

# 基于 UF1000i 尿沉渣分析仪对 Clinitek Atlas 尿干化学分析仪白细胞计数与反射率的关系研究及思考

张洪波, 张 辉, 黄 铭, 陈 星, 李 果 (华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科, 武汉 430030)

**摘要:** 目的 借助 UF1000i 尿沉渣分析仪, 验证尿干化学分析仪中白细胞计数和反射率之间的潜在关系, 从而为尿干化学分析仪的定量改进提供新的思路。方法 通过筛选尿白细胞计数大于  $1\ 000/\mu\text{l}$  的尿标本, 在 UF1000i 尿沉渣分析仪和 Clinitek Atlas 尿干化学分析仪上同时测试, 记录尿沉渣白细胞计数和尿干化学反射率值, 并统计分析两者的相关定性等级的反射率临界点和白细胞临界点验证。结果 尿沉渣白细胞计数 ( $X$ ) 和反射率 ( $Y$ ) 存在较好的关系曲线:  $Y = 109.14 \ln(X) + 931.94$ ,  $r = 0.995\ 8$ ; 尿干化学微量、1+、2+ 和 3+ 的临界值反射率分别为 1 150, 1 231, 1 380 和 1 553; 对应的白细胞临界值 (个/ $\mu\text{l}$ ) 分别为 5, 10, 52 和 330。结论 尿干化学白细胞计数与反射率的确立, 为现行的尿干化学分析仪的校准提供了新的解决思路, 也为尿干化学分析仪由定性向定量发展奠定了基础, 从而使尿干化学检测服务于临床的质量更进一步。

**关键词:** 尿干化学分析仪; 反射率; 中性粒细胞脂肪酶; 白细胞脂肪酶; 校准验证

**中图分类号:** R446.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 04-165-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.04.032

## Research and Thinking on the Relationship between White Blood Cell Count and Reflectance of Clinitek Atlas Urine Dipstick Chemistry Analyzer Based on UF1000i Urine Sediment Analyzer

ZHANG Hong-bo, ZHANG Hui, HUANG Ming, CHEN Xing, LI Guo

(Department of Laboratory Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**Abstract:** **Objective** To verify the potential relationship between the white blood cell(WBC) count and reflectance in urine dipstick chemistry analyzer by means of UF1000i urine sediment analyzer, so as to provide a new idea for quantitative improvement of urine dipstick chemistry analyzer. **Methods** By screening suitable urine samples(WBC count  $>1\ 000/\mu\text{l}$ ) and testing them simultaneously on UF1000i urine sediment analyzer and Clinitek Atlas urine chemical analyzer, the WBC count and urine dipstick chemistry reflectance of urine sediment were recorded, and the correlation between them was calculated. **Results** The curve between the urine WBC count and reflectance was good:  $Y = 109.14 \ln(X) + 931.94$ , and the value of  $r$  was 0.995 8. The critical reflectance of trace, 1+, 2+ and 3+ were 1 150, 1 231, 1 380 and 1 553, respectively. The corresponding WBC count ( $/\mu\text{l}$ ) were 5, 10, 52 and 330, respectively. **Conclusion** The establishment of the WBC count and reflectivity of the urine dipstick chemical analyzer provides a new solution for the calibration of current urine dipstick chemistry analyzer, and also lays a foundation for the development of urine dipstick chemistry analyzer from qualitative to quantitative, so as to further improve the clinical quality of urine dipstick chemistry test.

**Keywords:** urine dipstick chemistry analyzer; reflectance; neutrophil lipase; leukocyte lipase; calibration verification.

根据《医学实验室质量和能力认可准则》质量要求 (简称 ISO15189) [1-2], 实验室需要每年两次对尿液化学试纸分析仪进行设备校准, 就像尿沉渣分析仪一样, 以符合中国合格评定国家认可委员会 (China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS) 的要求 [3]。校准完成后, 需要进行校准验证, 通常校准由授权的主管工程师进行, 实验室人员可以完成校准验证。针对尿干化学

分析仪而言, 因其为定性导致其校准存在着一定的盲区, 细节上也不符合质量体系的要求, 迫切需要尿干化学分析仪由定性向定量方向发展, 因此以本文此前一篇红细胞和反射率的研究为基础, 验证了白细胞计数 (WBC 计数) 与其反射率之间的关系, 解析出其定量关系曲线, 逐步验证了尿干化学分析仪定量的可行性, 从而有助于优化尿干化学分析仪的校准流程, 也为尿干化学分析仪各指标量化进

