

K-4500 血球计数仪原理及直方图分析

李茂全¹, 张学锋², 侯远文¹

(1. 南充中心医院检验科, 四川 南充 637000; 2. 川北医学院卫生学教研室, 四川 南充 637007)

文章编号: 1005-3697(2002)02-0081-03 中图分类号: R446.11+3 文献标识码: E

随着科学技术的不断进步, 血球计数仪在国内 外都得到了迅速发展, 但其原理终归为两大类, 即激光散射原理和电阻脉冲原理。

1 流体动力学和激光散射原理

让一定容量的待测血样和试剂稀释混合后, 在负压的作用下流过一透明测量室。血细胞在透明测量室形成单通, 在通过激光束的照射下, 产生细胞散射, 散射光的强度与细胞的大小成一定的比例。根据散射光的角度大小得到细胞内外形态信息, 角度在 1-6° 时为细胞外形信息, 角度在 8-20° 时为细胞核信息。光电管接到这些信息后, 并把它转化成电脉冲, 再传输到中央处理单元来识别这些电信号, 来获得反映细胞大小和核密度的二维图像, 从而计算出各类细胞的数量。

2 电阻脉冲原理(库尔特原理)

根据稀释液和血细胞的电阻和导电有很大差异, 由一定量的血液和稀释液混合后通过负压, 血细胞成单个通过换能器上的小孔时, 两电极之间的电阻值增加, 引起两电极之间的电压值变化, 电压值的变化与电阻值的变化成正比。其数学表达式为欧姆定律 $E = IR$, E : 电压、 I : 电流、 R : 电阻。因为 I 是恒定不变的, 用 IK 表示等式, 等式变为 $E = IKR$, 细胞通过小孔时导致 R 增加, 引起 E 的变化, R 和细胞体积成正比, E 和 R 成正比, 将这些微小的电压变化所产生的脉冲通过放大波形化, 送到补偿电路、检测和比较电路, 再通过微处理器中心进行处理和计算出各类细胞的数量。K-4500 就是根据这一原理设计的。

3 K-4500 部分指标测定原理及值的计算

3.1 Hgb(血红蛋白)的测定原理

Hgb 测定采用国际通用的氰化高铁血红蛋白比色法。用溶血素将 RBC 膜破坏, 使血红蛋白释放出来, 氧化成正铁血蛋白, 然后和氰化物结合形成一个稳定的氰化高铁血红蛋白, 在 540nm 波长下测定

其吸光值, 与设定的标准进行比较而得出血红蛋白浓度。

3.2 HCT(血细胞压积)值的计算

它是 RBC 经过微孔计数时所产生的脉冲信号高度的叠加, 由下列公式计算而得。

$$HCT = V_{\text{细胞}} / V_{\text{全血}} \times 100\%$$

把一个 RBC 的脉冲高度视为 $(R_h) = KV_{RBCi}$

单个 RBC 体积为 $V_{RBCi} = 1/K \times (P_h)$

全血样本 n 个 RBC 体积 $V_n = \sum V_{RBCi} = 1/K \sum (P_h)$

所以: $HCT = 1/K \sum (P_h) / V_{\text{全血}} \times 100\%$

3.3 MCV(平均红细胞体积)值的计算

$$MCV = HCT / RBC / L$$

3.4 MCH(平均红细胞血红蛋白)值的计算

$$MCH = Hgb(g/L) / RBC / L$$

3.5 MCHC(平均血红蛋白的浓度)值的计算

$$MCHC = Hgb(g/L) / HCT \times 100\%$$

4 血细胞分布图特征标志分析

4.1 WBC 分布图及特征标志分析

4.1.1 WBC 分类分布图分析

WBC 的分布大小根据四个鉴别值在设定范围 30-300 fL 之间的各个峡谷划线(附图 1)。低位鉴别值(LD)在 30-60fL 之间, 高位鉴别值(UD)固定在 300 fL, T1、T2 为峡谷鉴别值。位于 LD 和 T1 之间为小细胞, 此细胞的百分比和正常人血液中的淋巴细胞百分比高度相关。位于 T1 和 T2 两峡谷之间细胞的百分比与正常人血液中的嗜酸性细胞、嗜碱性细胞和单核细胞百分比密切相关。位于 T2 和 UD 两峡谷之间的细胞数百分比与正常人血液中的中性粒细胞百分比高度相关。则它们相应的细胞数表示为: 各自相应的细胞百分数 $\times 10^9/L$ 。

