

用显微镜进行尿液分析的载玻片系统之比较

G. Berry Schumann (NCCLS 委员, 美国尿液分析标准化委员会主席)

Sheryl K. Friedman (NCCLS 委员, ASCP)

80 年代初期, 我们发展了常规尿液分析的镜检标准化系统。1986 年, 我们报告指出, 手工的载玻片系统是可行的, 并远远超过传统的 22×22-mm 玻片方法。自此以后, 不断出现的证据显示, 传统的 "1-drop" 方法是不精确的, 不可以作为标准的技术。一些研究者呼吁就手工与自动化进行尿液镜检的标准化程序进行更深入的比较分析。

最近, 两种新的手工和半自动尿液镜检分析系统被引入实验室。Cen-Slide 系统简便、易用、安全, 是一封闭系统, 省却了移注、吸液等过程。它由一块平整的载玻片组成 (此组件是消耗品)。

R/S2000 系统含一个结构完整的工作站系统。这一系统包括一个蠕动泵、阀门、电路以及一封闭的光学玻片装置, 摒弃了吸管、玻片等消耗品, 两个生产厂家均与 KOVA 系统进行了比较。

以下, 我们就五种仪器的物理性特征进行比较。

Uri-Slide, KOVA, Count-10, Cen-Slide, R/S2000

材料和方法

我们研究了厂商的技术信息、标准化尿液常规分析的过程、步骤。尿液诊断细胞病理学实验室按以下的方法采集尿液标本和细胞悬浮液。从新鲜血样中制备低浓度的红细胞悬浮液。用已知脓尿患者的尿样进行低浓度白细胞的评估, 适度稀释。用宝灵曼的尿十试条测试, 测得 1+、1-2+ 的结果。根据厂商指示, 所有试条反应在推荐的间隔期内作记录。

就以下参数进行评估: *开放式、封闭式

*每例的载玻片数、每一玻片可做的最大病例数

*玻璃或塑料的夹子、玻片

*格栅

*估计的沉渣量

*可观察的平面视野

*箱的深度

*显微镜焦面的数量

载玻片的数量在厂商的信息资料中已有报告。我们测量了显微镜的表面面积和平均结果。Nikon Ladopht 显微镜适用于低倍视野 (LPFS) 和高倍视野 (HPFS)。我们用含大量红细胞、白细胞、管型的沉渣尿样评估焦面的数量。

为确定每一系统的精确性, 我们用低浓度的红、白细胞样和标准的制备方法。我们精确的将每份 10 毫升充分混匀的悬浮液倒入一次性的离心管中, 除 Cen-Slide 外 (因其具备自己的离心管和观察管)。五个显微镜系统自动进行分析, 并按以下的顺序测试: Uri-Slide, KOVA, Count-10, Cen-Slide, R/S2000。在进行了红、白细胞的 10 次单项测试后确定变异系数。在五次随机读取 HPFS 结果后, 评估分配量、每一 LPF 报告管型的数量。细菌、真菌、晶体、粘液和上皮细胞在每一 HPE 下分级为 0-4+ 等级。

将已知含有粘液、晶体尿、血尿、脓尿、菌尿、管型、上皮细胞的尿样稀释至 3mL, 每个系统均可对丰富的沉渣成分自动进行分析。我们评估沉渣的分布以及对以上提及的成分的目视分类进行鉴定。

结 论

物理特征:

沉渣量及分布: 每个玻片系统的物理特征以及区别如表 1 所示。低细胞性及高细胞性尿样标本的量无显著性差异。我们发现, R/S2000 对单层沉渣的输送控制得最好。开放式系统需具备更高的操作技能。总之, 沉渣的初期运输对开放式系统而言相对困难。

R/S2000 能持续性对沉渣进行完全分配。另外，此系统只需具备一般的操作技能即可，这主要归因于其仪器部分能自动地对沉渣进行装载。其它系统是手工操作，因此要求较高的操作技巧，而且因人而异。R/S2000 对多标本的观察，只需很短的时间。

