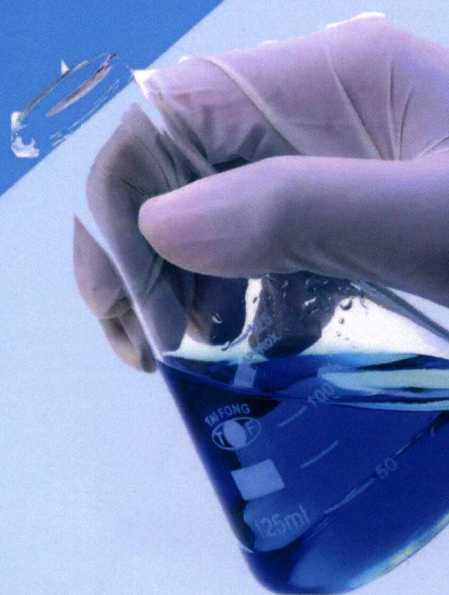




体液学理论 检验与技术

邹鸿燕 ◎ 著

天津出版传媒集团



天津科学技术出版社

体液学理论检验与技术

邹鸿燕 ◎ 著

天津出版传媒集团

 天津科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

体液学理论检验与技术 / 邹鸿燕著. -- 天津: 天津科学技术出版社, 2018.1
ISBN 978-7-5576-4635-6

I. ①体… II. ①邹… III. ①体液-医学检验 IV.
①R446.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第039101号

责任编辑: 孟祥刚
责任印制: 王莹

天津出版传媒集团

 天津科学技术出版社

出版

出版人: 蔡颢
天津市西康路35号 邮编 300051
电话(022) 23332397
网址: www.tjkjcs.com.cn
新华书店经销
北京虎彩文化传播有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 22.5 字数 590 000
2018年1月第1版第1次印刷 2018年9月第2次印刷
定价: 115.00元

前 言

临床体液检验的检测技术多样,检测流程复杂,为帮助临床检验专业人员掌握该领域的最新研究和应用进展,明确常用及重要检验项目质量保证关键环节的技术要求,理解不同类型检验项目对疾病诊疗的作用,特编写了本书。

本书共十六章,详细介绍了尿液检验与体液检验的新进展、关键技术环节的质量控制、检测流程的评价与优化、结果报告的要求等;结合临床实践,介绍肾脏疾病、遗传代谢病与尿液检验的关系。本书内容丰富,是检验师、临床医师、医学生参考使用。

由于我们的水平有限及编写时间仓促,书中错误或不当之处在所难免,敬请广大读者批评和指正。在此,特向关心和支持本书出版的专家和同仁致以诚挚的感谢!

编 者

目 录

第一章 尿液检验进展	(1)
第一节 尿液干化学分析进展	(2)
第二节 尿液有形成分自动化检查进展	(8)
第三节 尿液有形成分显微镜检查进展	(10)
第四节 尿液微量蛋白检测进展	(16)
第五节 尿液检验的风险评估与管理	(19)
第二章 尿液分析前的质量控制	(22)
第一节 尿液标本种类	(22)
第二节 尿液分析前的质量控制要求	(23)
第三章 尿液理学检查	(33)
第一节 颜色	(33)
第二节 透明度	(37)
第三节 尿量	(39)
第四节 气味	(41)
第五节 尿比重和尿渗透压	(42)
第四章 尿液干化学分析	(47)
第一节 尿液干化学分析检测系统	(47)
第二节 尿液干化学分析项目和临床应用评价	(55)
第五章 尿液有形成分自动化检查	(73)
第一节 尿液有形成分流式分析技术	(73)
第二节 尿液有形成分显微数码成像分析技术	(80)
第六章 尿液有形成分显微镜检查	(85)
第一节 尿液有形成分样品准备	(85)
第二节 尿液有形成分显微镜检查方法	(86)
第三节 尿液有形成分分类与形态特点	(89)
第四节 尿液有形成分检验与疾病诊断	(96)
第五节 尿液有形成分检查的质量控制	(100)
第七章 尿液检验流程与结果报告	(102)
第一节 尿液常规检查的现状与问题	(102)
第二节 尿液分析流程设计与优化	(103)

