DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.12.045
第23卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 12
1480 2001年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)12-1480-02

3种方法测定血液中微量白细胞计数效果的比较研究

曾 杰,成晓玲,王泽荣,任德惠,林武存,赵树铭 (第三军医大学附属西南医院输血科,重庆 400038)

提 要:目的 比较牛鲍式计数板、血球计数分析仪和Nageotte血细胞计数板3种白细胞计数法测定血液中微量白细胞的效果。方法 将1份血液标本重复用3种方法计数,得出标准计数值,并将此标本稀释至不同浓度,以3种计数法分别测定这些样品中白细胞的含量,比较测试值与期望值。同时,用这3种方法检测了30份过滤白细胞的血样中的微量白细胞。结果 牛鲍式计数板、血球计数分析仪在白细胞$< 200\times 10^6$/L时,牛鲍式计数板测试值为"0",血球计数分析仪测试值为200×10^6/L,无法准确反映低含量样品中白细胞的真实结果,Nageotte血细胞计数法则可准确测定血液中$> 1.2\times 10^6$/L的白细胞。结论 测定血液中微量白细胞宜采用Nageotte血细胞计数板方法。

关键词:白细胞计数;血液制剂;Nageotte血细胞计数法
中图法分类号:R457 文献标识码:A

Comparison of 3 methods for counting white blood cells in diluted blood samples

ZENG Jie, CHENG Xiao-ling, Wang Ze-rong, REN De-hui, LING Wu-cun, ZHAO Shu-ming (Department of Transfusion, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To compare the results of WBC counting in blood with small amount of WBC by Nageotte hemocytometry, Neubauer chamber method and automatic particulate analysis. Methods A blood sample of 5 ml was counted with routine method for 3 times to obtain its WBC count as a standard value, and then diluted with saline to different levels. All of those blood samples were counted for WBC concentrations by microscopic counting with a Nageotte hemocytometer (Haucser, USA), a Neubauer chamber, and an automatic particulate analyzer (F—820 Symex, Japan). The accuracy of each method was compared between the counting results and the expected values. The apparatuses were also used to determine WBC counts of 30 blood samples after leukocyte filtration. Results When the blood samples with WBC $< 200\times 10^6$/L, Neubauer chamber got 0/L, and the automatic particulate analyzer showed 200×10^6/L, which were far away from the theoretical values. A good accuracy was obtained by Nageotte hemocytometer in the samples with WBC counts between 1.2×10^6 to 200×10^6/L. Compared with the other 2 methods, Nageotte hemocytometry showed more accurate results in the WBC counting of red blood cell concentrations. Conclusion These results suggest that Nageotte hemocytometry is a good method for counting micro-WBC in blood components, better than the other 2 methods.

Key words: WBC counting; blood component; Nageotte hemocytometry

微量白细胞计数常用于去白细胞血液制剂的血液质量控制。目前检测微量白细胞的方法有流式细胞仪计数法、荧光染色计数法及Nageotte血细胞计数板计数法[1~4,6]。本研究结合医院常用检测手段及临床用血,观察了牛鲍式计数法、血球计数分析仪测定法及Nageotte血细胞计数法检测低白细胞含量的血液制剂及白细胞滤器效果的测试,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 全血和浓缩红细胞悬液 ACD-B抗凝全血200 ml/U;浓缩红细胞悬液由全血经3 500~4 000 r/min,离心10~14 min,去除血浆后添加50 ml MAP红细胞保存液制备而成。

1.1.2 白细胞过滤器 赛尔金(南京生物医学工程研究所,批号000412)。

1.1.3 仪器设备 牛鲍式计数板、血球计数分析仪(F-820 Symex日本)、Nageotte血细胞计数板(Haucser美国)、普通生物光学显微镜。

1.2 方法

1.2.1 样品制备 ①ACD-B抗凝全血5 ml,按常规用血球计数仪及牛鲍式计数板计数3次,取其平均值(以其作为标准浓度);取100 μl全血用生理盐水稀释1∶1、1∶5、1∶10、1∶15、1∶20、1∶25、1∶30、1∶50、1∶100、1∶1 000得已知不同浓度白细胞样品,用3种方法取以上血样计数白细胞,每种方法平均测试3次,取其平均值。②滤前样品将4 ℃库存全血或浓缩红细胞悬液混匀留取标本1 ml;③滤后样品用过滤器按操作规程过滤全血或浓缩红细胞悬液,留过滤后的标本1 ml。

1.2.2 白细胞计数 ①血球计数仪(F-820)测定 取样品20 μl加入到10 ml的白细胞稀释液中混匀,按常规操作。②牛鲍式计数板计数法 按操作常规计数;③Nageotte血细胞计数取血样100 μl,加入900 μl白细胞稀释液中混匀,静置5 min,混匀后吸取混合液滴入Nageotte血细胞计数板中,室温沉降15 min后,在显微镜下计数1个满格子(5 μl)上的白细胞,当样品按1∶10倍稀释时,计数结果为:每格中WBCs/μl。

1.2.3 统计学方法 直线回归与相关分析。

作者简介:曾 杰(1972—),女,湖北省利川市人,技士,主要从事临床输血学的研究。电话:(023)68754198

收稿日期:2001-07-21;修回日期:2001-10-19

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2　结果

2.1　3 种计数方法测定白细胞样品的准确性

用 3 种检测白细胞的方法测试同一稀释倍数的标本; 每一标本均用同种方法测试 3 次, 取其平均数; 其结果见表 1。采用 3 种方法测定选定标本中的白细胞, 其平均值为 4 600× 10^6/ L 为实验观察标本, 然后将其按不同稀释度稀释, 其结果显示血细胞计数仪在白细胞浓度< 200× 10^6/ L 时其实际测得值均为 200× 10^6/ L; 牛鲍式计数板在白细胞浓度< 200× 10^6/ L 时其实际测得值均为"0"; Nageotte 血细胞计数板在白细胞浓度< 200× 10^6/ L 时其测试值与期望值相接近。在标本白细胞数> 200× 10^6/ L 时, 血细胞计数仪和牛鲍式计数板测得值与理论值较近, 而 Nageotte 血细胞计数板测得值略低于理论值。

