

DiaSys R/S 2003 尿沉渣定量分析工作站 流动计数室计数容积的临床实验研究

郑小玲 许建邦 邓小燕 冯桂玲

[摘要] 目的 探讨 DiaSys R/S 2003 尿沉渣定量分析工作站流动计数室 (OSA) 细胞分布, 提出临床应用时计数的格数。方法 按美国临床实验室标准化委员会文件 GP16-A 及中华医学检验分会推荐的《尿液沉渣检查标准化的建议》文件的要求用流动计数室对不同细胞数量临床尿样进行计数容积分析。结果 同一细胞数量值尿样本在流动计数室 4 个大方格之间分布比较均匀, 误差值较少; 不同细胞数量值尿样本在流动计数室 4 个大方格中计数值非常接近, 误差值在 0.16-2.58 之间, 同一大方格的标准差在 4.77-5.33 之间; 不同数量值细胞在 4 个大方格中相同位置计数 1、3、5、25 个小方格的细胞值与计数 100 个小方格细胞值比较, 除 <50 个/ μ l, 离心沉淀后浓缩尿的细胞数误差较大外, >51 个/ μ l 离心沉淀后浓缩尿细胞计数值和换算值非常接近。结论 尿液细胞在 OSA 各计数格分布均匀, 当每个计数小格离心沉淀后浓缩尿细胞数在 0-3 个时, 应计数任何一大方格中央和相邻 3 个小方格, 当超过 3 个时, 计数任何一个大方格中央 1 个小方格, 管型计数 1 大方格。

[关键词] 尿沉渣; 定量计数; 流动计数室

Research on the optical slide assembly (OSA) volume of DiaSys R/S 2003 urine sediment quantitative analysis workstation ZHENG Xiao-ling, XU Jian-bang, DENG Xiao-yan, LIN Yu-hua, FENG Gui-ling. Clinical Laboratory of The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510260, China

[Abstract] **Objective** To discuss the cell distribution in the OSA of DiaSys R/S 2003 Urine Sediment Quantitative Analysis Workstation and raise the point of grid numbers which should be counted during clinical application. **Method** Comply with the requirement of NCCLS document GP16-A and "Proposal of Standardization for Urine Sediment Exam" which recommended by the Chinese Society of Laboratory Medicine to analyze the urine samples with various quantities by OSA. **Results** For the urine samples which had same cell number, they were equably distributed in the four big grids, and the deviation value was small; For the urine samples which had different cell number, they were distributed with close counting quantity in the four big grids, and the deviation value was between 0.16~2.58, and the standard deviation (SD) value in same big grid was between 4.77~5.33; Compared the cell numbers which counted in 1, 3, 5, 25 small grids that located on the same position of the four big grids with the numbers which counted in 100 small grids and found that for the concentrated urine which had been centrifuged and the cell number <50 /ul, its deviation value of cell counting was big, while for the cell number >51 /ul, the cell counting value and conversion value are very close. **Conclusion** The urine cells were equably distributed in each OSA grid. When the quantity of concentrated urine cell which had been centrifuged was 0~3 in each small grid, the neighboring 3 small grids which located in the center of each big grid should be counted; When the quantity was over 3, only 1 small grid which located in the center of each big grid should be counted; When it was cast, only 1 big grid should be counted.

[Key words] Urine sediment; Quantitative counting; Optical slide assembly

作者单位: 510260 广州市, 广州医学院附属二院

尿沉渣定量分析工作站流动计数 (OSA) 的计数 容积, 为临床提供一种既能达到准确定量、满足临床

诊断要求,又能提高工效、减轻劳动(强度的计数方法)。尿沉渣显微镜检查作为确证尿液强度的计数方法,有形成分性质“金标准”的观点已在临床界达成共识,使用标准化的沉渣计数板和用单位容积定量报告尿细胞、管型数值,更是实施《尿沉渣检查标准化》的重要环节。鉴于目前国内实验室使用DiaSys R/S 2003 尿沉渣定量分析工作站与日俱增,为确定工作站在临床应用时流动计数室强度的计数方法,在实践中,我们按照《NCCLS文件GP16-A^[1]》和《尿液沉渣检查标准化的建议^[2]》要求,通过用不同细胞数量尿样本规范操作、在充池后计数全部 100 个计数格细胞数,再与在 4 个大方格中相同位置分别计数的 1、3、5、25 个小方格细胞数比较、初步探索出不同细胞数量的尿样本计数少数容积仍可获满意结果的方法。现报道如下。

