

表 1 两种提取方法的灵敏度比较

方法	稀释倍数							回归系数( <i>r</i> )
	未稀释	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	
氯仿-异丙醇法	7.12	6.51	5.14	4.53	3.60	—	—	0.987
核酸提取柱法	7.84	6.96	5.88	4.81	3.98	2.88	—	0.999

—: 低于检测限。

**2.3 干扰试验结果** 血清中黄疸的干扰对两种提取方法差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在血清中血红蛋白浓度在 6.0 g/L 时,对两种提取方法的干扰差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),血红蛋白浓度在 60.0 g/L 时,对两种提取方法的干扰差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 黄疸和溶血对两种提取方法的干扰\*

干扰物质	干扰物浓度	氯仿-异丙醇法	核酸提取柱法
总胆红素	22.0 μmol/L	6.51	6.98
	220.0 μmol/L	6.60	6.99
血红蛋白	6.0 g/L	6.55	6.99
	60.0 g/L	5.61	6.92

\*: 检测结果以定量结果的对数值表示;氯仿-异丙醇法的对照标本检测结果为 6.50,核酸提取柱法的对照标本检测结果为 6.96。

### 3 讨论

近年来临床上多采用荧光定量 PCR 技术进行 HCV RNA 定量检测,这种方法闭管操作,不易引起产物污染,具有敏感、特异、快速的优点<sup>[1]</sup>。荧光定量 PCR 的实验要求较高,其中提取核酸作扩增反应模板是其重要的前期步骤,处理方法的差异可直接影响 PCR 扩增效果与实验检测结果<sup>[2]</sup>。本研究采用了氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法两种方法提取 HCV RNA 后进行荧光定量检测,实验结果表明,这两种核酸提取方法的灵敏

度差别不大,基本都能满足临床需要;但核酸提取柱法的重复性明显优于氯仿-异丙醇法。

黄疸和溶血是血清检测中最常见的影响因素,在检测过程中,标本的成分含量差异、生产厂家试剂采用的不同核酸提取方法,都可影响标本中 HCV RNA 模板的质量,以致检测结果出现较大的差异<sup>[3]</sup>。干扰试验结果表明,上述两种核酸提取方法对黄疸标本的抗干扰能力较强,但对溶血较严重的标本提取核酸时,核酸提取柱法更具有优势,该法操作简便快速,防止了 RNA 的降解,能去除标本中存在的干扰物质(胆红素和血红蛋白等),使核酸模板纯化效率高、误差小,保证了 HCV RNA 荧光定量检测的准确性。

### 参考文献

- [1] 姚磊,张征,黄绍光,等.乙型肝炎不同血清学模式 HBV DNA 定量检测及其与 Pre-S1 关系的研究[J].重庆医学,2006,35(1):60-62.
- [2] 李金明.实时荧光 PCR 技术[M].北京:人民军医出版社,2007.
- [3] 刘佳,徐军,王雪飞,等.3 种 HBV DNA 提取方法对荧光定量 PCR 检测结果影响的比较[J].中华检验医学杂志,2008,31(7):780-783.

(收稿日期:2012-05-15)

## • 检验技术与方法 •

# 某型号尿液分析仪计数脑脊液红细胞和白细胞的可行性分析

孙子涵,胡成进,胡志德

(中国人民解放军济南军区总医院实验诊断科,济南 250031)

**摘要:**目的 评价 UF-1000i 尿液分析仪用于检测脑脊液红细胞和白细胞计数的可行性。方法 以 UF-1000i 尿液分析仪对 396 例脑脊液标本进行细胞计数,并与手工计数结果进行比对。采用 Spearman 法和 Bland-Altman 法分析两种检测方法之间是否具有可比性。结果 两种方法检测结果之间白细胞和红细胞计数的 Spearman 相关系数( $r^2$ )分别为 0.96 和 0.99( $P$  均小于 0.01)。Bland-Altman 分析发现,当脑脊液细胞计数越低,两种方法的一致性越好。结论 UF-1000i 尿液分析仪对脑脊液细胞计数与手工计数法之间具有较高的一致性,可以用于脑脊液细胞计数,尤其是当脑脊液细胞计数较低时。