作者简介: 张洪波 (1978-), 男, 硕士, 主管技师, 主要从事临床检验工作, E-mail: 58639096@qq.com。

通讯作者: 李果, Tel: 027-83663185。

程奠定了基础。

## 1 材料和方法

1.1 实验标本 UF1000i 尿沉渣分析仪白细胞计数  $> 1\ 000/\mu\text{l}$ , 配以人工镜检确认, 无上皮细胞, 无结晶黏液丝干扰, 其它结果无异常的尿标本。

1.2 仪器和试剂 UF1000i 尿沉渣分析仪 (日本) 及其原装配套试剂; 西门子 Clinitek Atlas 自动尿液化学分析仪 (德国) 及其配套试剂, 室内质控采用伯乐的尿干化学质控品。湖北省室间质评、卫生部室间质评、以及 2020 年进行的美国病理学家协会 (CAP) 质量评价结果合格。

## 1.3 方法

1.3.1 获得合格的尿标本, 在  $200 \times g$  离心 5 min, 轻轻吸弃上清尿液, 加入生理盐水洗涤, 再在  $200 \times g$  离心 5 min, 轻轻吸弃上清液, 再加入生理盐水, 再离心弃上清, 反复 3 次。

1.3.2 将洗涤好的标本加生理盐水配制成 10 ml 的样本备用, 样本分别在 Clinitek Atlas 自动尿液化学分析仪和 UF1000i 尿沉渣分析仪上检测, 然后补足生理盐水至 10 ml, 再检测, 重复上述过程, 直至尿干化学检测白细胞脂酶 (Leucocyte lipase, LEU) 为阴性为止。尿干化学分析仪完成一次检测需要 0.6 ml 样本, 尿沉渣分析仪完成一次检测需要 0.8 ml 样本, 即对样本进行等比稀释 ( $q=0.86$ ) 的连续检测。

1.3.3 配制好的标本需要在 1h 内完成标本的检测<sup>[4-5]</sup>, 记录干化学白细胞反射率的值和尿沉渣对应的白细胞计数值。

1.4 统计学分析 通过 GraphPadPrism8 统计分析程序确定白细胞计数与反射率之间的关系, 并通过 KAPPA 检验确定 WBC 定性分级的反射率临界点 (即阴性、微量和 1+, 2+, 3+ 对应的反射率临界值)。

## 2 结果

2.1 建立白细胞计数和反射率关系曲线 见图 1。按 1.3 方法构建白细胞计数 ( $X$ ) 和反射率 ( $Y$ ) 之间的关系。

表 2 反射率对应的白细胞浓度 (个/ $\mu\text{l}$ )

类别	反射率临界点值	白细胞临界点浓度	设备商给定的临界白细胞浓度
3+ 与 2+ 的临界反射率	1 553	330	500
2+ 与 1+ 的临界反射率	1 380	52	125
1+ 与微量的临界反射率	1 231	10	70
微量与阴性的临界反射率	1 150	5	15

## 3 讨论

3.1 选择标本 本实验在白细胞的制备上未能延续此前对红细胞进行验证时采用的梯度浓度的方法<sup>[6]</sup>, 是因为在对白细胞进行盐水洗涤时, 细胞丢失不容易控制。因此, 改进采用了洗涤后等比稀释

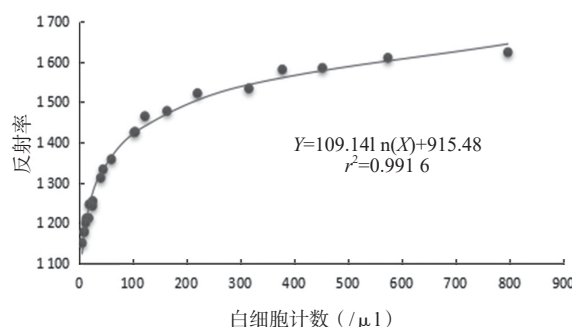


图 1 白细胞计数和反射率关系曲线图

在上述分析的同时, 对原始尿液样本进行 Wright-Giemsa 染色后进行分类。在这份尿液标本中, 中性粒细胞占白细胞总数的 86%, 淋巴细胞占 5%, 单核细胞占 9%。由于 UF1000i 检测的是所有的白细胞, 而干化学检测的仅为中性粒细胞, 所以对上述曲线进行了修正, 修正后的关系曲线为:  $Y=109.14\ln(X)+931.94$ 。