4.1.2 WBC 分布图特征标志分析

WBC 分布图明显的分成三类细胞, LD 和 UD 之间有明确的 T1、T2 值, 说明 WBC 分布图正常, 报告打印无特征标志。

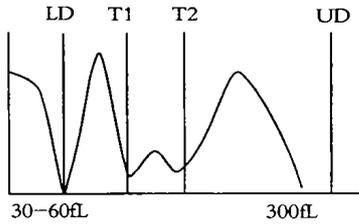


图1 WBC分布直方图

如果 T1、T2 值不确定或 LD、UD 值的计数异常高,报告将会打印出一个主要的标志。

WL 标志:LD 值的相对高度超过预置值(附图 2)。提示细胞体积小(血小板聚集或巨凝细胞数量增加等因素所致)。报告将打印出 WL 字样。



图2

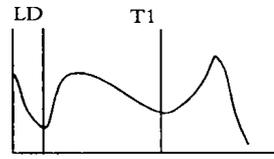


图3

F1 标志:峡谷偏离设置范围(附图 3)。是小细胞和大细胞之间不准确所致)。报告将打印出 F1 或 F2 字样。

T1、T2 标志:未找到峡值(附图 4)。报告将打印出 T1 或 T2 字样。

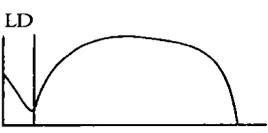


图4

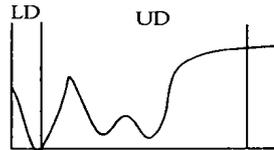


图5

WU 标志:UD 相对高度超过预置的值(附图 5)提示溶血不充分或出现异常细胞。报告将打印出 WU 字样。

4.2 RBC 分布图及特征标志分析

4.2.1 RBC 分布图分析

RBC 大小分布由两个鉴别值来分析(附图 6)。LD 自动设置在 25—75fL 之间,UD 自动设置在 200—250fL 之间,通过监测 LD 和 UD 的相对高度来确定 RBC 分布图正常否。

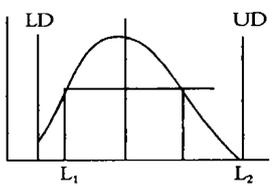


图6

4.2.2 RDW - CV(红细胞分布宽度变异系数)和

RDW - SD(红细胞分布标准差)

RDW - CV 和 RDW - SD 是表示一组数据离散情况的两种方法,它们均表示一组数据和均值的差异情况,SD 是绝对值,CV 是相对值,CV 是 SD 相对于测定数值大小的相对值,其计算方法为:根据高斯分布原理,(附图 6)取 RBC 分布图的峰所对应的值为细胞的平均容积 μ ,峰值对应高度为 100%,取 60.5%处作一直线,与分布图相切两点所对应的细胞容积。作标准差,其公式为:

$$RDW - CV: 100 \times \alpha \delta / \mu$$

$$\mu = (L1 + L2) / 2, \quad \delta = (L2 - L1) / 2$$

RDW - SD: 表示红细胞分布大小的差异,其算术分布宽度按 fL 计算,峰值对应处均值为 100%,取其 20% 分布的细胞容积相对值表示 SD。

4.2.3 RBC 分布图特征标志分析

如果 RBC 分布图出现异常,报告将会打印出一个主要的标志。

RL 标志:LD 值的相对高度超过预置值(附图 7)。提示细胞体积小或干扰所致(血小板聚集或 RBC 脆裂巨凝等因素)。报告将打印出 RL 字样。



图7

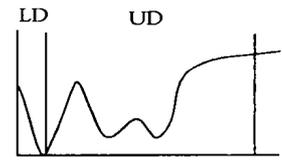


图8

RU 标志:UD 相对高度超过预置的值(附图 8)多数情况是由于干扰所致。报告将打印出 WU 字样。

MP 标志:发现多峰(附图 9);是出现两类或多类 RBC 所致。报告将打印出 MP 字样。

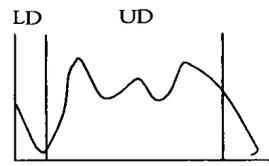


图9

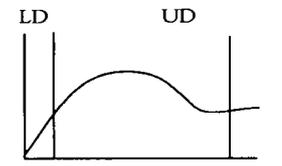


图10

DW 标志:分布宽度分析无效。RBC 分布图未能两次通过其 20% 的相对高度。(附图 10)

4.3 PLT 分布图及特征标志分析

4.3.1 PLT 分布图分析

PLT 大小分布的分析经两个鉴别值来实现。直方图与 RBC 直方图相同。它的 LD 自动设置在 2—6fL 之间, UD 自动设置在 13—30fL 之间。曲线通过 LD 和 UD 的相对高度、以曲线峰值 20% 的相对高度的算术分布宽度和存在两个或多个峰等指标来监测 PLT 分布异常。