**关键词:**红细胞计数; 白细胞计数; 脑脊液; 尿液分析仪; 显微镜检查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)12-1470-03

脑脊液红细胞和白细胞计数对于各种中枢神经细胞疾病的诊断和治疗监测具有十分重要的意义<sup>[1]</sup>。传统的细胞计数方法主要是采用 Neubauer 血细胞计数板对脑脊液红细胞和白细胞进行计数。虽然手工计数法在临床上已经得到了广泛的应用,但是也或多或少存在一些缺陷,主要表现在:(1)检验过程相对繁琐;(2)检测结果受检验者主观因素影响较大,不同检验技师对同一标本的细胞计数结果可能存在较大差异。因此,特别需要一种快速、客观的脑脊液细胞计数方法,以为中枢神

经细胞疾病的诊断提供科学的依据<sup>[2]</sup>。

已有少量的研究表明,Sysmex 公司生产的 UF-100i 尿液分析仪对于脑脊液细胞计数结果总体上相差并不大<sup>[3-5]</sup>,但是这些研究的样本量相对偏小,且未对 UF-100i 计数与手工计数之间的相关性和一致性作出评价。UF-1000i 是日本 Sysmex 公司生产的较为高端的尿液分析仪,其采用红色半导体激光、核酸荧光染色等方法计数,结合流式检测原理,可以短时间内实现对尿液有形成分的定量分析,其性能较 UF-100i 有较大改

进<sup>[6]</sup>。该仪器的细胞计数功能较为强大,对尿液红细胞和白细胞的计数结果对临床疾病的诊疗具有较大帮助<sup>[7-8]</sup>。

到目前为止,对于 UF-1000i 能否用于脑脊液细胞计数尚不清楚。在本研究中,笔者采用 UF-1000i 对脑脊液中的细胞进行分析,评价其与脑脊液计数的金标准手工计数之间的一致性,报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 396 例脑脊液标本均为 2010 年 1 月至 2011 年 7 月之间来本科室进行脑脊液常规检查的标本。标本来源的病例以神经内科、神经外科和急诊科居多,病种以脑部肿瘤、脑出血、脑结核、颅脑创伤为主。所有标本从采集到检测(包括手工计数和 UF-1000i 检测)的时间均未超过 4 h。

**1.2 仪器与试剂** UF-1000i 尿液分析仪及配套试剂、质控品为日本 Sysmex 公司产品。在采用 UF-1000i 对脑脊液进行细胞计数时,按照本室标准操作规程(SOP)文件对尿液细胞计数的要求,先将标本摇匀,然后采用手工进样模式对脑脊液内的红细胞和白细胞进行计数。

### 1.3 方法

**1.3.1 UF-1000i 检测** 在收到脑脊液标本后,将脑脊液标本颠倒混匀 3 次,然后采用 UF-1000i 的手工进样模式对脑脊液内的红细胞计数和白细胞计数进行分析。

**1.3.2 手工计数法** 参考《全国临床检验操作规程》的规定对脑脊液内的红细胞和白细胞进行计数<sup>[9]</sup>。由两名经验丰富的检验技师在相互不知道对方计数的情况下分别进行计数,当一方较另一方检测结果增加或者减少超过 20% 时,双方通过讨论、重新计数的方式确定最终检测结果;若两名技师计数结果之间的差异在 20% 以内时,则取两名技师计数结果的均数作为最终检测结果。