材料和方法

一、材料

1. 仪器: DiaSys R/S 2003 尿沉渣定量分析工作站(US DiaSys Corporation 产品)。

2. 试剂: 稀释清洗液: 生理盐水; 消毒漂洗液: 5%次氯酸钠溶液。

3. 标本: 用一次性尿杯随机收集住院患者清晨中段尿>50ml, 立即送检, 共 66 份。

二、方法

1. 取充分混匀尿液 10ml 于有凸头专用塑料离心管中, 以相对离心力(RCF) 400r/min 离心沉淀 5min;

2. 取出, 倾上层尿液 9.8ml, 留下尿沉渣 0.2ml (尿液浓缩 50 倍);

3. 将可调加样器插入离心管中;

4. 按压工作站[标本](Sample)键, 全部尿沉渣自动吸入流动计数室(OSA)中。

5. 计数格以每一小格为单位, 全部计数 4 个大方格共 100 个小方格的红、白细胞数。同时分别计数 4 个大方格中相同位置细胞值: 中央 1 小方格, 中央小方格上下或左右相邻 3 个小方格, 中央小方格“+”相邻 5 个小方格; 左斜线(\) 5 个小方格, 右斜线(/) 5 个小方格, 中央及上、下、左、右四边角共 5 个

方格细胞数。记录计数值并换算为不离心的混合尿^[3]数值。

6. 全部标本在取材后 2h 内完成。

7. 统计学处理: 经离心沉淀的浓缩尿充池后, 按每微升尿含红、白细胞总数范围划分: 0-25, 26-50, 51-100, 101-150, 151-200, 201-300, 301-400, 401-500, 501-600, 601-700, 701-800, 801-900, 901-1000, >1000 共 14 组, 把相应细胞值例数归类列入。

分别计数各组 4 个大方格尿红、白细胞数(Σx), 以均值(\bar{x})表示, 并换算为不离心的混匀尿^[3]每微升细胞值。(如: 计算离心尿 1 个小方格细胞数值 $\times 2 =$ 个/ μl ; 计算离心尿 3 个小方格细胞数值 $\times 0.67 =$ 个/ μl ; 计算离心尿 5 个小方格细胞数值 $\times 0.4 =$ 个/ μl ; 计算离心尿 25 个小方格细胞数值 $\times 0.08 =$ 个/ μl ; 计算离心尿 100 个小方格细胞数值 $\times 0.02 =$ 个/ μl 。

分别计算各个大格(25 个小格)与 100 个小方格之间的误差值。计算公式:

$$\mu(\%) = \frac{\bar{x}_I - \bar{x}}{\bar{x}_i} \times 100$$

μ : 误差值

\bar{x}_i : 100 个小格平均数

\bar{x} : 25 个小格平均数

同时计算各个大方格计数值标准差(s)。

结 果

1. 同一数量范围尿红、白细胞在 DiaSys OSA 各个大方格中分布比较均匀, 误差值比较少。不同数量范围尿红、白细胞在 4 个大方格之间计数值非常接近, 误差值在 0.16-2.58 之间, 同一大方格标准差在 4.77-5.33 之间。(见表 1)

2. 不同数量范围尿红、白细胞在 4 个小方格中相同位置上分别计数 1、3、5、25 个小方格的细胞值与计数 100 个小方格细胞值比较, 除细胞数<50 个/ μl 离心沉淀后浓缩尿细胞计数误差较大外, >51 个/ μl 各范围离心沉淀后浓缩尿细胞计数值及换算为每微升细胞值与计数 100 个小方格细胞值及换算为每微升细胞值基本一致(表 2)。

表 1: 不同量红、白细胞尿样本在 DiaSys OSA 4 个大方格中计数结果 (n=66)