显微镜观察视野：Uri-Slide的观察视野最宽，可达 90mm²，Cen-Slide为 88 mm²，R/S2000 为 38 mm²。Count-10 和Cen-Slide可观察的焦面数量很多。所有的系统在 30 秒内均可观察到单层的细胞。

显微镜法：

显微清晰度：玻片材料组成如表 1 所示。R/S2000 有一永久性的玻璃容器，与塑料片相比较，R/S 由于具备高质量的光学玻璃片而致其影像的清晰度非常高。

红细胞尿：略。结果如表 2 所示。总之，所有系统很易识别红细胞、同形的红细胞，即使是扁形的也能与异形的红细胞区分开来。

白胞尿：表 3 显示镜检低浓度白细胞尿样的结果。微量至 1+，1 至 2+的白细胞酯酶与HPF下的白细胞数相关。范围、平均值和CV_s均在表 3 中显示。Cen-Slide的CV值最高。

白细胞形态在所有系统中均相似。WBCS 能区别于RBCS 和Urothrlial 细胞，与细胞诊断尿分析法相比较，所有系统都显示出WBC 很难与肾小管细胞区分开来。

已知细胞型样本：表 4 总结了确定沉渣成分的步骤。所有系统均能识别普通的沉渣成分，但是，这些系统不能鉴别上皮细胞的改变以及肿瘤细胞的变化。显微镜不能识别细胞核和胞浆的特征。

讨 论

用显微镜检查尿沉渣最重要的是区分正常与异常的沉渣成分。如确定是否有特殊的增长或判断某种沉渣细胞的存在或确定这种增长是否指示尿道的病理特征，这样，沉渣的检测结果必须精确、准确、重复性好。尿液镜检学家应发展、完善实验室程序，促进对疾病的准确识别和诊断。

我们评估了两种新型、封闭的显微镜玻片系统用于常规的尿液镜检(R/S2000 和 Cen-Slide)。R/S2000 由于具备高质量的玻片，其光学分辨率很高。由于具备高质量的玻片，其光学分辨率很高。由于两种仪器均是封闭的，这样，在标本处理上很安全，省却了移

液管、玻片装置、夹片等。R/S2000 在数秒内显示尿沉渣结果，并只有 1 个至 2 个焦点。

从技术上讲，很多的步骤需要使用开放的系统。比较而言，R/S2000 操作更简便，无需培训，忽略人为因素造成制备沉渣玻片的技术性差异。在 1974 年，Winkleley 其同事报告指出尿液镜检是不精确的。由于技术的差异、沉渣的量、对发现沉渣的结果的整理以及显微镜的差异均造成镜检结果不精确。R/S2000 解决了大部分这样的问题。

血尿和脓尿是尿道疾病的重要临床指征。在研究人员的办公室和临床实验室经常对血尿和脓尿进行鉴定。正常人尿液中，每 HPF 下至多可发现 3 个红细胞、2 个白细胞。如果每 HPF 下出现 3 个以上的红细胞，提示有必要对泌尿生殖道进一步鉴定。然而其它的研究人员用这些系统鉴定得出高水平的 RBCS 和 WBCS，所以我们的研究必须确定介于正常与异常交叉地带的红、白细胞水平的判断。R/S2000、KOVA 和 Uri-Slide 系统测出的结果相似。CVS 具可比性，除 Cen-Slide 系统具较高的 CV，表 5 显示厂商提示的常规镜检项目的范围。

实验室应制定常规尿液检查及急诊尿检的标准。在检测已知的尿液成分的情况下，R/S2000 的检测结果具可比性，且被特异性细胞尿液诊断结果所确认。

我们认为 R/S2000 无显著性缺陷。我们示对清洁和保养作评估。含大量粘液和纤维的标本需要充分清洗系统，以防交叉污染。这并不成问题，因为每个清洗耳恭听过程仅需 6 秒。Cen-Slide 的最大缺陷是不能适用于各种显微镜。

