



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 88106713.X

[51] Int.Cl<sup>+</sup>  
G01N 33/49

[43] 公开日 1989年10月4日

[22] 申请日 88.9.16

[30] 优先权

[32] 88.3.21 [33] US [31] 170.771

[71] 申请人 罗伯特·A·利费恩

地址 美国吉尔福德

共同申请人 斯泰芬·C·沃尔达劳

[72] 发明人 罗伯特·A·利费恩

斯泰芬·C·沃尔达劳

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
代理部

代理人 王宪模

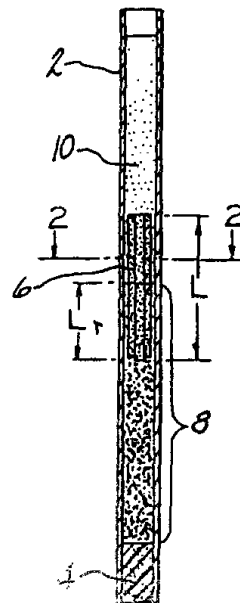
G01N 9/20

说明书页数: 7 附图页数: 1

[54] 发明名称 测量血红蛋白的方法

[57] 摘要

把全血样放在一个类似于毛细管的带有塑料浮标的试管中。该浮标是轴向伸长并具有一定的比重,使得管中的血样被离心后,浮标浮在聚集的红血细胞中。用测量浮标沿入红血细胞层的深度,来测量聚集的红血细胞的血红蛋白的浓度,然后计算血液的血红蛋白的浓度。由于实际上对红血细胞密度起作用的成分只有血红蛋白,所以可用这样的方法测量血红蛋白的浓度。



# 权 利 要 求 书

---

1. 一种用于测量抗凝全血样中红血细胞的血红蛋白浓度的方法，所说的方法包括如下步骤：

a) 提供一个毛细管；

b) 将血样抽入毛细管；

c) 将一个浮标件置于毛细管内的血样中，所说的浮标件是用一种材料制成的，当装有血样和浮标件的管子被离心，这种材料制成的浮标漂浮在血样的红血细胞层中；

d) 离心血样，浮标件和管子，使得红血细胞，白血细胞和血浆按各自的密度分层；

e) 测量浮标件潜入红血细胞层表面以下部分的长度；和

f) 计算均为浮标件潜入红血细胞层表面以下长度的函数的血红蛋白浓度。

2. 如权利要求1的方法，其中测量红血细胞层的总长度，用来计算血样的血细胞比容值，用算出的血细胞比容数乘以血样的平均细胞血红蛋白浓度，得到血红蛋白的浓度。

3. 如权利要求2的方法，其中血样的平均细胞血红蛋白浓度由下列公式决定：

$$(D_r - D_f) \times L_r + (D_p - D_f) \times L_p = 0; \text{ 和}$$

$$MCHC = (D_r \times K_s) + K_o;$$

其中： $D_r$  是红血细胞密度；

$D_f$  是浮标件密度；

$D_p$  是血浆密度；

$L_r$  是浮标件进入红细胞层的长度；

$L_p$  是浮标件进入血浆层的长度；

$MCHC$  是平均细胞血红蛋白浓度；

$K_0$ 和 $K_s$ 是按经验确定的常数。

4. 如权利要求1所述的方法，其中所说的浮标件是轴向沿伸的，并有最小的且延轴向不变的横截面，从而减小由于浮标件的进入而引起的细胞层的伸长。

5. 如权利要求4所述的方法，其中浮标件具有一个带槽形的截面形状，以减小了细胞层的膨胀，但保持了浮标件与毛细管的共轴。

6. 如权利要求1所述的方法，其中所有的计算均由预先编好程序的微处理机完成。

7. 一种用于测量抗凝全血样的红血细胞的血红蛋白浓度的方法，所说的方法包括如下步骤：

a) 准备一个装在毛细管中的血样；

b) 将一个浮标件装入毛细管中的血样内，所述的浮标件用一种材料制成，当装有血样和浮标件的管子被离心，这种材料制成的浮标件将浮漂在血样中的红血细胞层中，并且所述的浮标件可使被离心的血样的浅黄层扩展到足以在其中形成一个数量可测的白细胞和血小板构成的层；

