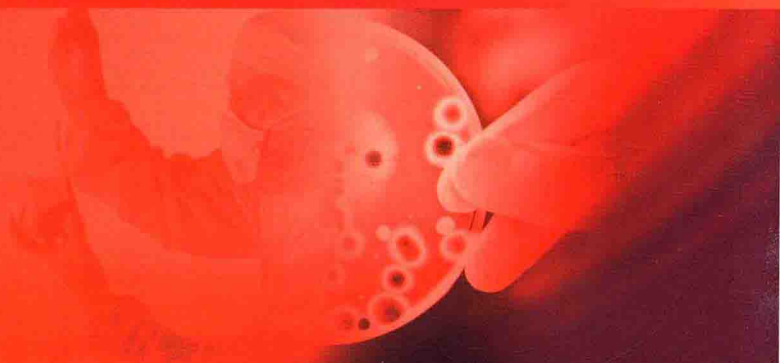
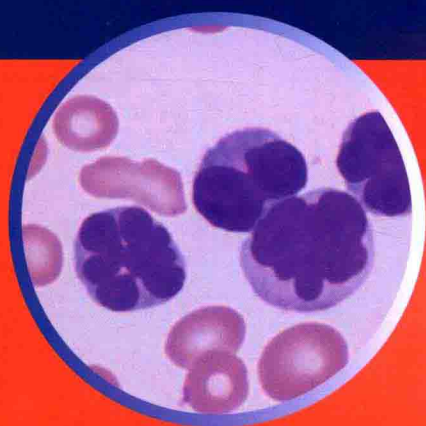


临床血细胞检验学 进展与应用

主 编 丛玉隆 李 莉 李绵洋



科学出版社

临床血细胞检验学 进展与应用

主 编 丛玉隆 李 莉 李绵洋

副主编 蒋显勇 蔡力力

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 炜	平牧野	田奎朋	丛玉隆	任军伟
关 杰	李 莉	李绵洋	吴 标	周 玉
凌 励	龚美亮	蒋显勇	傅学恺	蔡力力

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书紧密结合临床检验自动化、信息化、智能化的发展,为满足临床检验工作中细胞形态学鉴别诊断的需求而编写。全书共分7章,分别阐述血细胞分析仪的发展历史及分析技术原理、血细胞分析全面质量管理、红细胞形态学变化及临床意义、白细胞数量及形态学变化的临床意义、常见造血与淋巴组织肿瘤外周血细胞形态学检验、血小板形态学变化及临床意义、寄生虫或其他病原体引起的血细胞形态变化。本书系统实用,理论新、技术新,结合临床紧密,附有临床病例和血细胞形态图及仪器三维立体图。

本书可供医院检验医师及技术人员参考阅读。

图书在版编目(CIP)数据

临床血细胞检验学进展与应用 / 丛玉隆, 李莉, 李绵洋主编. — 北京: 科学出版社, 2018.6

ISBN 978-7-03-058091-7

I. ①临… II. ①丛… ②李… ③李… III. ①血细胞—血液检查—研究 IV. ①R446.11

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第134239号

责任编辑: 马 莉 / 责任校对: 何艳萍

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 龙 岩

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京画中画印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018年6月第一版 开本: 787×1092 1/16

2018年6月第一次印刷 印张: 16

字数: 350 000

定价: 128.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

主编简介



丛玉隆 主任医师、教授、博士研究生导师，全军检验医学质量控制中心主任。解放军总医院专家组成员，中央保健委员会会诊专家。

在医疗、科研、教学、保健等方面都取得了突出的成绩，受到国内外业界的肯定和认可，曾获北京医科大学和解放军总后勤部优秀教师、中华国际医学教育奖、中央保健委员会的先进个人奖。中国医师奖，中华医学科技二、三等奖，解放军科技、医疗、教学二、三等奖，北京市及省级科技成果一、二等奖等共 17 项。荣获个人三等功三次。

曾先后历任中华医学会理事，检验分会第五、六届主任委员；中国医师协会检验医师分会第一、二届会长；《中华医学检验杂志》第四、五届编委会总编辑；解放军检验医学专业委员会第七、八届主任委员，解放军医学计量委员会标准物质委员会第一届主任委员，全国医学实验室及体外诊断系统标准化委员会第三、四、五届主任委员。中国认证认可委员会医学分会技术委员会第一、二届主任委员。中国医学装备协会临床检验专业技术委员会主任委员；中国老年医学学会检验分会主任委员。中国老年保健医学研究会检验分会主任委员。

发表论文 200 余篇，主编《实用血液分析技术与临床》《医学实验室管理学》《疑难病血细胞形态学诊断》《检验医学高级教程》《实用检验医学》等专业书籍。组织全国 300 余位实验室诊断学专家、体外诊断企业研发及科研院所高级技术人员、临床诊治医师编写的《临床检验装备大全》2017 年获国家新闻出版总署重点图书。