70 和 80 年代，临床实验室往往选择性地决定哪些尿液标本需要镜检。在 1979 年，提出了宏观进行尿液分析，并且作为一种筛选的方法。显微镜检查只在分析仪检查结果呈阳性或已知患者有肾脏或尿道疾病时使用。从此以后，检测程序有了改进传统的方法进一步制定标准化的镜检程序。这两种新型的封闭式系统的最重要的特征就是能快速鉴定尿液沉渣成分。当我们处理前线的尿液测试诊断，用 R/S2000 系统可提高区分正常、异常尿标本的效率。这些新的系统提供实际、有效的方法快速鉴定沉渣成分，并监测微量血尿、脓尿、尿道疾病、结晶尿以及上皮细胞的变化等，这些系统应能引起实验室的特殊兴趣。

表 1: 常规尿液检测中传统非标准准确性方法与标准方法的比较

参数	传统方法	Uri-Slide	KOVA	Count-10	Cen-Slide	R/S2000
系统类型	开放	开放	开放	开放	封闭	封闭
玻片数	1	1	1	1	1	1
最多玻片数/ 测试区数	1	4, 10	4, 8	10	1	NA
载玻片	玻璃	塑胶	塑胶	塑胶	塑胶	玻璃
盖玻片	玻璃	玻璃	塑胶	塑胶	塑胶	玻璃
是否有网格线	无	有	有	无	无	有
尿沉淀容积	50ml	16ml	6ml	6ml	30ml	5ml
观察区 (mm ²)	484	90	32	36	88	38
放大 100 倍	144	25	9	12	36	21
放大 400 倍	2116	420	119	49	432	196
	1-2	1-2	1-2	3-4	3-4	1-2

Uri-slide (Fishebrand, Pittsburgh, Pa): KOVA(ICL Scientific, Fountain valley, Calif);
 Count-10 (V-Tech, Palm Desert, Calif):Cen-Slide(DavstarCalifornia, NewportBeach, calif);
 R/S2000 (DiaSys, Waterbury, Conn).

表 2: 五种显微方法检测尿液红细胞的比较

系统	血/血红蛋白试剂条反应					
	痕量——1+			2+		
	范围	数值	CV+ (%)	范围	数值	CV+ (%)
Uri-Slide	1-2	2	0.1	8-13	11	0.9
KOVA	0-2	1	0.1	4-10	7	1.7
Count-10	0-1	1	0.1	1-7	4	1.0
Cen-Slide	0-1	1	0.1	40-73	57	20.0
R/S2000	0-1	1	0.1	4-11	8	1.4

Uri-slide (Fishebrand, Pittsburgh, Pa): KOVA(ICL Scientific, Fountain valley, Calif);
 Count-10 (V-Tech, PalmDeseCalif):Cen-Slide(DavstarCalifornia, NewportBeach, calif);
 R/S2000 (DiaSys, Waterbury, Conn).
 +CV 为变异系数

表3: 五种显微方法检测尿液白细胞的比较

系统	血/血红蛋白试剂条反应					
	痕量——1+			2+		
系统	范围	数值	CV+ (%)	范围	数值	CV+ (%)
Uri-Slide	4-6	5	0.1	22-27	24	2.0
KOVA	2-3	3	0.1	14-18	16	1.7
Count-10	2-5	3	0.1	12-20	16	2.0
Cen-Slide	2-5	3	0.1	20-45	33	16.0
R/S2000	2-4	3	0.1	14-20	17	1.7

Uri-slide (Fishebrand, Pittsburgh, Pa): KOVA(ICL Scientific, Fountain valley, Calif);
 Count-10(V-Tech, Palm Desert Calif):Cen-Slide (DavstarCalifornia, NewportBeach, Calif);
 R/S2000 (DiaSys, waterbury, Conn).
 +CV 为变异系数

表4: 常规显微尿液检测的有关参数

系统	RBCS/HPF	WBCS/HPF	Casts/LPF	结晶	细菌
Uri-Slide	0-3	0-8	0-2 透明管形		
KOVA	0-3	0-5		0-3	0-5
Count-10					
Cen-Slide					
R/S2000	0-3	0-5	0-2 透明管形		