c) 离心血样，浮标件和管子使得红血细胞，白血细胞，血小板和血浆按其各自的密度分层；

d) 测量浮标件潜入红血细胞层表面以下部分的长度；

e) 测量浮标进入浅黄层中粒性白血细胞层的长度；

f) 测量浮标进入浅黄层中单/复核白血细胞层的长度；

g) 测量浮标进入浅黄层中血小板层的长度；和

h) 计算作为浮标潜入红血细胞层下长度的函数的血红蛋白浓度，这一长度是考虑到伸展的浅黄层作用在浮标上的浮力影响而被修正过的。

8. 如权利要求7所述的方法，其中测量红血细胞层的总长度，用来计算血样的血细胞比容值，用算出的血细胞比容乘以血样的平均细胞血红蛋白浓度得到血红蛋白的浓度。

9. 如权利要求8所述的方法，其中血样的平均细胞血红蛋白浓度由下列公式决定：

$$a) (D_r - D_f) \times L_r + (D_g - D_f) \times L_g + (D_{lm} - D_f) \times L_{lm} + (D_{pl} - D_f) \times L_{pl} + (D_p - D_f) \times L_p = 0; \text{ 其中}$$

$D_r$  是红血细胞密度；

$D_f$  是浮标件密度；

$D_g$  是粒性白血细胞密度；

$D_{lm}$  是复核/单核白血细胞密度；

$D_{pl}$  是血小板密度；

$D_p$  是血浆密度；而其中

$L_r$  是浮标件进入红细胞层的长度；

$L_g$  是浮标件进入粒性白血细胞层的长度；

$L_{lm}$  是浮标件进入复/单核白血细胞层的长度；

$L_{pl}$  是浮标件进入血小板层的长度；并且

$L_p$  是浮标件进入血浆层的长度；并且

$$b) MCHC = (D_r \times K_s) + K_o, \text{ 其中}$$

$MCHC$  是平均细胞血红蛋白浓度；并且

$K_o$  和  $K_s$  是由经验决定的常数。

测量血红蛋白的方法

本发明涉及一种简易地测量全血样中血红蛋白浓度的方法，特别涉及一种可以被非熟练技术人员很快地完成的方法。

全血样的两种常规测量是血细胞比容和血红蛋白含量。血细胞比容是聚集的红血细胞占被离心的全血样的百分比体积；血红蛋白含量是每单位体积全血样中血红蛋白的重量。血红蛋白与血细胞比容的数值比称之为平均细胞血红蛋白浓度（MCHC），在通常的人体中，这个值接近33.9%。当人体患有某种疾病时，这个值可在38%到26%之间变化。因此，确定血细胞比容和血红蛋白含量对于发现和诊断贫血和其它血液失调症是有重要意义的。

在大型实验室中，血细胞比容和血红蛋白的测量一般是在自动分析仪中同时进行的。但在小医院或在内科医生诊所里，它们必须分别用不同的两种技术进行。血细胞比容可用如下方法测量：将抗凝的全血样装入小内径的玻璃管中，封住一端，把试管放在小型离心机离心3—5分钟来聚集红血细胞。聚集之后，测量聚集的红血细胞的长度和装入的全部血样的长度，按百分比计算出血细胞比容。因为在准备试管和进行测量时不需要熟练的技术，所以这一方法很受欢迎。1977年6月7日公布的S. C. Ward Law等的美国专利US—4, 027, 660；1980年1月1日公布的美国专利US—4, 181, 609；1978年5月公布的美国专利US—4 15 657 0和1985年12月7日公布的美国专利US—4 55 89 47等描述了一种方法：它包括将抗凝的全血样吸入毛细管，管内放入一个浮标，离心血样，使浮标进入红细胞层并伸展到血样里浅黄色的部分中。这种已有技术也被用来测量血红蛋白。只不过考虑到计算