前言

本书撰写的主导思想是为形态学临床检验、教学、科研、研发人员介绍近几年形态学检验技术的自动化、信息化、智能化进展,检验程序的国际化、标准化、规范化管理和技术人员在检验工作中可能遇到的血液或各类细胞形态学特点,鉴别诊断要点,释义引起病理细胞形态学变化的病理、生理机制。从理论和形态学检验经验上提高从事检验工作者的识别能力和诊断水平,旨在使广大的细胞学工作者了解现代化检验技术的先进性和局限性,正确、准确使用先进设备,提高医疗水平;根据临床需求使用适宜装备、适宜技术和合理的项目组合。

从20世纪50年代初,美国W. H. Coulter申请了粒子计数法的技术专利,在世界上研发了第一台电子血细胞计数仪至今,血细胞分析仪发展快、精确度高、应用广。近5年来,随着第4次工业革命时代的到来,检验医学面临着良好的发展机遇和挑战,互联网、智能化、无害化、低能消耗、机器人等技术逐步应用于血细胞分析装备,成为血细胞分析仪研发和生产新的里程碑,数字视觉识别技术、人工智能、专家诊断系统、互联网+等新思维、新模式不断地被引入血细胞分析仪的研发,“技术新、功能多、易操作、速度快、TAT短、标准化、信息化、兼容免疫生化技术”是现代血细胞分析仪发展的主要趋势,将为临床不同的需求提供更有有效的血液细胞学检测参数,对疾病诊断与治疗有着重要的临床价值。本书阐述了国内外实验室使用的主流产品的仪器进展和各自的特色技术,旨在使年轻一代的检验工作者了解近60年血细胞分析仪的发展进程和技术内涵,同时了解我国血细胞分析仪及试剂行业标准与技术要求。

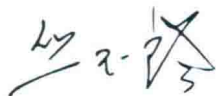
技术是发展的基础,结合是发展的方向,管理是发展的保障。全面质量管理中,要求实验室分别对分析前、分析中、分析后3个环节进行质量控制,质量是科室的生命、是学科建设永恒的主题。血细胞分析全面质量管理内容编写的目的是使广大的检验医学工作者及相关技术和管理人员了解临床实验室管理理念、模式和方法,提升管理理念、提高管理能力和水平,给临床发出高质量的检验报告。

形态学是实验血液学技术之母,细胞形态学变化(质的变化)有重要意义,是许多疾病诊断处理的起点,迄今还没有一类设备完全代替人工镜检进行形态学检查。必须要强化形态学重要性的认识,深刻认识培训形态学技能的迫切性,提高形

态学诊断水平。倡导重实践、重技能、重理论的形态学工匠精神。书中外周血细胞形态学部分是根据 2015 年 ICSH 对外周血细胞形态特征命名和分级标准化的建议指南进行编写，同时介绍 2016 年 WHO 造血和淋巴组织肿瘤分类的更新内容及诊断标准等内容。形态学是一门经验学科，因此，编写人员总结临床工作经验，配有简要文字说明及典型的细胞彩色图片，结合案例分析，以达到精练、通俗、大众化、科普性强、拓展思路的目的。为了使基层工作者能方便阅读本书，编者对内容做了精心设计，使重点突出，通俗易懂。

感谢广大检验医学界的前辈、专家、同道们，在本书的编写过程中提供了大量的信息和资料素材并提出宝贵的编写意见；同时也诚挚感谢本书编写人员。书中若存在不足之处请同道们不吝赐教，批评指正。

解放军总医院教授



2018 年 6 月

目 录

第 1 章 绪 论	1
第一节 血细胞分析仪发展历史与展望	1
第二节 血细胞分析仪分析技术原理	4
一、电阻抗法血细胞检测原理	4
二、流式法血细胞检测原理	8
三、血液分析流水线	11
四、血细胞分析技术进展	14
五、血细胞分析仪测量参数	32
六、血细胞分析仪的方法学评价	38
第三节 我国血细胞分析仪及试剂行业标准与技术要求	38
一、血细胞分析仪行业标准技术要求（摘自 YY/T 0653-2008）	38
二、稀释液行业标准（摘自 YY/T 0456.3-2003）	40
三、溶血剂行业标准（摘自 YY/T 0456.2-2003）	41
四、血细胞分析仪清洗液行业标准要求（摘自 YY/T 0456.1-2003）	42
五、校准物行业标准（摘自 YY/T 0701-2008）	42
六、质控物（品）行业标准（摘自 YY/T 0702-2008）	43
第 2 章 血细胞分析全面质量管理	45
第一节 分析前质量管理	45
一、实验室外分析前质量管理	47
二、实验室内分析前质量管理	57
第二节 分析中质量管理及实施程序	57
一、技术人员培训	58
二、编制作业指导书	58
三、检测系统与评估	60
四、仪器安装的要求	67
五、检测过程的质量管理	68