**1.4 统计学处理** 采用 Spearman 相关分析评价手工计数结果与 UF-1000i 检测结果之间的相关性。采用 Bland-Altman 法分析两种方法在不同浓度下的一致性。采用配对 Wilcoxon 检验比较所有标本的手工计数与 UF-1000i 检测结果之间的差异是否具有统计学意义。所有统计均在 Graphpad Prism5.0 和 Sigmaplot11.0 上完成,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 UF-1000i 检测和手工计数法之间的相关性** 396 例脑脊液标本中,有 350 例标本的检测结果显示在两名技师之间较为一致,46 例标本的检测结果显示经过两名技师商量和重复计数后达成一致。结果以中位数(四分位间距)表示,则 UF-1000i 对 396 例脑脊液中红细胞计数结果为 55.45(8.90,488.55)/ $\mu\text{L}$ ;白细胞计数为 31.25(5.45,150.00)/ $\mu\text{L}$ 。脑脊液手工计数红细胞的计数结果为 52.00(6.00,534.00)/ $\mu\text{L}$ ,白细胞计数为 26.00(6.00,136.00)/ $\mu\text{L}$ 。手工计数法与 UF-1000i 检测在红细胞计数上的差异无统计学意义( $P=0.07$ ),但二者在白细胞计数上的差异有统计学意义( $P=0.04$ )。对 UF-1000i 检测结果与手工计数结果进行相关性分析,结果发现二者具有良好的相关性(图 1)。

**2.2 UF-1000i 检测结果和手工计数结果的一致性** 采用 Bland-Altman 图对两种检测方法的一致性进行分析,结果见图 2。红细胞计数和白细胞计数的一致性限度分别为 (-1361.70,1153.39)/ $\mu\text{L}$  和 (-163.67,157.27)/ $\mu\text{L}$ 。当白细胞计数小于 1000/ $\mu\text{L}$  时,两种方法具有较高一致性;当其大于 1000/ $\mu\text{L}$  时,UF-1000i 检测结果较手工计数结果偏低。当红细胞计数小于 10000/ $\mu\text{L}$  时,两种方法具有较高一致性;当

其大于 10000/ $\mu\text{L}$  时,UF-1000i 检测结果较手工计数结果偏低。进一步对红细胞计数小于 10000/ $\mu\text{L}$  或白细胞计数小于 1000/ $\mu\text{L}$  的标本进行 Bland-Altman 分析,结果红细胞和白细胞计数的一致性限度分别为 (-379.88,319.95)/ $\mu\text{L}$  和 (-68.05,67.23)/ $\mu\text{L}$ ,随着细胞计数的减少,两种方法的一致性越来越显著。

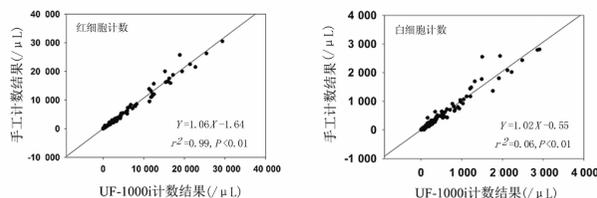


图 1 UF-1000i 检测结果与手工计数结果之间的相关性

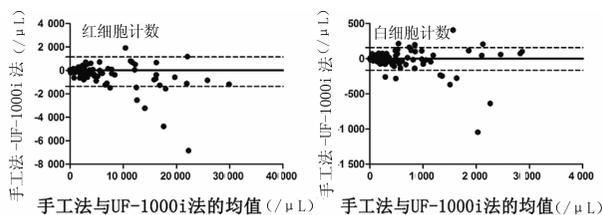


图 2 UF-1000i 计数与手工计数之间的 Bland-Altman 图

## 3 讨论

本研究发现,对于脑脊液红细胞和白细胞计数,手工计数和 UF-1000i 检测结果之间具有良好的相关性,当白细胞或红细胞计数均较低时(红细胞计数小于 10000/ $\mu\text{L}$ ,白细胞计数小于 1000/ $\mu\text{L}$ ),手工计数结果与 UF-1000i 检测结果之间具有良好的一致性,而细胞浓度较高时,二者相关性相对较差,UF-1000i 检测结果可能较手工计数结果偏低。