血液成分的全长时，血样因浮标而伸长了一部分，所以，观察到的全长将由测量仪器按比例降低去补偿浮标的存在。

此外，不可忽视的是，测量血红蛋白浓度更加复杂。在小型医院或内科医生诊所内为了进行这一检查，必须将血样精确地稀释到1：250或1：500，这个比例是依所用的设备而定的。这个稀释过程是精确地将微量血样装入吸管，然后放入一个装有溶解红血细胞并进行氰化处理药物的容器内，使血红蛋白转化为易于测量形式。将这一混合物静置3—10分钟后放入光度计，在560 nm（绿光）处的光吸收与标准溶液相比较，从比较中可以算出血红蛋白的浓度。还有许多已经公开的类似方法，但目前所有可采用的这些方法却需要在为此设计的仪器上精确测量光吸收。进而，与测量血细胞比容相比，精确控制微量的血样需要更高的技术水平。因此这也是一个产生分析测量误差的原因。

我们已经发现了一种用于测量血样中血红蛋白的方法，该方法基本上使用的与现行测量血细胞比容的相同设备和仪器。我们的测量方法是建立在我们的下述发现的基础上：聚集的红血细胞中血红蛋白的浓度是反比于已有技术中浮标沿入红血细胞层的深度。测量仪器中的微处理机按程序将附加的深度测量值转换成血红蛋白浓度。本发明的操作步骤如下。将抗凝的全血样吸入离心管，最好是毛细管，并将浮标放入管中，堵住管子的底部后，离心血样直到分出红血细胞层，浅黄层和血浆层。在离心过程中，浮标进入红血细胞层，然后用普通现有技术测出血细胞比容。

接下来测量血红蛋白。如上所述，红血细胞的MCHC是在红血细胞中的血红蛋白浓度，通常约为340 g/l。因此，大约每个细胞的1/3是血红蛋白，其余是水和小浓度的盐以及浓度相对一定的

小量蛋白值。由于实际上不同病人的红血细胞的密度差别只是因为他们的血红蛋白浓度，所以聚集的红血细胞的密度与MCHC成比例，因此如能精确地得到MCHC值，则血红蛋白浓度可按下式算出：血红蛋白=血细胞比容×MCHC。

本发明的装置包括一个口径一定的透明试管，在管中放有一个树脂浮标。然后通过毛细作用或微小的吸力将抗凝的血液吸入管中。只要有足够的血液使浮标浮起，血液量的准确数值是不重要的。将管子的一端密封，然后管子在接近10,000G'S下离心约5分钟。这一过程与常规的血细胞比容检测相同。经过离心后，具有一定比重的浮标处在血浆和聚集的红血细胞之间，其一部分浮在红血细胞上，测量管中血样的长度（聚集的红血细胞，浅黄层和血浆的总长）与聚集的红血细胞柱的长度之比，求得血细胞比容。浮标的体积必须并且当然并加以考虑，因为浮标的深度与聚集的红血细胞的密度成反比，按如下所示，红血细胞的密度能够被计算出来，并且转换成血红蛋白的含量。

作用在处于平衡状态的浮块上的浮力的总和，如本发明中的浮标上的浮力之和为零。这些浮力处在由柱状塑料浮标，聚集的红血细胞和血浆形成的三方系统中，可以表示如下：

$$(D_r - D_f) \times L_r + (D_p - D_f) \times L_p = 0$$

其中 $D_r$ 是聚集的红血细胞的密度； $D_f$ 是塑料浮标的密度； $L_r$ 是浮标没入聚集的红血细胞部分的长度； $D_p$ 是血浆的密度； $L_p$ 是浮标没入血浆部分的长度。

上式中，聚集的红血细胞密度是未知的。塑料浮标的密度和长度是已知的，并已输入微处理机内存。同样，血浆的密度是已知的，也已输入微处理机内存。测出进入红血细胞层的浮标长度，并输入微机，

最后由微机从浮标总长中减去沉入红血细胞层的长度，深到沿入血浆层的浮标长度。微机就可以针对红血细胞密度（ $D_r$ ）的求解方程。

一旦 $D_r$ 被计算出来，MCHC就可由微机用求解下列方程算出：

$$MCHC = (D_r \times K_s) + K_o$$

MCHC的常数 $K_o$ 和 $K_s$ 可由对大量不同血样的红血细胞密度进行测量和修正用传统的对照测量确定的MCHC密度来经验地确定。最佳平滑的相关方程的斜率（ $K_s$ ）和偏移常数（ $K_o$ ）被用于通过红血细胞密度来算出MCHC。一旦 $K_s$ 和 $K_o$ 被计算出来后，就保持不变，除非在设备的修正参数，如浮标的密度等发生变化时。