六、室内质控	68
七、室间质量评价	75
第三节 分析后质量管理	78
第四节 血细胞分析仪检测与显微镜细胞形态检查关系	81
一、仪器法血细胞分析后血涂片复检现状	81
二、血涂片复核的国际准则	83
三、血涂片复核标准的原则和步骤	85
四、制定血涂片复核标准时的注意事项	87
第3章 红细胞形态学变化及其临床意义	88
一、正常红细胞	88
二、异常形态红细胞	89
第4章 白细胞数量及形态学变化的临床意义	111
一、白细胞数量变化及临床意义	111
二、白细胞形态学变化及临床意义	129
第5章 常见造血与淋巴组织肿瘤外周血细胞形态学检验	148
一、急性髓细胞白血病	148
二、骨髓增殖性肿瘤	172
三、骨髓增生异常综合征	183
四、骨髓增生异常综合征 / 骨髓增殖性肿瘤	187
五、淋巴组织肿瘤	190
第6章 血小板形态学变化及临床意义	219
一、正常血小板形态	219
二、异常血小板形态	220
三、血小板相关疾病	229
第7章 寄生虫或其他病原体引起的血细胞形态变化	231
一、疟原虫	231
二、丝虫	243
三、巴贝西虫	244
四、锥虫	244
五、附红细胞体病	246
六、埃立克体与无形体病	247

绪 论

第一节 血细胞分析仪发展历史与展望

传统的“血液常规”检查，包括白细胞计数和分类计数、红细胞计数、血红蛋白定量 4 项，完全使用手工方法。这些方法操作烦琐费时、主观判断性强，在大批量标本检测时难于及时发出检验报告且不易进行质量控制。20 世纪 50 年代初，美国 W. H. Coulter 申请了粒子计数法的技术专利，研发了世界上第一台电子血细胞计数仪（图 1-1），使血细胞计数的精确度提高了 3~5 倍，开创了血细胞计数的新纪元。同时，利用光电比色法测试碱化血红蛋白的原理，发明了血红蛋白测定仪，嗣后两者结合形成血细胞分析仪的雏形，缩短了“血常规”的检测周期，提高了检验结果的精确性和准确性。

我国应用血细胞计数仪始于 1959 年。北京医院引进了瑞典生产的仪器。20 世纪 60 年代（1964 年），上海研制出了我国第一台血细胞计数仪。20 世纪 70 年代初，南京、济南、辽宁均有此类仪器生产，合资产品 PC-603 等系列仪器一时期在全国各地使用，但终因仪器质量问题未能普及应用。



图 1-1 世界第一台电子血细胞计数仪

20 世纪 70 年代，第一台血小板计数仪问世，但只是半自动的且只能分离血浆计数血小板，几年以后全自动全血血小板计数仪应用于常规实验室。20 世纪 80 年代初，自动白细胞分类计数技术研制成功（图 1-2）。原理是按细胞体积大小分成不同的群体，有分为两个群体的〔称为二部法（2-part），简称两分群血液分析仪〕，大细胞群相当于中性粒细胞，小细胞群相当于淋巴细胞。有分为 3 个群体的〔称为三部法（3-part），简称三分群血液分析仪〕，大细胞群相当于中性粒细胞，中间细胞群相当于单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞，小细胞群相当于淋巴细胞。应该指出依据这类原理制造的仪器绝不是根据细胞的形态特征分类，只是根据细胞的体积大小分群。“分群”结果只能在血液检查指标大致正常时作为白细胞分类的参考，但白细胞数量高（低）于参考范围、仪器报告的直方图异常或有“报警”提示时，均应进一步行镜检血涂片。