第三节	尿液分析复检原则、方法与验证	(109)
第四节	尿液检查报告的结果可靠性验证与解释	(112)
第八章	尿液分析的质量控制	(119)
第一节	尿液分析质量控制的基本要求	(119)
第二节	尿液分析质量控制相关问题的讨论	(122)
第九章	肾脏疾病与尿液检验	(126)
第一节	原发性肾小球疾病	(127)
第二节	继发性肾脏疾病	(135)
第三节	肾病综合征	(140)
第四节	遗传性肾脏疾病	(141)
第五节	间质性肾炎	(143)
第六节	泌尿系统结石	(146)
第七节	金属中毒性肾病	(152)
第八节	急性肾损伤	(158)
第九节	慢性肾脏病	(161)
第十章	遗传代谢病与尿液检验	(164)
第一节	遗传代谢病的尿液检查	(165)
第二节	常见遗传代谢病的发病机理及尿液生化特点	(174)
第十一章	粪便检验	(182)
第一节	标本采集与处理	(182)
第二节	理学检查	(183)
第三节	显微镜检查	(185)
第四节	化学与免疫学检查	(193)
第五节	自动化检查	(200)
第六节	粪便检验与疾病诊断	(200)
第十二章	脑脊液检验	(213)
第一节	标本采集与处理	(214)
第二节	理学检查	(215)
第三节	显微镜检查	(217)
第四节	化学与免疫学检查	(226)
第五节	自动化检查	(231)
第六节	脑脊液检验与疾病诊断	(240)
第十三章	浆膜腔积液、肺泡灌洗液和腹膜透析液检验	(251)
第一节	标本采集与处理	(251)
第二节	理学检查	(257)

第三节 显微镜检查 (259)
 第四节 化学与免疫学检查 (268)
 第五节 浆膜腔积液、肺泡灌洗液和腹膜透析液检验与疾病诊断 (274)
 第十四章 精液和前列腺液检验 (291)
 第一节 精液检验 (291)
 第二节 前列腺液检验 (314)
 第十五章 阴道分泌物检验 (321)
 第一节 标本采集与处理 (323)
 第二节 理学检查 (324)
 第三节 显微镜检查 (325)
 第四节 化学与免疫学检查 (327)
 第五节 阴道分泌物检验与疾病诊断 (328)
 第十六章 关节腔积液检验 (331)
 第一节 标本采集与处理 (331)
 第二节 理学检查 (333)
 第三节 显微镜检查 (334)
 第四节 病原体检查 (339)
 第五节 化学与免疫学检查 (340)
 第六节 关节腔积液检验与疾病诊断 (343)
 参考文献 (349)

第一章 尿液检验进展

尿液是血液流经肾脏后,经肾小球滤过、肾小管重吸收与分泌作用而成。肾小球滤液必须经肾小球毛细血管壁滤过。毛细血管壁由有孔的内皮细胞、肾小球基底膜(glomerular basement membrane,GBM)和足细胞构成。正常成人,每分钟约有 1200ml 血液灌注肾脏,约占心输出量的 25%,每个肾脏约有 100 万个肾单位,由入球小动脉接受血液灌注,血液通过肾小球后血浆被滤过进入鲍曼氏囊,形成“原尿”。滤液通过肾小管和集合管重吸收和分泌,其中 99%以上水和电解质等多种物质被肾小管重吸收,最终原来约 180L 的肾小球滤液 24 小时可减少至约 1~2L。由肾脏生成的尿液经由集合管、肾盂、输尿管进入膀胱,通过尿道排出体外,正常成人每日(24 小时)排尿量约 1500ml。原尿是否含有大分子蛋白质取决于肾小球滤过膜的孔径屏障及电荷屏障,其孔径屏障指肾小球滤过膜(毛细血管内皮细胞、基底膜与肾小囊脏层上皮细胞),正常情况只允许分子量小于 1.5 万小分子物质自由通过,1.5 万~7 万物质部分通过,大于 7 万物质不能通过;电荷屏障指肾小球滤膜内皮和脏层上皮层表面的涎酸蛋白、基膜表面硫酸肝素类带负电荷物质,与血浆蛋白质因负电荷相斥而阻止其滤过。任何引起肾小球滤过膜孔径及电荷屏障改变原因,都会引起原尿成分变化,并在终尿中显现。