2.2 定性等级的反射率临界点验证 见表 1。与 Clinitek Atlas 自动尿液化学分析仪的浓度等级 (阴性、微量、1+, 2+, 3+) 相对应的反射率临界点取决于仪器的设定, 此处我们只能通过验证的方式来获取实际的浓度等级反射率临界点。为此我们选择了 8 例患者标本, 共计测试 187 条有效数据点, 并结合 Kappa 检验, 确定各等级的临界反射率。

表 1 临界点反射率及 Kappa 值统计表

类别	反射率值	Kappa 值
3+ 与 2+ 的临界反射率	1 553	0.99
2+ 与 1+ 的临界反射率	1 380	1
1+ 与微量的临界反射率	1 231	1
微量与阴性的临界反射率	1 150	1

2.3 基于反射率的白细胞临界点验证 见表 2。通过将临界反射率值代入白细胞计数与反射率的关系曲线 (即 3.1 节得到的关系曲线), 可以得到白细胞临界点的验证浓度。

的模式。也就是说, 对于 10ml 制备好的标本, 完成尿干化学检测需要 0.6ml, 尿沉渣检测需要 0.8ml, 共计 1.4 ml, 一次检测完成剩余 8.6 ml, 再补足生理盐水至 10ml, 进行下一次检测, 即整个过程采取以  $q=0.86$  的等比稀释模式。

同时,在选择尿白细胞计数大于  $1\,000/\mu\text{l}$  的标本时,瑞氏-吉姆萨染色镜检排除因退变或巨噬细胞较多时对中性脂酶检测的影响,基于此门诊标本更合适,因为门诊标本急性感染的可能性较大,白细胞在尿路中停留时间相对较短,使溶解和变性的可能性降低。所以此次标本主要来源于门诊证实的尿路感染,但同时细菌感染也要被去除,特别是高上皮细胞标本<sup>[7]</sup>,以排除上皮细胞的干扰。

在对白细胞进行离心洗涤时,应采取低速离心(实际将离心力由  $400g$  降为  $200g$ ),以排除因高速离心对白细胞进行解聚洗涤时造成的白细胞破裂导致脂酶释放(即离心力越高,解聚难度越大),整个过程对标本的处理要轻,以避免白细胞被破坏导致中性脂肪酶溢出进而影响尿液化学分析仪的检测。

事实上,我们也使用过细胞分离方法来获得高纯度的中性粒细胞,如使用 solarbio 和 TBD 品牌的人外周血中性粒细胞分离液来分离全血细胞中的中性粒细胞,但有其局限性。分离成功率不高,相同的分离条件分离全血的重复性不好,研究发现可能与全血的红细胞平均体积有关:平均红细胞体积越大,离心力越大,其他条件不变时分层效果越好。此外,即使分离中性粒细胞,如一些论文报道,分离液可以显著分层细胞<sup>[8-9]</sup>,却没有适当的方法将分离层中的中性粒细胞有效的剥离(将中性粒细胞剥离出来又不带淋巴细胞和单核细胞),因此本研究未采用全血白细胞分离法。

同时需要说明的是,此处用 UF1000i 替代金标准的手工方法来计数白细胞,是因为 UF1000i 尿沉渣分析仪的性能符合要求,同时其对白细胞计数相对手工方便快捷,最现实的问题是尿干化学搭配尿沉渣对尿液进行检测符合日常实际工作流程<sup>[10-13]</sup>。

**3.2 白细胞临界值浓度的解释** 从表2中,白细胞计数的临界浓度验证与操作手册中给出的值之间存在差异。这就需要对尿液化学试纸分析仪的校准进行反思。对于 UF1000i 尿沉渣分析仪,每6个月对设备进行校准,在 Clinitek Atlas 自动化尿液化学分析仪的报告中只给出了每个指标的校准范围,没有给出标准浓度白细胞对应的反射率值。如 Clinitek Atlas 自动尿液化学分析仪校准报告所示,白细胞的反射率相对较宽,范围为  $949 \sim 1\,088$ ,根据此范围计算出 WBC 反射率的变异系数约为  $2\%$ ,而中华人民共和国行业标准 YYT0475-2011 尿干化学分析仪第3.2节描述的重复性表明,尿干化学分析仪反射率测试结果的变异系数,即 CV 值应不大于  $1\%$ <sup>[14-15]</sup>,从这个角度来讲,此设备的校准报告是不符合要求的。而白细胞计数和