A



B



C



D

图 1-2 各种“三分群”血细胞分析仪

A. K-4500; B. ABX-micro-CRP; C. BC-30C; D. Cell-DYN Emerald

20 世纪 80 年代血细胞分析技术进入“爆发期”，基础医学和高科技的应用，特别是计算机软件技术的发展，血液分析仪的检测方法不断创新，检测参数显著增多。突出表现在白细胞分类技术的“百花齐放”，出现了以下技术。① VCS 技术：V 代表用电阻法检测细胞体积，C 代表用电磁波传导性检测细胞内部构成信息，S 代表用激光光散射检测细胞颗粒信息、核分叶情况及细胞表面特性；② 多通道阻抗、射频、细胞化学联合检测技术；③ 多角度偏振光散射分析技术——MAPSS 技术；④ 过氧化酶细胞化学染色联合激光检测技术；⑤ 双鞘流细胞化学染色光吸收检测法。其后“多功能血液体液分析一体化系统”进入国内市场，可同时进行血液和体液（脑脊液、胸腔积液和腹水、关节液）内细胞分析，大大提高了细胞学检验自动化、规范化程度。20 世纪 80 年代末发明了网织红细胞计数仪，原理是用荧光素染料与网织红细胞内的 RNA 结合，使网织状结构着染，不同成熟阶段的网织红细胞因 RNA 量不同，经过激光束照射被检细胞时，通过激光折射角与散射角不同，借此可将网织红细胞分成幼稚（HFR）、成熟（MFR）、衰老（LFR）三群，称为网织红细胞分群。这项检查对于肿瘤化（放）疗、骨髓移植、贫血疗效评估有重要临床意义。目前，网织红细胞检验技术多结合在高档血细胞分析仪中，并拓展到网织血小板计数。单机网织红细胞计数仪很少在常规检验中使用。

20 世纪 90 年代中期，一个崭新的理念引入血细胞分析。这类仪器可同时检测同一标本内的血细胞和血浆内的成分。只用 20 μl 的末梢血，1 min 内报告 15 项血液细胞指标，3 min 内报告全血 C 反应蛋白（CRP）的含量，对急症的鉴别诊断很有意义。同时，白细胞分化抗原检测技术也在血细胞分析仪中同机显现。

21 世纪初，血细胞分析全自动工作站或称血细胞分析全自动流水线，逐步在国内应用。据了解，迄今约有上千条流水线在全国应用。其概念就是利用信息化技术将自动血细胞分析仪、自动网织红细胞分析仪、自动血涂片机、染色机组合在一起，再加上条形码及条码识读器，使实验室的分析功能及流水作业完全自动化。最近，有些血液分析流水线中又添加了血涂片机器视觉识别设备。若有需要人工镜检的标本，可先自动识别，如果识别符合实际结果，即可发出检验报告；如有不能识别的细胞，仪器可自动发出信息，通过互联网传送到会诊中心或指定专家的手机上，即时发出报告，这对于形态学检查专业人员匮乏的基层（特别是边远地区）医疗单位有很大的意义。

进入 21 世纪的第二个十年，世界进入第四次工业革命时代，以互联网、物联网、云技术、大数据、人工机器人、3D 打印为技术核心的绿色革命，使智能化成为血细胞分析仪研发和生产新的里程碑，数字视觉识别技术、人工智能、专家诊断系统、互联网+等新思维、新模式不断地被引入血细胞分析仪的研发，“技术新、功能多、易操作、速度快、TAT 短、标准化、信息化、兼容免疫生化技术”是现代血细胞分析仪发展的主要趋势，将为临床不同的需求提供更有效的血液细胞学检测参数，对疾病诊断与治疗有着重要的临床意义。

第二节 血细胞分析仪分析技术原理

半个多世纪以来, 尽管仪器分析技术正在向多元化发展, 但归纳起来主要有电阻抗法和流式激光法两大类。

一、电阻抗法血细胞检测原理

20 世纪 50 年代初, 美国 W.H. Coulter 发明并申请了粒子计数技术的设计专利, 其原理是根据血细胞非传导性的性质, 以对电解质溶液中悬浮颗粒在通过计数小孔时引起的电阻变化进行检测为基础。这种方法也被称为库尔特原理 (Coulter principle)。

(一) 白细胞计数及分群计数

全血标本用稀释液在仪器的外部或内部进行一定比例的稀释, 再加入一定量的溶血剂, 使红细胞全部破坏, 随后被倒入一个不导电的容器中, 将小孔管 (板), 也称为传感器 (transducer) 插到细胞悬液中, 小孔是电阻抗法细胞计数的一个重要成分, 其内侧充满稀释液, 并有一个内电极, 其外侧细胞悬液中有一个外电极。检测期间, 当电流接通后, 位于小孔两侧的电极产生稳定的电流, 细胞悬液通过有固定直径和厚度的小孔向小孔内部流动, 计数孔直径一般 $< 100 \mu\text{m}$, 厚度为 $75 \mu\text{m}$ 左右。因为小孔周围充满了具有传导性的液体, 其电子脉冲是稳定的。如供给的电流 I 和阻抗 Z 是稳定的, 根据欧姆定律, 通过小孔的电压 E 也是不变的 (这时 $E = I \times Z$)。当悬液中一个细胞通过小孔时, 因血细胞有极小的传导性, 细胞导电性质比等渗的稀释液要低, 在电路中小孔感应区内电阻增加, 于瞬间引起了电压变化而出现一个脉冲信号, 这被称为通过脉冲, 电压增加的程度取决于细胞体积, 细胞体积越大, 引起的电压变化越大, 产生的脉冲振幅越高。通过对脉冲大小的测量可测定出细胞体积, 记录脉冲的数目可得到细胞计数的结果; 经过对各种细胞所产生脉冲大小的电子选择, 可区分不同种类的细胞, 并进行分析。