范围	例数	4 (大格)		I (大格)			II (大格)			III (大格)			IV (大格)		
		计数值	换算值	计数值	换算值	$\mu\%$	计数值	换算值	$\mu\%$	计数值	换算值	$\mu\%$	计数值	换算值	$\mu\%$
0~	10	11	0.22	2.5	0.050	9.09	2.5	0.050	9.09	2.7	0.054	1.82	3.3	0.066	20.00
26~	5	38	0.76	7.8	0.156	18.75	7.8	0.156	18.75	11.0	0.220	18.75	11.4	0.228	18.75
51~	5	81	1.62	22.0	0.440	8.11	19.4	0.388	4.67	19.4	0.388	2.70	20.2	0.404	0.74
101~	5	124	2.48	30.4	0.608	1.45	31.2	0.624	0.97	30.8	0.612	1.45	31.6	0.632	1.78
151~	5	165	3.30	41.4	0.828	0.12	43.0	0.860	4.96	41.2	0.824	0.36	39.4	0.788	4.72
201~	5	262	5.24	67.4	1.348	3.06	62.6	1.252	4.43	66.6	1.332	1.83	65.4	1.308	0.15
301~	5	352	7.04	90.4	1.808	3.06	87.6	1.752	0.57	84.2	1.684	4.43	89.8	1.796	1.93
401~	5	434	8.68	112.0	2.240	3.20	110.0	2.200	1.38	104.2	2.084	3.99	107.8	2.156	0.67
501~	5	569	11.38	143.6	2.872	0.88	146.0	2.920	2.67	136.0	2.720	4.38	143.4	2.868	0.84
601~	5	631	12.62	151.2	3.024	4.12	162.4	3.248	3.01	152.6	3.052	3.32	164.8	3.300	4.46
701~	2	751	15.02	174.5	3.490	7.06	206.5	4.130	9.98	186.0	3.720	0.93	184.0	3.680	1.99
801~	2	870	17.40	214.5	4.290	1.38	216.0	4.320	0.69	228.5	4.570	5.06	211.0	4.220	2.99
901~	2	956	19.12	260.0	5.200	8.78	240.5	4.810	0.68	225.0	4.500	5.81	230.5	4.610	3.51
1000~	5	1917	38.34	477.3	9.546	0.42	490.3	9.806	2.30	506.8	10.14	5.74	442.6	8.852	7.65
Σx	66	7161	143.22	1794.4	35.89		1825.8	36.51		1795	35.9		1745.2	34.9	
\bar{x}		512	10.23	128.2	2.56		130.4	2.61		128.2	2.56		124.7	2.49	
$\mu\%$					0.16			1.88			0.16			2.58	
S		5.11		5.12			5.25			5.33			4.77		

表 2: 相同位置计数 1、3、5、25 小格细胞值与计数 100 个小格细胞值比较

范围	例数	(个/ μL)																	
		100 个小格		1 小格 (中央)		3 小格 (直线相邻)		3 小格 (横线相邻)		5 小格 ("+" 字相邻)		5 小格 (左斜线相邻)		5 小格 (右斜线相邻)		5 小格 (中央及四角)		25 小格 (一大方格)	
		离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算	离心尿	换算
		计数值	值	计数值	值	计数值	值	计数值	值	计数值	值	计数值	值	计数值	值	计数值	值	计数值	值
11-38	15	16	0.32	0.23	0.46	0.41	0.27	0.45	0.30	0.88	0.35	0.73	0.29	0.82	0.33	0.85	0.34	4.00	0.32
81-165	15	123	2.46	1.07	2.14	3.28	2.20	2.90	1.94	7.08	2.83	7.97	3.19	7.60	3.04	7.79	3.12	30.90	2.47
261-434	15	349	6.98	3.34	6.68	10.30	6.90	10.20	6.83	17.20	6.88	17.00	6.80	17.40	6.96	17.90	7.16	87.40	6.99
569-996	16	763	15.30	7.34	14.70	23.00	15.40	22.30	14.90	37.40	14.90	36.50	14.60	38.00	15.20	38.20	15.30	190.80	15.30
1018-4000	5	1917	38.30	18.50	37.00	55.40	37.10	58.40	39.10	97.80	39.10	94.40	37.80	96.80	38.70	9.91	39.60	479.30	38.30

讨 论

DiaSys R/S 2003 尿沉渣定量分析工作站是按照美国临床实验室标准委员会 (NCCLS) 和临床实验室

改进法案 (CLIA) 要求研制生产的, 已获美国食品药品监督管理局 (FDA) 和保险者实验室 (ML) 认可, 中国国家食品药品监督管理局 (SFDA) 和国家知识产权局注册的国际专利产品。它最大特点是通过可调加样器均匀加样和 OSA 装置来实现尿沉渣形态学分析的标准定量。

OSA是由经高温、高压处理优质光学玻璃按国际厚度标准制造, 内有用激光刻成 4 个大方格 (容积为 $1\mu\text{l}$), 每个大方格分为 25 个小方格 (容积为 $0.25\mu\text{l}$), 每个小方格容积为 $0.01\mu\text{l}$ 。它通过微电脑控制的蠕动尿作用把尿沉渣自动吸入并重悬浮在OSA中, 从而使细胞较均匀地分布。本组资料用不同细胞数量的临床尿样, 观察和分析了 6600 个计数格细胞分布, 进一步证明: 1、同一细胞数量尿样本在OSA 4 个大方格之间分布比较均匀, 误差值较小; 2、不同细胞数量尿样本在OSA 4 个大方格中计数值非常接近, 误差值在 0.16-2.58 之间; 3、计数容积与分布误差值呈反比。与黄远苟等^[4]报告相等。