反射率曲线的建立,构建修正后的关系曲线为:  $Y=109.14\ln(X)+931.94$ ,此关系曲线从计算方法上虽与先前报道的不同<sup>[16]</sup>,但方向一致同为对数曲线,这将有助于尿干化学分析仪由定性向定量方向改进,再利用标准浓度的校准品对设备进行校准并能有力的弥补现行的尿干化学分析仪设备校准环节的不足。

### 3.3 尿干化学分析仪在定量开发中的优势

**3.3.1 精细尿干化学分析仪的校准:**尿液化学分析仪向定量转化后,检测值可由间断型向连续型转化,以此有效弥补目前尿液化学分析仪在校准过程中存在的不足,定量改进已有相关文献报道<sup>[17]</sup>。同时设计出定量尿干化学分析仪的定值校准品对设备进行校准,犹如目前用定值校准品对 UF1000i 进行校准一样,可以更容易检测设备单元老化等问题,从而更好地提醒工程师准确调整激光单元的相关参数,将设备的状态调整至最佳。

**3.3.2 定量研发的边际成本低:**针对各尿干化学制造商而言,目前所要做的工作只需要将尿十项(隐血、白细胞、亚硝酸盐、比重、pH、蛋白质、葡萄糖、酮体、尿胆原、胆红素)的关系曲线或者说拟合曲线植入到设备中,再设计出相应的可视化界面将各项的检测值呈现给客户就好。尿干化学分析仪在近20年技术革新不明显,不寻求改变在日新月异的今天有被市场淘汰的风险,现在设备生产商只需要对设备软件进行适当调整,给用户以反射率为基础的定量服务,在几乎不需要投入新的研发成本的基础上就能给用户新的价值的体验。

**3.3.3 临床需求:**定量改进能更准确地反映病人的病情,在对医生对尿常规的关注度调查中,当问及“参考尿常规在你的疾病领域的诊断中所占的比例是多少?”时,参考比例仅在  $0 \sim 25\%$  之间,根本原因可能是尿常规给临床提供的信息太少,目前尿干化学结果全部阴性对临床意义更显著,也就是特异度作用更显著。从这个角度来看,尿液化学分析仪从定性到定量的发展也符合临床需要,以充分发挥尿干化学的作用<sup>[18]</sup>。举一个简单的例子,在白细胞定性结果同在  $3+$  时,如果做到了定量改进,定量结果更能反映出患者病情的细微变化。

**3.3.4 更及时的报告:**关于报告的时间有效性,门诊患者尿干化学分析的 TAT 时间(turn around time)为  $40\text{ min}$ ,本实验对应的尿生化 TAT 时间为  $3\text{h}$ 。尿干化学分析的定量改进能将 TAT 时间由  $3\text{h}$  缩短为  $40\text{min}$ 。这对确诊后治疗监测的患者是省时又经济的。

**3.3.5 双赢的局面:**事实上按照 3.3.3,设备制造商和用户是双赢的,设备制造商为用户提供了—个可



视化的定量界面,用户可以以此为基础在白细胞领域开发新的检测指标,用反射率定量检测白细胞中性脂肪酶浓度,结合尿沉渣分析仪白细胞计数,我们可以得到一个新的检测指标:平均白细胞脂酶含量,这个指标将有助于尿路感染的诊断,因为从理论上,尿路感染会使更多的白细胞吞噬细菌自溶、中性脂酶释放,同时有形白细胞减少,从而使平均白细胞脂酶含量的值增加。这一理论的证实取决于设备制造商对设备的定量改进。

基于上述,尿干化学分析仪应在现有的基础上加以改进,逐步向定量方向发展,以适应实验室质量体系发展的需要,以更好地为临床服务。更重要的是,定量改进对设备商、用户及患者都是有益的。