从电阻抗的原理可看出, 不同体积的白细胞通过小孔时产生的脉冲大小不同, 而不同类型的白细胞 (如淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞) 经溶血剂作用后会有明显的差异, 因此根据脉冲的大小, 即可人为地将血内的白细胞分成几群 (二分群或三分群), 在临床应用中, 称之为“二分类”“三分类”血液分析仪的概念是不确切的。因为白细胞分类是指在显微镜下, 观察经染色的血涂片, 根据细胞形态 (包括细胞胞体大小, 胞质的颜色及量的多少, 胞质中颗粒的颜色、大小及数量, 核的形状及染色质的特点) 综合分析, 得出准确均一的细胞群。也就是说, 如分类结果淋巴细胞是 25%, 意味着分类 100 个白细胞中准确地有 25 个淋巴细胞。而电阻抗法白细胞“分类”实际上是根据溶血剂作用后的白细胞体积大小的分群, 其测量的标准只是根据白细胞体积的大小,

而体积大小并不是细胞形态唯一的指标。如经溶血剂作用后有些嗜碱性粒细胞可落入小细胞群，而大淋巴细胞可落到“中间”或“大细胞群”。显微镜下，单核细胞较粒细胞体积大，而经溶血剂作用后，粒细胞体积大于单核细胞。因此，在解释血液分析仪白细胞“分类”的结果时，“淋巴”细胞在仪器分类时只认定为体积与淋巴细胞体积相似的小细胞群，在这群体中，可能有90%的白细胞是淋巴细胞，而绝不是均一的细胞群体。这种差异在病理情况下更大，这也就是专家们反复强调电阻抗法白细胞“分类”不能代替显微镜涂片检查的原因。

那么，仪器是如何进行细胞分群的呢？目前，很多仪器除给出细胞数据结果外，同时提供出细胞体积分布图形，这些表示细胞群体分布情况的图形称为直方图(histogram)。它可显示出某一特定细胞群的平均细胞体积、细胞分布情况和是否存在明显的异常细胞群。直方图是由测量通过感应区的每个细胞脉冲累积得到，根据库尔特原理可在计数的同时进行分析测量。如图1-3所示，左图为示波器显示的所分析细胞的脉冲大小，右图为相应的体积分布直方图，横坐标为体积，纵坐标为相对数量。血液分析仪在进行血细胞分析时，将每个细胞的脉冲数根据其体积大小分类，并储存在相应的体积通道中。从每个通道收集的数据统计出细胞的相对数量(REL No.)，表示在“Y”轴上；细胞体积数据以fl为单位，表示在“X”轴上。

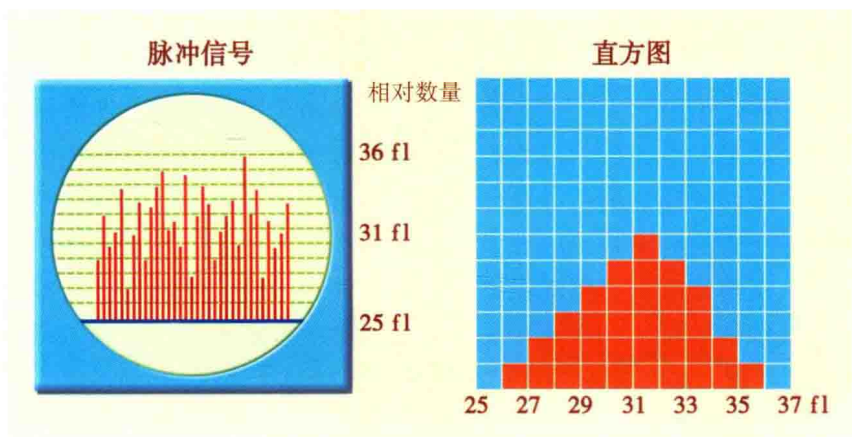


图 1-3 直方图与脉冲信号的关系

例如，在进行白细胞体积分析时，仪器的计算机部分可将白细胞体积从35~450 fl分为256个通道(channel)，每个通道约为1.64 fl，不同体积的细胞被分别放入相应通道中，从而得到白细胞体积分布的直方图(图1-4)。不同档次仪器设置的通道数目不同，直方图形也不同。