肾脏参与机体许多调节功能,如通过肾小球滤过和肾小管排泌的大量废物,包括蛋白质分解代谢含氮物质、有机和无机酸、碱等从体内排除。水,电解质(包括钠、钾、钙、镁),酸碱平衡调节也由肾脏调节。此外,肾脏具有重要的内分泌功能,能合成、调节和分泌多种激素,参与血流动力学调节、红细胞及骨代谢。如分泌促红细胞生成素(erythropoietin,EPO)可与红系干细胞表面的促红细胞生成素受体结合,刺激红系干细胞,促进红系干细胞增殖、分化和成熟,使红细胞数增多,血红蛋白含量增加;当动脉血压降低,循环血量减少、缺氧等刺激肾小球旁感受器促进球旁细胞分泌肾素(renin),也被称为血管紧张素原酶,是肾素-血管紧张素系统的组成部分。肾素催化血管紧张素原水解产生血管紧张素 I,经血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme,ACE)作用形成血管紧张素 II,后者具有高效收缩血管作用,使血压升高,也能刺激肾上腺皮质分泌醛固酮,促进肾脏对水和钠离子的重吸收,增加体液容量,升高血压。同时,维生素 D 可在肾脏活化,参与机体钙、磷代谢。因此,尿液成分及其含量改变不仅受泌尿生殖系统的影响,而且与血循环、内分泌、代谢、呼吸等系统生理或病理变化有关。通过检测尿液中与疾病特异的代谢物就可获得大量重要的疾病信息。此外,对使用可致肾损害药物治疗的监测,接触重金属(如铅、汞等)引起的职业病的辅助诊断及健康评估等也有非常重要意义。因此,实验室尿液检测将继续在临床医学中扮演重要角色,尿液检查也是一项重要辅助诊断项目。

第一节 尿液干化学分析进展

尿液干化学分析是尿液基本检查中的重要部分,主要涉及试带法检测尿中隐血、白细胞酯酶、蛋白质、糖及其他物质。试带可人工或自动判读。

一、尿液分析发展简史

尿液分析(urinalysis)主要包括尿液的常规检验和特殊检验。早在远古时期,人们就了解到尿液的颜色、浊度和尿量变化与疾病有关。古代医生通过观察尿液能否招来蚂蚁判断尿中是否含糖,这可能是最早的尿糖测定方法。直到 20 世纪,尿液分析才成为临床实验室的一种常规操作。1911 年,美国 Benedict 首创了一种稳定、实用、方便的检测尿糖的碱性硫酸铜溶液,后被称为班氏溶液(Benedicts solution)。同期美国 Myers、Emerson 等学者分别致力于尿液分析,逐步建立了尿液分析基础技术。到上世纪 30 年代,尿液检查已成为医院常规检查项目之一。1937 年,奥地利 Feigl 利用“蛋白质误差”(protein error)法发明了测定尿蛋白的一种简单颜色反应。同年,又发明了测定尿隐血的液滴反应(a drop reaction),这些技术发明不仅取代了历史上长期使用的沉淀法测定尿蛋白,也为发展浸入即读(dip-and-read)试剂带打下了基础。