2.2　白细胞滤器滤除白细胞效果

随机抽取 30 份过滤血样采用 3 种方法作测试, 其结果, 见表 2。

血细胞计数仪测定的白细胞去除率平均为 95.51%; 牛鲍式计数法平均为 99.71%; Nageotte 血细胞计数法平均为 99.54%。可以看出, 由于白细胞计数方法的不同导致计算的去除率差异较大。采用 Nageotte 血细胞计数法表明该白细胞滤器能有效地去除红细胞制剂中的白细胞, 去除率达 99.54%。而牛鲍式计数和血细胞计数仪由于对低白细胞样品不能准确计数, 其结果不可靠。

表 1　3 种方法测试已知浓度白细胞血样结果(× 10^6/ L)

Tab 1　Comparison of the 3 methods for counting WBC in diluted blood samples(× 10^6/ L)

Dilution	Expected value *	Automatic particulate analyzer	Neubauer chamber	Nageotte hemocytometer	Dilution	Expected value *	Automatic particulate analyzer	Neubauer chamber	Nageotte hemocytometer
1∶0	4 600.0	4 600	4 600	4 600	1∶25	177	200	0	158.3
1∶1	2 300	2 300	2 300	2 108.7	1∶30	148	200	0	150.5
1∶5	767	750	760	680.3	1∶40	112	200	0	102.2
1∶10	418	410	420	370.3	1∶50	90	200	0	74.1
1∶15	288	270	280	240.6	1∶100	46	200	0	37.5
1∶20	219	260	250	190.8	1∶1 000	5	200	0	4.3

*: The expected value was the theoretical concentration according to the standard value (WBCs 4 600× 10^6/L) and the certain dilution rates

表 2　3 种方法检测白细胞过滤器的滤除效果测试比效(n= 30, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Efficiency of leukocyte filtration in red blood cell concentrations with the 3 methods (n= 30, $\bar{x}\pm s$)

WBCs(× 10^9/ L)	n	Pre-filtration WBCs *(× 10^9/ L)	Residual WBCs in post filtration					
			Automatic particulate analyzer		Neubauer chanber		Nageotte hemocytometer	
			WBC(× 10^9/ L)	Rate of filtration (%)	WBC(× 10^9/ L)	Rate of filtration (%)	WBC(× 10^9/ L)	Rate of filtration (%)
4.0~6.0	13	4.88±1.40	0.25±0.14	94.87	0.03±0.05	99.53	0.024±0.049	99.51
6.0~8.0	10	7.19±0.56	0.35±0.22	95.13	0	100.00	0.056±0.103	99.22
8.0~10.0	7	8.69±0.67	0.27±0.16	96.89	0.03±0.08	99.67	0.016±0.022	99.82

*: Pre-filtration WBCs were obtained with automatic particulate analyzer

3　讨论

血细胞计数分析仪测定法在白细胞浓度< 200× 10^6/ L 时, 其实际测试值均为 200× 10^6/ L, 牛鲍式计数法在白细胞< 200× 10^6/ L 时, 其实际测得的白细胞数均为"0", 表明这两种方法无法准确反映低含量样品中白细胞的真实结果, Nageotte 血细胞计数法能测定去白细胞血液成份(1.2~200)× 10^6/ L 的白细胞, 其实际测得的白细胞数与期望值非常接近[1], 说明该法准确、可靠。与文献[1]报道相一致。Nageotte 血细胞计数法已成为目前国际公认的计算去白细胞血液成份的标准方法[6]。而采用血细胞计数仪测定过滤血样白细胞计数其结果的可信度值得怀疑[4,5]。

通过 30 份过滤血样品的检测表明, 只有 Nageotte 血细胞计数法可真实反映白细胞去除率, 对滤除不同含量白细胞的血液制剂, 其白细胞的去除效果无明显差异, 滤前白细胞含量为(4.0~6.0)、(6.0~8.0)、(8.0~10.0)× 10^9/ L 浓度时其滤除率分别为 99.51%、99.22%、99.82%。

参考文献:

[1] 邬华蜀, 谭家宏, 陈泽川. 用"Nageotte"血细胞计数板测定少白细胞红细胞制品中较低量白细胞[J]. 中国输血杂志, 1996, 9(4): 191—192.

[2] 谢如锋, 许亚勇, 莫琴. 微量白细胞计数方法的探讨[J]. 中国输血杂志, 1998, 11(2): 83—85.

[3] 矫淑珍, 万　军, 董艳杰, 等. 荧光染色计数机采血小板中的白细胞[J]. 中国输血杂志, 1999, 12(2): 103.

[4] 谢如锋, 许亚勇, 莫　琴, 等. 少白细胞血液的保存[J]. 中国输血杂志, 1999, 12(4): 225—226.

[5] 毕晓琳, 安万新, 明凤琴, 等. 白细胞过滤器前后血液质量及临床效果比较[J]. 中国输血杂志, 2000, 13(2): 99—100.

[6] Dzik S, Moroff G, Dumont L. A multicenter study evaluating three methods for counting residual WBCs in WBC-reduced blood components: Nageotte hemocytometry, flow cytometry, and microfluorometry [J]. Transfusion. 2000, 40(5): 513—520.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net