电阻抗测定方法得到的白细胞分类数据是根据白细胞体积直方图计算得来的，如图1-5。

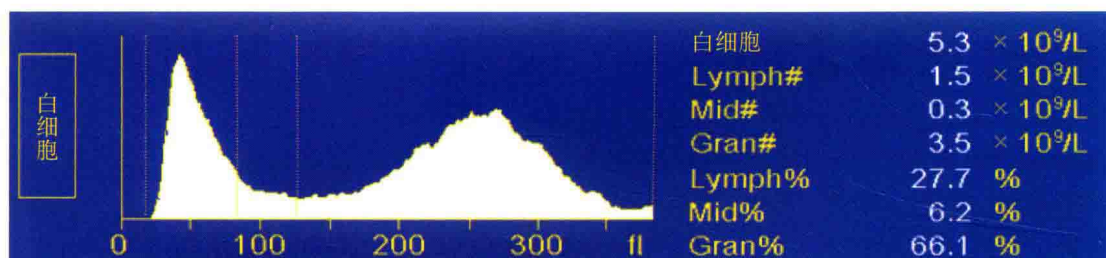


图 1-4 白细胞体积分布直方图

三分群白细胞分类计算方法经过溶血剂处理后的白细胞，根据体积大小可初步确认其相应的种类：第一亚群（小细胞群）主要是淋巴细胞；第二亚群是中间细胞群，也有的仪器在此区域主要是单个核细胞（如单核细胞、幼稚细胞）故称为单个核细胞，在正常情况下有单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞，在病理情况下异常淋巴细胞、幼稚细胞、白血病细胞可出现在这个区域；相当于粒细胞大小的细胞位于第三亚群（大细胞群）。从图 1-5 中可以看出，位于 35~90 fl 的颗粒被计数为淋巴细胞（ A_L ），90~160 fl 的颗粒计数为单个核细胞（ A_M ），160 fl 以上的颗粒计数为粒细胞（ A_G ）。仪器根据各细胞群占总体的比例计算出各细胞群的百分比，再与该标本的白细胞总数相乘，即得到各项的绝对值。需要注意的是，因各厂家血液分析仪使用的稀释液和溶血剂成分不完全相同，对白细胞膜的作用程度不同，所以仪器对各类白细胞区分界限的规定也有所不同，在使用时不应随意更换生产厂家试剂，防止造成错误的报告。

因白细胞计数池中除加入一定量的稀释液外还加入了溶血剂，此溶血剂一方面使红细胞迅速溶解；另一方面使白细胞胞质经细胞膜渗出，胞膜紧裹在细胞核或存在的颗粒物质周围。经此处理后的白细胞体积与其自然体积无关，含有颗粒的经溶血剂处理后的粒细胞比无颗粒的单核细胞和淋巴细胞体积要大些，但其真实体积与单核细胞相等或更小。白血病细胞、异型淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、浆细胞、嗜碱性粒细胞等多出现在单个核细胞区域，少数也可见于淋巴细胞或粒细胞区。所以白细胞直方图并不能代表其自然状况，但可用于判断白细胞各体积群分布情况。

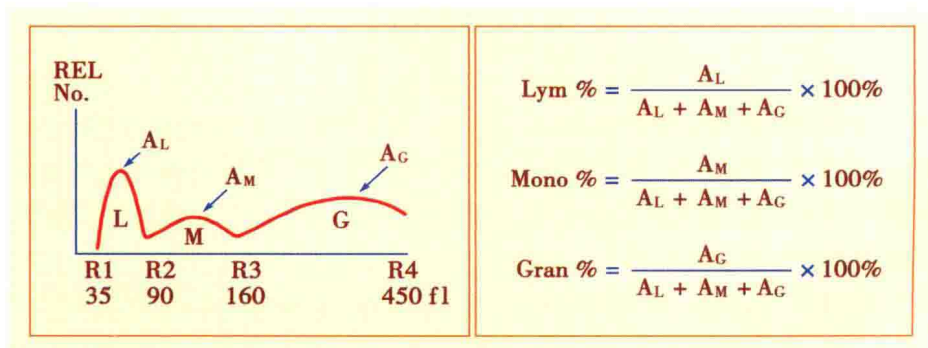


图 1-5 白细胞分类计数计算方法

如标本中有未成熟细胞、异常细胞或非典型细胞,有些三分群的血液分析仪在报告单上可打出报警符号(flags)“R”,并能指出哪一个区域有异常细胞及异常细胞的种类。

(二) 红细胞计数和血细胞比容测定原理

迄今,大多数血液分析仪仍使用电阻抗法进行红细胞计数和血细胞比容测定,其原理同白细胞检测一样。红细胞通过小孔时,形成相应大小的脉冲,脉冲的多少即红细胞的数目,脉冲的高度代表单个脉冲细胞的体积。脉冲高度叠加,经换算即可得血细胞比容(hematocrit, HCT)。有的仪器先以单个细胞高度计算红细胞平均体积,再乘以红细胞数,得出血细胞比容。仪器根据所测单个细胞体积及相同体积细胞占总体的比例,可打印出红细胞体积分布直方图。应该指出,被稀释的血细胞混悬液进入红细胞检测通道时,其中含有白细胞,红细胞检测的各项参数均含有白细胞因素。但因正常血液有形成分中白细胞比例很少(红细胞:白细胞约为750:1),故白细胞因素可忽略不计。但在某些病理情况下,如白血病,白细胞明显增加而又伴严重贫血时,均可使所得各项参数产生明显误差。