如前所述，血红蛋白的浓度可以通过MCHC确定。亦即血红蛋白 = 血细胞比容  $\times$  MCHC。

因此本发明的一个目的是提供一种改进的测量全血样中血红蛋白含量的方法。

本发明的另外一个目的是提供一种具有所说特征的方法，其中将血红蛋白含量作为浮标伸入到装在管内被离心的血样的聚集红血细胞层内的函数来测量。

本发明的进一步目的是提供一种具有所述特征的方法，其中血红蛋白和血细胞比容的测量既可使用也可不用自动仪器能够简单而迅速地进行。

本发明的这些或其它目的和优点将在以下部分结合附图及其详细描述得到进一步的阐明。其中：

图1是装有血样和浮标的玻璃管的正视图。其中浮标已进入被离心血样的红血细胞层；

图2是图1中按照线2-2的剖视图。

参见上述附图，管2最好是玻璃毛细管，可在它的内管壁涂上一

种抗凝剂。在血样吸入管2中后将管2的底部用一个陶瓷塞或一个塑料盖，紧紧盖住。浮标6放在管2中，当血样在管2中被离心时，浮标6进入由8表示的红血细胞层。浮标6上部是血浆层10。浮标6的轴向长度是已知的，技术人员将测出它的长度 $L_r$ ，这是浮标6沉入红血细胞层的长度。图示的浮标有一带凹槽的截面形状，这样的形状使浮标有一个较小的截面积，这是为使观测到的离心血样的轴向长度，特别是浅黄层的，不致明显地伸长。浮标6上的槽7是为了保持与管2的同轴关系。上述的槽形截面形状对测量血红蛋白和血细胞比容不是必须的。在本实施例中，浮标的截面积最好不大于管内径截面积的 $2/3$ 。

用于检验的血液必须是抗凝结的。因此应该分离红血细胞和血浆。这可以：在向管子中装血前，先将血液抽入装有血液抗凝剂的容器，或在透明管本身中加入抗凝剂，如肝素或类似药物。也允许直接地从手指穿刺，把血充入管子。

可以理解，本方法与单独测量血红蛋白相比，花费时间更少、操作更为简单。也可以理解光学扫描仪，如同1978年5月S.C. Word Law的美国专利US-4,156,570；或者如1985年12月17日S.C. Word Law的美国专利US-4,558,947所描述的（这两者在此就整体而言专门地被参考地引用）可以用于读出长度和自动地计算结果。由于这种方法依赖于两个基本测量（长度和密度），所以这种检验不需要标准化。

有两种用于完成本发明方法的实施例。第一个如在附图和上面的说明所描述的，第二个是与1976年5月7日公布的S.C. Word Law等的美国专利4077396（所公开的内容就整体而言在此被参考地引用）中描述的装置相同。在后一种情况，沿伸入

浅黄层的浮标的浮力效应必须被考虑。无论如何，这一读数可由微处理机算出，微机最好象下示所阐明的那样被预编程序。

当浮标大到足以浅黄层测量时，如前所说的Ward Law或与他人合作的美国专利中所描述的：膨胀的浅黄层作用在浮标上的浮力效应可按如下方式进行补偿。在使用这种浮标时，浅黄层的三种细胞成分将增加作用在塑料浮标上的浮力。因此在计算红血细胞密度时，必须考虑这一效应。因此将使用下列方程：

$$(D_r - D_f) \times L_r + (D_g - D_f) \times L_g + (D_{lm} - D_f) \times L_{lm} + (D_{pl} - D_f) \times L_{pl} + (D_p - D_f) \times L_p = 0$$