表5: 标准试条实验与四种显微尿液检测方法和尿液细胞诊断比较

案例	试条实验	Uri-Slide (10HPFS)	KOVA (10HPFS)	Count-10 (10HPFS)	R/S2000 (10HPFS)	细胞诊断及尿分析
1	3+血	>1000RBCS	>1000RBCS	>1000RBCS	>1000RBCS	同形血尿
	3+蛋白 3+酯酶	>1000WBCS	>1000WBCS	>1000WBCS	>1000WBCS 粘液	炎症标记 粘液
2	3+血	4-6RBCS	2-4RBCS	0-1RBCS	2-4RBCS	同形血尿
	3+蛋白 1+酯酶	90— 100WBCS	80— 100WBCS	90— 105WBCS	100— 120WBCS	炎症标记
3	3+血	25— 35 RBCS	25— 30 RBCS	30— 35 RBCS	20— 35 RBCS	同形血尿

	3+蛋白 0 酯酶	0—1WBCS 草酸钙 上皮	0—1WBCS 草酸钙 上皮	0—1WBCS 草酸钙 上皮	0—1WBCS 草酸钙 上皮	草酸钙 上皮
4	2+血	5—8RBCS	8—10RBCS	6—8RBCS	4—8RBCS	变形血尿
	2+蛋白 0 酯酶	0—1WBCS 草酸钙 三联磷酸盐	0—1WBCS 草酸钙 三联磷酸盐	0—1WBCS 草酸钙 三联磷酸盐	0—1WBCS 草酸钙 三联磷酸盐	晶型 局部缺血性坏死
5	2+血	8—12RBCS 畸形	5—10RBCS 畸形	4—6RBCS 畸形	10—15RBCS 畸形	肾出血
	2+蛋白 1+酯酶	4—6 WBCS Casts/LPF 0—1 透明 0—1 颗粒 0—1RBCS	2—4 WBCS 0—1 透明 0—1 颗粒 0—1RBCS	2—4 WBCS 0—1 透明 0—1 颗粒	2—4 WBCS 0—1 透明 0—1 RBCS	粘液 病理性案例
6	痕量血	0—1RBCS	0—1RBCS	0RBCS	0—1RBCS	
	3+蛋白 2+酯酶	90— 105WBCS 2+真菌	80—100 WBCS 2+真菌	90— 105WBCS 2+真菌	95— 115WBCS 2+真菌	真菌性尿道感染
7	3+血	7—18RBCS	7—15RBCS	7—10RBCS	6—10RBCS	
	3+蛋白 2+酯酶	25— 35WBCS 2—3+真菌	25— 35WBCS 2—3+真菌	20— 22WBCS 2—3+真菌	20— 30WBCS 2—3+真菌	细菌性尿道感染
8	0 血	2—3RBCS	1—2RBCS	0—1RBCS	0—1RBCS	0—1RBCS
	3+蛋白 0 酯酶	0—1WBCS 三联磷酸盐 草酸钙	0—1WBCS 三联磷酸盐 草酸钙	0—1WBCS 三联磷酸盐 草酸钙	0—1WBCS 三联磷酸盐 草酸钙	正常 三联磷酸盐 草酸钙
9	0 血	0—1RBCS	0—1RBCS	0—1RBCS	0—1RBCS	正常
	痕量蛋白 0 酯酶	0—1WBCS 尿酸	0—1WBCS 尿酸	0—1WBCS 尿酸	0—1WBCS 尿酸	正常 尿酸
10	痕量血	5—8RBCS	5—10RBCS	4—6RBCS	4—8RBCS	
	3+蛋白 0 酸酶	6—14WBCS 表皮	8—18WBCS 表皮	10—15WBCS 表皮	5—10WBCS 表皮	

Uri-slide (Fishebrand, Pittsburgh, Pa); KOVA(ICL Scientific, Fountain valley, Calif);
Count-10 (V-Tech, Palm Desert, Calif); R/S 2000 (DiaSys, waterbury, Conn).