分析浓缩尿在 4 个大方格中同位置计数 1、3、5、25 个小格细胞数值与计数 100 个小方格细胞数值比较, 发现 <50 个/ μl 时, 计数误差值: 1 小格为 39.4%, 3 小格为 13.6%, 5 小格为 0.75%, 计数 25 小格无误差; 在 $>51\mu\text{l}$ 时, 计数 1、3、5、25 个小方格和 100 个小方格细胞计数值和换算值都非常接近。从理论上分析, 如经离心沉淀浓缩 50 倍尿液在 1 个小方格 ($0.01\mu\text{l}$) 内有 1 个细胞时, 相当于在不离心混合尿每微升有 2 个细胞 ($1\times 100\div 50$); 计数 3 个小方格 ($0.03\mu\text{l}$) 内有 3 个细胞时, 相当于不离心的混合尿每微升有 2 个细胞 ($3\times 33.3\div 50$), 计数 5 个小方格 ($0.05\mu\text{l}$) 内有 5 个细胞时, 相当于在不离心的混合尿每微升有 2 个细胞 ($5\times 20\div 50$); 以此类推。因此, 当细胞在 OSA 均匀分布时, 计算容积相应减少是可行的。

上海瑞金医院在《美国 DiaSys 尿沉渣定量分析工作站的误差分析》文中介绍: 选取 5 个范围值有代表性的有效样本通过华东师范大学数学统计系提供的“不重置抽样的抽样平均误差”公式计算, 当每个计数格平均值细胞在 0-5 个之间时, 两个计数格平均细胞数误差为 0.82 个; 5-10 个之间时, 两个计数格平均细胞数误差 1.7 个; 在 10-20 个之间时, 两个计数格平均细胞数误差为 2.56 个; 在 >20 个以上时, 两

个计数格平均细胞数误差为 3.38 个。结论是: 根据计算, 以两个计数格计数的误差值不会超过国际标准表示方法和平布视野的规定范围。

根据临床实验研究结果和结合临床上应用 DiaSys R/S 2003 尿沉渣定量分析工作站 3 年多的经验, 对 OSA 计数容积提出如下建议:

1. 对尿沉渣阴性尿样本, 按[保存]键默认;

2. 当每个计数小方格离心沉后浓缩尿 (50 倍) 的平均细胞在 0-3 个时, 可计算任何一个大方格中央相邻 3 个小格;

3. 当每个计数小方格离心沉淀后浓缩尿 (50 倍) 的平均细胞值在 3 个以上时, 计算任何 1 个大方格中的中央 1 个小格;

4. 管型体积较大, 应计算一大方格 (25 个小格), 必要时可酌情增加。

这样既能防止临界值样本漏检, 满足临床诊断需要, 保证结果的准确性, 又能提高镜检分析速度, 减轻操作者的劳动强度, 缩短报告时间。

尿沉渣有形成分的量, 与受检对象饮水、饮食、运动、情绪、排尿频度、样本采集时间……等因素有密切关系, 分析结果时应予注意。

本试验随机选择病例的尿样中, 仅有 3 例出现管型、故未列入分析。所检查的尿样中, 上皮细胞以表层鳞状上皮细胞居多, 临床意义不大, 也不列入分析中。

细胞在 OSA 各计数格分布均匀, 根据临床实践, 当每个计数小格离心沉淀后浓缩尿细胞数在 0-3 个时, 可计数任何 1 个大方格中央相邻 3 个小方格; 当每个计数小方格离心沉淀后浓缩尿平均细胞数在 3 以上时, 计数任何 1 个大方格中央的 1 个小方格; 管型应计数 1 个大方格 (25 个小方格)。

参 考 文 献

- 1 中国临床检验标准专业委员会 (翻译). 尿液分析和尿液样本的收集、运输及储存;批准指南.北京:CCCLS,2001.
- 2 丛玉隆.尿液沉渣检查标准化的建议.中华检验医学杂志,2002,4:249.
- 3 叶应妩,王毓三,主编.全国临床检验操作规程.第2版.南京:东南大学出版社,1997.134-136.
- 4 黄远苟,周强,邓小燕,等.DiaSys 尿沉渣定量分析工作站流动计数室计数容积探讨.国外医学临床生物化学与检验学分册,2001, 22:54-56.