其中 $D_p$ 、 $D_r$ 、 $D_f$ 、 $L_p$ 、 $L_r$ 和 $L_f$ 与前述相同。

$L_{pl}$ 是观察到的浮标进入血样的血小板层的长度。

$L_{lm}$ 是观察到的浮标进入血样的单核/复核白血球层的长度。

$L_g$ 是观测到的浮标进入血样的粒性白血球层的长度；

$D_g$ 是粒性白血球层的密度；

$D_{lm}$ 是单核/复核白血球层的密度；

$D_{pl}$ 是血小板层的密度。

如前述已有技术描述的那样使用的仪器，适用于测量白细胞成分的数量。因此微机中已经输入了如上所述的信息，以及粒性白血球，单/复核白血球和血小板密度。在测量过程中，测量浮标在粒性白血球，单/复核白血球和血小板层中的长度，并输入微处理机。 $L_f$ 值将作为浮标总长度减去浮标在红细胞、粒性白血球、单/复核白血球和血小板层中累积长度的差由微机算出。接着由微机算出 $D_r$ 值，一旦得出 $D_r$ 值，血红蛋白值用第一个例子中的方法确定。

本技术由确定100名病人的血红蛋白和血细胞比容验证，本发明所获得的结果实际上与送院实验室中用自动分析仪获得的结果相同

(相对标准误差为2.7%)。

这是很易于理解的，本发明的方法能够简易而迅速地测量抗凝全血样的血细胞比容和血红蛋白含量。本方法可以由技术比较不熟练的人员实施，并且可以用测量一个血样完成，本方法特别适用于小型医院和内科医生诊所，而且也使用于大型实验室和医院。

从本发明公开的实施例中可以得到许多不脱离本发明构思的改造和变核，因此本发明的保护范围并不只限于所提出的权利要求书。

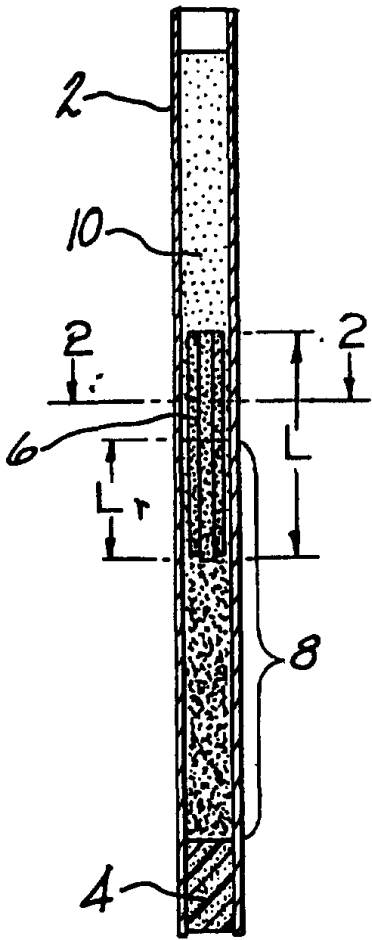


图-1

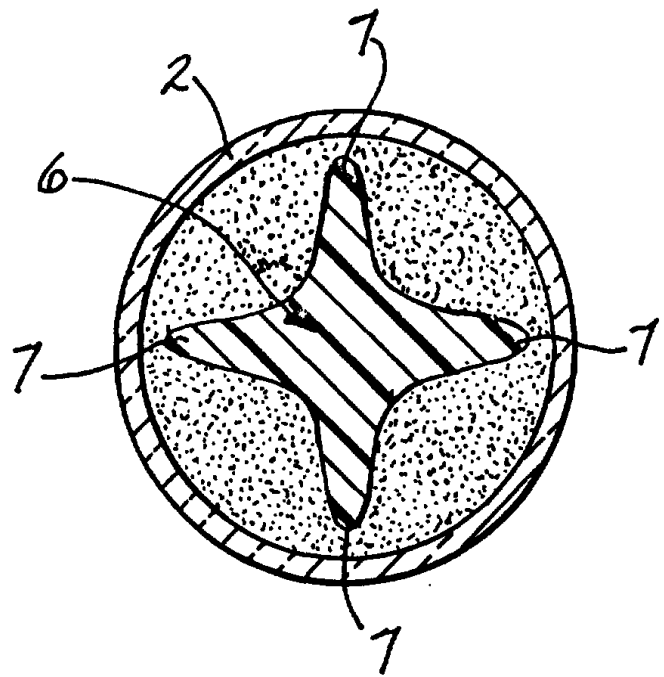


图-2