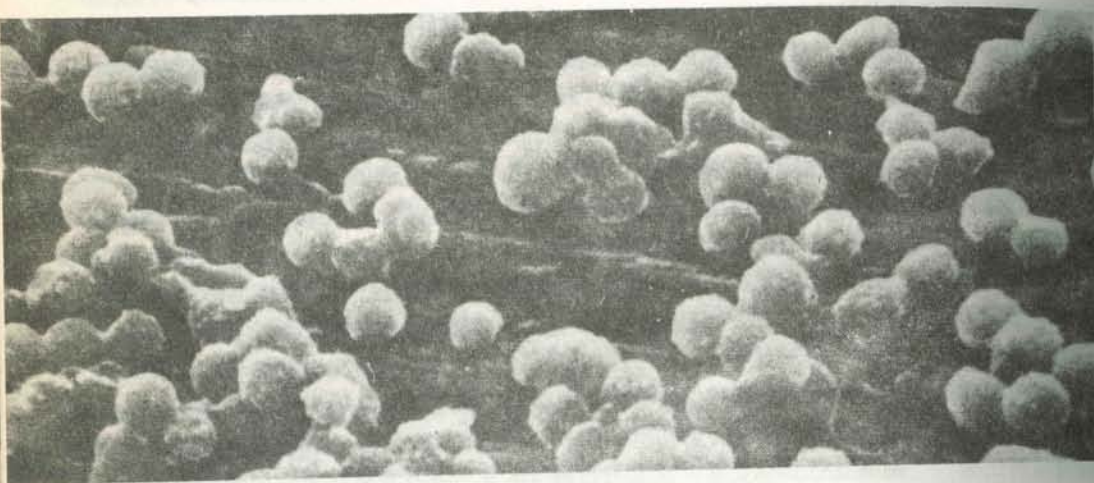


白血球分類的

Autoanalyzer-“Hemalog D” 簡介



醫技第一屆校友

陳建安

科學之日新月異導致醫學儀器不斷的進步，檢驗科的工作也漸漸地以機器替代人工。尤其自1957年，美國 Technicon Instrument Co. 研究出 Autoanalyzer I (自動化學分析器) 以後，在實驗臨床診斷上的應用，更是邁進了一大步。由此不但減輕了 Technician 的繁忙，節省了化驗的時間，而且 Autoanalyzer 的報告對於診斷也增加了不少信心。在此我們為各位同學提供的資料是應用 Autoanalyzer 來做 W. B. C. Differential Count. 當然 W. B. C., R. B. C., Hb, Ht, M. C. V., M. C. H., M. C., H. C. 的 Counting 也有，我們在此不提。

人工的 W. B. C. Differential Count 首先要做 Blood Smear，待乾後 Stain，在顯微鏡下由檢驗師的判斷作分類。利用“Hemalog D”略有差異，乃使用儀器操作，其所有步驟均在連續的 tube 及 Coil 中完成。茲分述如後：

與 Samples (即 Specimens) 接觸的是 Sampler，它能在一定的時間內用特製的 Probe 吸取 0.56 ml 的

Sample (Whole blood)。在 Probe 之前，有一 Mixing Paddle 將 Sample mix 均勻，而一定時間後 Probe 與 Mixing Paddle 會自動回到一個 Wash receptacle，吸蒸餾水清洗管壁，一方面 Probe 與 Mixing Paddle 的頭部也需洗淨。然後又吸下一個 Sample，如此連續的做下去。

人工方法是以細胞內 Nucleic acids acid muco polysaccharides 和 Proteins，其各個不同的染色特性來分別。而“Hemalog D”主要是利用細胞內 Enzymes 的性質來染色，由於細胞內的 Enzymes；例如 Eosinophils 及 Neutrophils 內的 Peroxidase 和 Monocytes 內的 Lipase，很容易破壞或跑出細胞外，所以經過 Sampler 後，必須以 formalin 來固定。

因為我們是用機器來計算，故血液中的 R. B. C. 必須先加上 Propylene glycol 來 lysis，否則經過 Counting Station 會誤認為 leukocytes。在 Samplers 之後就分為四個通道 (Channels) 各在一個 Manifolds 上，

其中 Monocytes, Basophils, Eosinophils 各有一個 Manifold。Neutrophils + Eosinophils 及 Lymphocytes 有一個。

