

关于血球计数方法：大家公认的未必就是正确的

杨正伟

(川北医学院 形态定量研究室, 四川 南充市 637007)

临床上或研究中,人们常用血球计(hemocytometer)之类的计数板来估计血球、精子、细菌等的数量。其基本方法是:制备细胞悬液,滴在计数板(特制厚玻片,其上有计数池,池底有直线将计数池分成许多小方格)上,盖上盖玻片,然后在显微镜下观察,用肉眼直接计数若干小方格(已知体积)内的一种或多种细胞,这样就可估计单位体积细胞悬液内这些细胞的数量或数量比。

细胞计数过程中的一个微妙问题是:压在小方格边线上的细胞(即与方格边线相交的细胞)该如何处理。数还是不数?国内国外的检验师以往和现在都在采用的、大家公认的方法是:数上线不数下线,数左线不数右线。

这个问题即边缘效应(edge effect)问题,看似简单明了,但 H. J. G. Gundersen (丹麦,国际著名体视学家)于 1977 年指出了以往的计数方法的问题,提出了新的计数方法^[1]:

(1) 对每个小方格,不能只看其 4 个边,要在 2 个相反方向上延长 2 个平行边。习惯上把左边向上延伸,右边向下延伸。延伸线要足够的长,以使与小方格的右边和(或)上边相交的细胞,不会跨越至延伸线的左边。这样,左边、下边、左边向上的延伸线、右边向下的延伸线就是这个小方格的禁线(forbidden-line,图 1 中的红线),右边、上边就是这个小方格的计数线(图 1 中的绿线)。(2) 对于与小方格边线相交的细胞,计数只与计数线相交的,不计数与禁线有任何交叉的(图 1)。

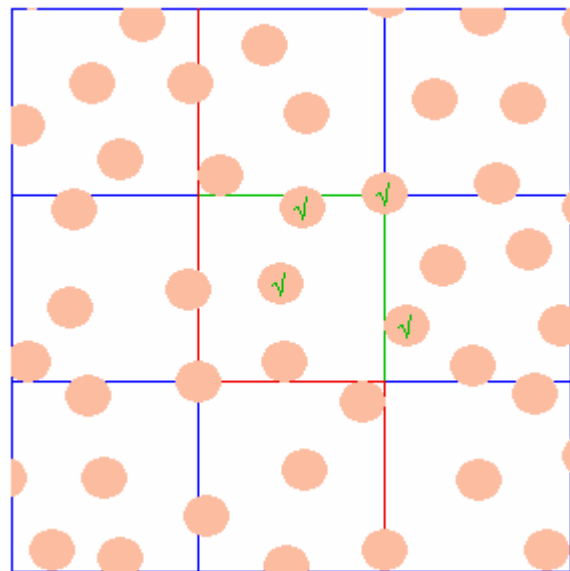


图 1 示中央的小方格“内”应计数的细胞(\bar{O})

以上处理边缘效应的方法称为禁线法则。这是目前用肉眼在平面上计数细胞等任意轮廓(profiles)时,处理边缘效应的唯一无偏(unbiased)法则。之所以说它无偏,是因为:如果把所测轮廓所在区域(平面)完全分隔成许多长方格,那么与长方格边线相交的任一轮廓,都会——而且只能——被一个长方格计数一次^[1]。

如果与小方格边线相交的每个细胞都只与一个小方格的一条边相交;“数上线不数下线,数左线不数右线”的法则就没有问题。否则,与多个边相交的细胞如何处理?同时“数左上、左下角不数右上、右下角”?这种计数法则将倾向于高估(overestimation),尽管计数形状规则、大小相似的血细胞时这个偏差可能并不大。

参考文献

1. Gundersen HJ. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effect. J Microsc 1977; 111(2): 219-23.