BA, Melchert LM, Scheidt RM. Comparision of four leukocyte differential methods with the National Comittee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) reference method. Am J Clin Pathol 1987 Feb; 87(2) : 201-9