Monocytes 的 Manifold 上 Sample 經過福馬林的固定，然後與 Alpha naphthol butyrate 作用，單核球會有一種與 lipase 相關之作用物出現。加上 Diazotized basic fuchsin 與 free alpha naphthol butyrate 混合後，由於 lipase activity 在細胞內會產生紅色之沈澱反應。在溶解 (lysis) 的步驟，我們已經加上了 Propylene glycol，它不僅溶解紅血球，也中和了基質 (Stroma) 的旋光作用。

嗜鹼性白血球之一端要加上 Neutral red 和 Saponin, Neutral red 與 Heparin (取標本後用的抗凝劑) 結果在 Basophil granules 內結合，其次再加上 Propylene glycol，中和了 red cell ghosts 的旋光作用。

Eosinophils + Neutrophils 的一端，標本和先預備的福馬林固定了之後，經過一個 Heating coil，使細

胞內會干擾分析的酵素失去活性。然後使其冷卻，加入 Acetic acid 再和 Hydrogen peroxide 與 4-chloro-1-naphthol (pH: 4.5) 的溶合而再加熱。由於 Neutrophils 與 Eosinophils 內的 Peroxidase，將細胞染成灰色的陰影，然後再計算。Eosinophils 的部分祇是將 Acid dye 的 pH 值降低到 3.5。其作用物的濃度被 reduced，則 Eosinophils 就先 Stained 了。

Lymphocytes 沒有染色必要，直接由 Electronic sizing 測出紀錄下來。以上各 channel 直接進入 flow cell 內，這種 flow cell 是由兩片 optical glass 構成的，其截面直徑約為 250 μ ，但是 cell 通過的物質僅 60 μ ，而接受測定的 flow channel 是個 10 μ 寬，100 μ 長的長方形縫如附圖①

每個 Channel 都有一道 Electro-optical System 和兩個 Photodetectors，附圖②。當一個白血球經過 flow cell detection slit 時，一個 photodetector 會把細胞之吸附性表示出來。另一個則將透過 cell 的 forward scattering 表示出來。“Hemalog D”就是利用這種 forward scattering 之限制性來作白血球、血小板與小的粒子的區別。

每一個 Channel 要 10⁴ 個 W.B.C.，其百分率之算法如下表：

	%	cells/mm ³
Neu	57.0	3705
Eos	3.5	227
Baso	0.4	26
Mono	6.6	429
Lym	31.0	2115
Unclassified	1.5	98
Total	100	6600

這些計算在“Hemalog D”有電子計算機能自動地紀錄下來，然後打在報告上面。

現在讓我們就 Manual 與“Hemalog D”來比較一下表①表②。

以上如 No. of counting 當然是愈多愈精確，誤差愈少。這和比較②的 range 愈小表示愈準確一樣的道理。要是碰到白血病的 Case，如 Myelocytic leukemia 時，“Hemalog D”僅能在 unclassified 處，將 Myelocytes 表示出來。如此在 Special case，我們還是請一位血液學的專家來判斷。還有一個問題就是為何 Sample 與 Sample 之間不會 Contami-

nation? 這主要是中間加入 air bubble，能將管壁的 Sample 推向前。而且 probe 在吸取 Sample 與 Sample 之間，吸了一段蒸餾水乃清洗前個 sample 附着在管壁的遺留物，故 Contamination 就減少到極限了。

總之這種“Hemalog D”祇是適合大醫院，病人一進門就做 routine, clinical Biochemistry 與 clinical Hematology 不再是「有需要」才做，因為你或許在 routine 的報告中，確定了你的診斷甚或發現不僅是一種病而已。如此對病人不但是一項福音，對辛辛苦苦的坐在椅子上聽病人主訴的醫生們，亦節省了不少的時間和精力。

表①

	Manual	“Hemalog D”
Time	10 smears/hr	60 samples/hr
No. of counting	100 cells/smear	4 × 10 ⁴ cells/sample
cell type by count	any type	Neu. Lym. Baso. Eos. Mono
Work continuous	tire	never

表② Reproducibility

cell type	CV% manual	Hemalog " D "	Hypothetical Sample value %	Range %	
				manual	Hemalog D
Neutrophils	20	3	45	36-45	43.6-46.4
Eosinophils	4.0+	0.4+	4	0-8	3.6-4.4
Basophils	1.0+	0.1+	1	0-2	0.9-1.1
Small lymphocytes	20	5	42	33-50	40-44
Monocytes	30	7	8	65-10	7.5-8.5