4.3.2 PLT 分布图特征标志分析

PL 标志: LD 值的相对高度超过预置值(附图 11)。提示血小板体积小或干扰所致(血小板聚集或 RBC 脆裂、巨凝等因素)。报告将打印出 PL 字样。

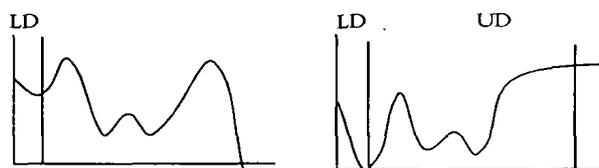


图 11

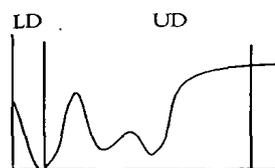


图 12

PU 标志: UD 相对高度超过预置的值(附图 12)多数情况是由于干扰所致。报告打印出 PU 字样。

MP 标志: 发现多峰(附图 13); 是出现两类或多类 PLT 所致, 报告将打印出 MP 字样。

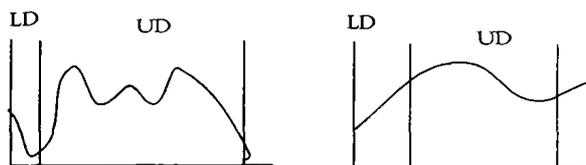


图 13

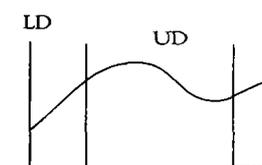


图 14

DW 标志: 分布宽度分析无效。PLT 分布图未能两次通过其 20% 的相对高度。(附图 14)

5 讨论

WBC 分类, 是在正常人群中才密切相关, 但在病理情况下和极个别正常人中会出现不相关。特别是来医院就诊者, 非正常人群增多, 不相关的因素也会增大。并且, “嗜酸性粒细胞不仅分布于中间细胞和粒细胞区域, 与淋巴细胞也有交差^[1]。”白细胞直方图中间细胞增高并非嗜酸性粒细胞、单核细胞增多, 很多异常细胞也出现在此区域。因此, 仪器的分

类只能作为参考, 必须要和人工分类结合起来。尤其是在曲线分布图形不规则的情况下, 更应进行人工分类, 对照后出报告。

RBC 计数时, 红细胞的数量应与 Hgb 的浓度以及红细胞的曲线分布图进行对照。如有异常, 都要用人工计数对照后出报告。因为患者血液中若有小红细胞或大红细胞、大血小板或血小板凝集等现象出现, 都会影响红细胞的数量。

PLT 计数时, 如果患者血液中有大 PLT 和小 PLT 或红细胞破碎现象, 都会影响 PLT 的数量。Hansel 认为在 PLT 很低时, 仪器法 CV 较手工法高, 因此手工法较为准确^[2]。因此, 仪器计数出的 PLT 数量应与它的曲线分布图进行比较分析, 若 PLT 过高、过低或曲线分布图有异常, 都应人工计数后出报告。

综上所述, 血液计数仪的使用与血涂片镜检是两个各具特有功能的检测手段。血液计数仪的引进, 促进了血液学检验技术的发展。但周围血涂片镜检有其特殊的应用价值, 是血液计数仪所不能替代的。特别是“三分类以下的中低档仪器是以加入特殊溶血剂后各类白细胞体积大小不同作为分类依据的, 还不能准确地区分嗜酸、嗜碱粒细胞和单核细胞, 因此当白细胞分类出现异常结果、红细胞、血小板直方图或散点图出现异常图形, 以及仪器上显示任何警示信号时, 均应显微镜复检染色的血涂片或镜下白细胞分类^[3]。”所以, 只能把血液计数仪的使用与血涂片镜检这两个各具特有功能的检测手段相互结合起来, 才能使血液学检验技术更加完善。

参考文献:

- [1] 陈军浩, 顾可梁. 白细胞直方图观察嗜酸性粒细胞增多的探讨[J]. 临床检验杂志, 1997, 15(5): 305.
- [2] Hansel E, Fehr J, Keller H. Estimation of the lower limits of manual and automated platelet counting. Am J Clin Pathol, 1996, 105: 782.
- [3] 叶应妩. 中华医学检验学会临床血液与尿液分析专题研讨会纪要. 中华医学检验杂志, 1996, 19(2): 122.

(收稿日期: 2002-03-14)