本研究与以往研究的不同之处在于:(1)本研究样本量相对较大( $n=396$ );(2)首次分析了 UF-1000i 对脑脊液进行细胞计数与手工计数结果之间的总体可比性;(3)不仅评价了两种检测方法之间的相关性,更评价了二者的一致性。本研究结果显示,手工计数结果与 UF-1000i 检测结果之间具有良好的相关性,红细胞计数和白细胞计数的相关系数( $r^2$ )分别为 0.99 和 0.96( $P$  均小于 0.01)。相关性的散点图虽然有助于直观展示两种检测方法之间的相关性,但是不利于直接观察两种检测方法的一致性,因为当其中一种方法存在系统检测误差时,造成该法检测结果整体偏高或者偏低时,两者检测方法的相关性可以不受影响,但此时两种检测方法已经不具备一致性<sup>[10]</sup>。因此,笔者进一步采用了 Bland-Altman 法分析两种方法的一致性,结果发现,当红细胞计数低于 10000/ $\mu\text{L}$  或白细胞计数低于 1000/ $\mu\text{L}$  时,两种方法之间的差异大多能够控制在一致性限度以内。当细胞计数较高时,两种方法的一致性较差。笔者对红细胞计数低于 10000/ $\mu\text{L}$  或白细胞计数低于 1000/ $\mu\text{L}$  的脑脊液标本进行 Bland-Altman 分析后也发现,其一致性限度大大降低。基于这些发现,可以认为随着细胞计数的降低,两种方法的一致性越来越显著。

总之,虽然目前对于不同脑脊液细胞计数方法之间的一致性限度的专业标准尚无共识,但是本研究发现,若采用 UF-1000i 对脑脊液红细胞和白细胞进行计数,当细胞计数较低时,其结果与手工计数具有良好的一致性,两种方法相互代替的可行性更大。而当细胞计数较高时,二者不具备一致性,两种方法相互代替的可行性更小。

参考文献

[1] 姜建东,庄爱霞,聂红霞,等. 脑脊液细胞学在神经系统疾病中的临床应用[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2010, 13(24): 6-8.

[2] 赵钢. 脑脊液细胞学的应用现状与未来发展[J]. 中华神经科杂志, 2011, 44(2): 73-76.

[3] 窦敏,蔡鹏威,陈金花. UF-100 全自动尿沉渣仪应用于脑脊液细胞计数可行性探讨[J]. 海南医学, 2010, 21(23): 111-116.

[4] 王金行,宋莹清,潘莹,等. UF-100i 全自动尿有形成分分析仪在脑脊液细胞分析中的应用[J]. 中国血液流变学杂志, 2011, 21(1): 158-163.

[5] 杨立东,王冰,毕薇薇. 不同方法对比检测脑脊液常规[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(7): 331.

[6] 张娟安,肖秀林,孙光辉. UF-1000i 尿液有形成分分析仪的性能评

价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 386-387.

[7] Wang J, Zhang Y, Xu D, et al. Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the diagnosis of urinary tract infection[J]. Am J Clin Pathol, 2010, 133(4): 577-582.

[8] 何雨峰,赵克斌,杨泽华,等. 使用尿液流式分析仪 UF-1000i 进行尿液检测的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(18): 2091-2093.

[9] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 313-314.

[10] 萨建,刘桂芬. 定量测量结果的一致性评价及 Bland-Altman 法的应用[J]. 中国卫生统计, 2011, 28(4): 409-411.