#### 参考文献:

- [1] OKUBO S, YOKOTA H, IKEDA H, et al. Overview of ISO15189 and accreditation with it[J]. Rinsho Byori, 2010, 58(7): 676-684.
- [2] KUBONO K. Quality management system in the medical laboratory-ISO15189 and laboratory accreditation[J]. Rinsho Byori, 2004, 52(3): 274-278.
- [3] KILLEEN A A, LONG T, SOUERS R, et al. Verifying performance characteristics of quantitative analytical systems: calibration verification, linearity, and analytical measurement range[J]. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2014, 138(9): 1173-1181.
- [4] DOLSCHEID-POMMERICH R C, KLARMANN-SCHULZ U, CONRAD R, et al. Evaluation of the appropriate time period between sampling and analyzing for automated urinalysis[J]. Biochemia Medica, 2016, 26(1): 82-89.
- [5] Clinical Laboratory Standards Institute(CLSI). CLSI document GP16-A3: Urinalysis; approved guideline -third Edition [s]. Wayne: PA, CLSI GP16-A3, 2009.
- [6] 张洪波, 张驰, 李果. 基于 UF1000i 尿沉渣分析仪的 ATLAS 尿干化学分析仪红细胞反射率验证思考 [J]. 检验医学, 2017, 32(7): 614-615.  
ZHANG Hongbo, ZHANG Chi, LI Guo. Verification of red blood cell reflectance by ATLAS urinary chemistry dipstick analyzer based on UF1000i urinary sediment analyzer[J]. Laboratory Medicine, 2017, 32(7): 614-615.
- [7] YANG Wei, YU Xiaochen, LIU Dan, et al. High false positive rate of white blood cells in urine samples of pregnant women may be caused by epithelial cells being misclassified by the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer[J]. Cytometry Part B-Clinical Cytometry, 2019, 96(6): 464-468.
- [8] SWAMYDAS M, LUO Yi, DORF M E, et al. Isolation of mouse neutrophils[J]. Current Protocols in Immunology, 2015, 110(20): 3.20.1-3.20.15.
- [9] HU Yan. Isolation of human and mouse neutrophils ex vivo and in vitro[J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 2012, 844: 101-113.
- [10] WANG Lina, WANG Huacheng, ZHAO Chanjing, et al. The standardization of the report for urine cell counting-A converting factor for Sysmex UF-1000i[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2019, 33(4): e22857.
- [11] FABBRO C, DAROLLES J, RAULT J P. Evaluation of the performances of the UF-1000i<sup>®</sup> automated urine analyzer[J]. Annales de Biologie Clinique, 2011, 69(4): 431-439.
- [12] LEE W, HA J S, RYOO N H. Comparison of the automated Cobas U 701 urine microscopy and UF-1000i flow cytometry systems and manual microscopy in the examination of urine sediments[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2016, 30(5): 663-671.
- [13] MANONI F, TINELLO A, FORNASIERO L, et al. Urine particle evaluation: a comparison between the UF-1000i and quantitative microscopy[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2010, 48(8): 1107-1111.
- [14] 中华人民共和国医药行业标准 .YY/T 0475-2011: 干化学尿液分析仪 [S]. 北京: 国家食品药品监督管理局, 2011.  
Industry Standard of the People's Republic of China. YY/T 0475-2011: Dry chemistry urine analyzer[S]. Beijing: National Medical Products Administration, 2011.
- [15] 中华人民共和国国家计量技术规范 .JJF 1129-2005: 尿液分析仪校准规范 [S]. 北京: 国家质量监督检验检疫总局, 2005.  
National Metrological Technical Specification of the People's Republic of China. JJF 1129-2005: Calibration specification of urine analyzers[S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, 2005.
- [16] PENDERS J, FIERIS T, DELANGHE J R. Quantitative evaluation of urinalysis test strips[J]. Clinical Chemistry, 2002, 48(12): 2236-2241.
- [17] OYAERT M, DELANGHE J. Progress in automated urinalysis[J]. Annals of Laboratory Medicine, 2019, 39(1): 15-22.
- [18] PIECH T L, WYCISLO K L. Importance of urinalysis[J]. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 2019, 49(2): 233-245.

收稿日期: 2021-03-14

修回日期: 2022-02-17

(上接第 111 页)

- [15] 谢易, 李彬彬, 龚泰芳. 锌指蛋白 ZNF139 抑制骨肉瘤细胞增殖和转移的机制研究 [J]. 贵州医药, 2019, 43(11): 1688-1692.  
XIE Yi, LI Binbin, GONG Taifang. Study on the effect of tumor suppressor gene ZNF139 on proliferation and migration of osteosarcoma [J]. Guizhou Medical Journal, 2019, 43(11): 1688-1692.
- [16] TAN Bibo, LI Yong, ZHAO Qun, et al. ZNF139

increases multidrug resistance in gastric cancer cells by inhibiting miR-185[J]. Bioscience Reports, 2018, 38(5): BSR20181023.

- [17] NIE Hongfeng, MU Jixing, WANG Jinsheng, et al. MiR-195-5p regulates multi-drug resistance of gastric cancer cells via targeting ZNF139[J]. Oncology Reports, 2018, 40(3): 1370-1378.

收稿日期: 2021-07-30

修回日期: 2021-09-08