(三) 血红蛋白测定原理

任何类型的血液分析仪,血红蛋白测定原理都是相同的。即被稀释的血液加入溶血剂使红细胞溶解,释放的血红蛋白与溶血剂中有关成分结合形成血红蛋白衍生物,进入血红蛋白测试系统,在特定波长(530~550 nm)下比色,吸光度的变化与液体中血红蛋白含量成正比,仪器便可报告其浓度。不同系列血液分析仪配套溶血剂配方不同,形成的血红蛋白衍生物亦不同,吸收光谱各异,但迄今的血细胞分析仪选择使用的方法血红蛋白衍生物最大吸收均接近540 nm。这是因为国际血液学标准化委员会(International Committee for Standardization in Hematology, ICSH)推荐的氰化高铁(HiCN)法,HiCN最大吸收在540nm。校正仪器必须以HiCN值为标准。大多数系列血液分析仪溶血剂内均含有氰化钾,与血红蛋白作用后形成氰化血红蛋白(注意不是氰化高铁血红蛋白)。其特点是显色稳定,最大吸收接近540 nm,但吸收光谱与HiCN有明显不同,此点在仪器校正时应注意。为了减少溶血剂的毒性,避免含氰血红蛋白衍生物检测后的污物处理,近年来,有些血液分析仪使用非氰化溶血剂(如月桂酰硫酸钠血红蛋白, sodium lauryl sulfate, SLS)。实验证明,形成的衍生物(SLS-Hb)与HiCN吸收光谱相似,检测结果的精确性、准确性达到含有氰化物溶血剂同样水平。既保证了实验质量,又避免了试剂对分析人员的毒性和环境污染。

(四) 各项红细胞平均指数检测原理

同手工法一样,红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)、红细胞平均血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、红细胞体积分布宽

度 (red cell volume distribution width, RDW), 均是根据仪器检测的红细胞数、血细胞比容和血红蛋白含量检验数据, 经仪器程序换算出来的。

RDW 是反映外周血红细胞体积异质性的参数。当红细胞通过小孔的一瞬间, 计数电路得到一个相应大小的脉冲, 不同大小的脉冲信号分别储存在仪器内装计算机的不同通道, 计算出相应的体积及细胞数, 统计处理而得 RDW。多数仪器用所测红细胞体积大小的变异系数表示, 即红细胞分布宽度 -CV 值 (red cell volume distribution width-CV, RDW-CV), 也有的仪器采用红细胞分布宽度 -S 值 (red cell volume distribution width-S, RDW-S) 报告方式。

(五) 血小板检测原理

血小板随红细胞一起在一个系统中进行检测, 因血小板体积与红细胞体积有明显的差异, 仪器设定了特定的阈值, 将高于阈值者定为红细胞, 反之为血小板, 检测数据经仪器内部的计算机处理后分别给出血小板与红细胞数目。一般血小板计数设置 64 个通道, 体积范围为 2~30 fl。不同仪器的血小板直方图范围可能不一。平均血小板体积 (mean platelet volume, MPV) 就是此平整曲线所含的群体算术平均体积, 所以, MPV 也就是血小板体积分布直方图的产物。

二、流式法血细胞检测原理

流式法血细胞分析仪有各种类型, 使用的分析技术各异且各有自己的专利技术, 这就形成了“五分类”血细胞分析仪型号的多样化。这类仪器白细胞计数原理大致相同。即仪器利用“鞘流”“扫流”技术, 使混悬在样品的细胞单个成束排列通过激光检测器进行细胞计数。本节只介绍白细胞分类计数原理。

(一) 流式技术结合物理检测方法检测

在这类检测方法的仪器中, 具有代表性的是体积 (volume)、传导性 (conductivity) 和光散射 (scatter)。VCS 白细胞分类技术和多角度偏振光散射分析技术 (MAPSS)。