(收稿日期: 2011-12-18)

## 尿沉渣分析仪、尿干化学分析仪及光学显微镜检测 尿液红细胞、白细胞结果比较

蔡瑜

(安徽省合肥市第一人民医院检验科 230061)

**摘要:**目的 比较并分析 AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪、MA-4280KB 尿干化学分析仪及光学显微镜检测尿液红细胞、白细胞结果。方法 随机抽取 1 654 例患者晨尿标本,分别用 AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪、MA-4280KB 干化学分析仪及光学显微镜进行检测,比较检测结果。结果 以显微镜检查作为对照,AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪对红细胞检测的敏感度、特异度为 99.7%、97.8%,对白细胞检测的敏感度、特异度分别为 99.6%、98.8%。AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪、MA-4280KB 干化学分析仪对红细胞、白细胞检测结果 Kappa 值均大于 0.6,说明一致性很高。结论 将 AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪、MA-4280KB 干化学分析仪作为过筛试验并结合光学显微镜检查进行复检,才能快速、准确地为临床提供有效、可靠的检验结果。

**关键词:** 红细胞计数; 白细胞计数; 尿液分析

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.030

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2012)12-1472-02

尿液分析作为临床检验的三大常规之一,为泌尿系统疾病及相关疾病诊断提供了重要依据。目前尿沉渣检查的方法很多,但仍存在某些难以避免的干扰因素<sup>[1]</sup>。显微镜镜检虽操作复杂费时,但对于识别尿液有形成分具有重大意义,是尿液检查的金标准<sup>[2]</sup>。为此笔者随机抽取本院 1 654 例门诊及住院患者的尿液标本同时经 MA-4280KB 尿干化学分析仪、AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪以及传统的显微镜检测,并对结果进行分析。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机收集本院 2011 年 6~8 月门诊和住院部送检患者尿液标本 1 654 例。

**1.2 仪器与试剂** AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪,长沙爱威科技实业有限公司生产;Olympus CX21 显微镜,日本奥林巴斯光学工业株式会社生产;宇力 TL80-2 型台式离心机,郑州创宇科技有限公司;MA-4280KB 干化学分析仪及其质控品,桂林华通医用仪器有限公司。所用试剂、试纸条均为原装。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本检测** 取 10 mL 带有刻度的专用尿沉渣离心管两支,将收集的尿液标本充分混匀后充至其刻度。一管以 1 500 r/min 离心 5 min 后弃上清液,留下 0.2 mL 沉渣,用微量吸管取混匀尿沉渣 0.02 mL 滴在载玻片上,盖玻片覆盖,观察 10 个高倍镜视野(HP)<sup>[3]</sup>。另一管严格按照仪器说明书操作,先在 AVE-763C 尿沉渣分析仪上进行尿沉渣检查后,再由有经验的检验人员对图片进行人工审核判断。剩余标本在

MA-4280KB 干化学分析仪上检测。所有标本均在 2 h 内检测完毕。

**1.3.2 结果判定** 干化学分析结果:隐血(BLD)阴性,尿白细胞(Leu)阴性。正常参考范围尿沉渣镜检分析及结果参照《全国临床检验操作规程》<sup>[2]</sup>,红细胞 0~3 个/高倍镜视野,白细胞 0~5 个/高倍镜视野。AVE-763C 分析仪:红细胞 0~6 个/微升,白细胞 0~8 个/微升。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 11.0 软件,数据用配对  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。运用 Kappa 检验判断一致性强弱,  $Kappa \leq 0.6$  表示一致性弱,  $0.6 < Kappa \leq 0.8$  表示高度一致,  $Kappa > 0.8$  表示一致性极强。

### 2 结果

**2.1 AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪与显微镜检查结果比较** 以显微镜检查法作为对照,AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪对红细胞检出的敏感度为 99.7%(309/310),特异度为 97.8%(1 315/1 344),与显微镜检查结果符合率为 98.2%; AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪对白细胞检出的敏感度为 99.6%(443/445),特异度为 98.8%(1 195/1 209),与显微镜检查符合率为 99.0%; AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪与显微镜检查红细胞的 Kappa 值分别为 0.942、0.976,说明这两种方法一致性极强。见表 1~2。

**2.2 AVE-763C 全自动尿沉渣分析仪与 MA-4280KB 干化学分析仪检测结果比较** 两种仪器检测红细胞、白细胞的 Kappa 值分别为 0.71 和 0.87,说明这两种仪器高度一致,见表 3~4。