1. VCS 白细胞分类技术 VCS 分别是体积 (volume)、传导性 (conductivity) 和光散射 (scatter) 的缩写, 这一分类过程使用专一试剂, 对标本进行正确处理。两种试剂 (erythrolyseTM 和 stabilyseTM) 先后加入混匀池内, 与血液标本混匀, 从而溶解红细胞而使白细胞保持在未改变或“近原态”状态。其中, 红细胞溶解剂 erythrolyseTM 的作用是溶解红细胞, 然后加入白细胞稳定剂 stabilyseTM, 作用是中止溶血反应并使留下的白细胞恢复到原态用以进行分析。这一系统包括一个石英晶体制成的流动池, 采用液力聚焦术使白细胞通过流动池, 使白细胞单个排列呈现在检测系统。在单一通道, 采用三个独立的检测技术同时检测一个细胞, 在流动池内共检测 8192 个白细胞。将体积、传导性和光散射的参数结合起来, 从而直接测量 5 种白细胞的分群。

(1) 体积: VCS 利用库尔特的电阻抗原理来测量处于等渗稀释液中的完整原态细

胞的体积。无论细胞在光路中的方向如何,这种方法都能准确地测量出所有细胞的大小。这一信息可用来纠正传导性和光散射信号,给出强有力的库尔特独特的双重测量数据。

(2) 传导性: 电磁波范围内的交流电可通过细胞膜穿透细胞。利用具有强大潜力的探针,用以收集有关细胞大小和内部构成的信息,包括细胞的化学组成和核体积。通过纠正传导信号使它不受细胞大小影响,可获得只与细胞内部构成相关的测量信息。这种新的测量技术,也叫作阻光性,使得 VCS 技术可利用细胞内部构成的不同,将大小相近的细胞区分开来。同时,仪器通过计算出细胞核/细胞质比值,用来区分异型淋巴细胞和正常淋巴细胞。

(3) 光散射: VCS 系统内的氦-氖激光发出的一束椭圆形的光束,可用来收集细胞颗粒信息、核分叶情况及细胞表面特性。库尔特血液分析仪消除了光散射信号中的有关体积的部分,给出了一个叫作旋转光散射 (rotated light scatter, RLS) 的新测量参数。这样,就可选择每种细胞最佳的光散射角度并设计出能覆盖这一范围 ($10^{\circ} \sim 70^{\circ}$) 的散射光检测器。VCS 技术利用这种方法无须经数学处理便可准确地把混合的细胞(如中性粒细胞和嗜酸性粒细胞)区分成不同的细胞亚群,这种方法还能提高非粒细胞群之间的分离。VCS 分析原理,见图 1-6。

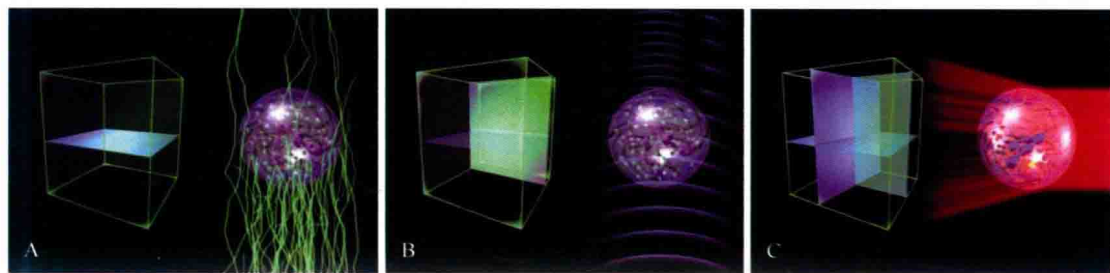


图 1-6 VCS 分析原理

A. 体积 (V) 检测; B. 传导性 (C) 检测; C. 光散射 (S) 检测

每个细胞通过检测区域时,根据它的体积 (Y 轴)、传导性 (Z 轴) 和光散射 (X 轴) 特点,被定义到三维散点图中的相应位置 (图 1-7)。在散点图上,所有单个细胞的位置就形成了相应细胞的群落。最后得出白细胞分类计数的结果。

2. 多角度偏振光散射分析技术血液分析仪原理 仪器结合流式细胞仪中的液流聚焦技术——双鞘液原理,以氦氖激光为光源,利用其独特的多角度偏振光散射 (multiangle polarized scatter separation, MAPSS) 分析技术对细胞进行检测分析。

当全血标本经过鞘液稀释形成细胞悬液,与鞘液分别进入流动室。因两者流速及压力均不一样,从而形成一个直径约 $30\ \mu\text{m}$ 的液体管道,使细胞悬液中的细胞颗粒单个排列,一个接一个地通过激光检测区,这就是流式细胞仪中常采用的液流聚焦原理。仪器通过检测细胞颗粒,对垂直入射的激光在 4 个独特角度的散射强度来检测细胞。其中:① 0° ($1^{\circ} \sim 3^{\circ}$) 前向散射光强度检测反映细胞大小,同时检测细胞数量;