进入 20 世纪 40 年代,美国 Bayer(拜耳)公司 Compton 基于班氏试剂中铜还原的原理,研制出新一代尿糖试剂 Clinitest。该试剂减少了原班氏法加热程序,使用含有柠檬酸、氢氧化钠、碳酸氢钠和硫酸铜的混合物,将其加入到尿液和蒸馏水混合的试管内,试剂利用自身所含的强碱和酸产生大量的热量,使硫酸铜的铜离子和尿液中某些物质发生还原反应,形成黄色的氢氧化亚铜和红色的氧化亚铜混合物。依据尿中含葡萄糖浓度不同,反应呈现不同颜色,如绿色、黄色和棕色,如果尿中无葡萄糖,颜色则无变化。随后,拜耳公司不断研发出一些尿液检查试剂。1950 年,研制出测定血清、尿液酮体的试剂 Acetest;1955 年,研制出测定尿隐血和尿胆红素的试剂 Oecultest 和 Ictotest。1957 年,利用“蛋白质误差”原理推出测定尿蛋白的试带 Albustix。1958 年,推出测定尿葡萄糖和尿蛋白的二联试带 Uristix,次年又推出测定尿葡萄糖、尿蛋白和尿 pH 三联试带。20 世纪 60 年代,世界上许多公司也开始研制生产尿干化学试带,如德国 Boehringer Mannheim(宝灵曼)公司 1964 年推出 eCombur-Test 试带。

1970 年,自动化程度不断提高,半自动尿液分析仪问世,可替代肉眼观察结果,减少人为误差,提高检测敏感性和特异性。1980 年,许多公司将层析和免疫技术用于试带中,制造了具有极高敏感性和特异性的单克隆抗体试带,如宝灵曼公司测定尿微量白蛋白的试带 Micral-Test 等。

在以后几十年中,日本、美国、德国、韩国等先后制造出了尿液分析仪。1993 年,宝灵曼公司推出 10 项 Supertron 全自动尿液分析仪。这些仪器可读取试纸的波长反射比测定尿液的物理和化学组成,并通过折射率计算比重。有的还可以测定颜色和透明度,因此可以自动完成完整尿样分析测定。不再需要肉眼进行测定,不仅极大地解放了劳动力,也减少了肉眼结果判断的主观因素。值得注意的是重复尿干化学试带检测并非确认实验,必要时需使用更敏感、更

特异的反应或不同方法学对尿中同类物质进行确认检测。

我国尿干化学试剂带的研制始于 20 世纪 60 年代。1966 年,北京协和医院检验科和上海医学化验所开始研制尿液试剂带。1988 年,广西桂林医疗电子仪器厂在对引进日本京都第一株式会社尿液分析仪和专用试剂带的生产技术及设备进行了消化、吸收,逐步实现了国产化。至 90 年代国内也出现了尿 10 项分析仪及专用试剂带。此后,诸如长春迪瑞、桂林优利特等国产尿液干式化学分析仪等设备相继出现,逐步满足了国内不同等级医院的各种需求。

二、尿液干化学分析仪可报告参数和主要性能特点

干化学分析用试带是尿液化学检验的主要方法。虽然使用简便,却代表了多个复杂化学反应和工艺。目前,大多数尿液干化学分析仪可报告参数约 8~12 项,包括胆红素、尿胆原、酮体、葡萄糖、蛋白质、隐血、亚硝酸盐、pH、白细胞酯酶、抗坏血酸、比重、颜色和透明度等,极大满足了临床需要。基本工作原理为:采用 3~6 段波长反射和折射法等光学分析技术,对尿液进行全项检测,包括物理、化学特性的多项指标。其主要性能特点如下。

1. 全自动尿干化学分析仪

通过读取试带的波长反射比测定尿液物理和化学组成,并通过折射率计算比重。同时,还可测定颜色和透明度,因此,可自动完成完整尿样分析测定,无需肉眼进行测定。

目前使用的大多数全自动尿干化学分析仪均拥有条形码读取器可用于识别标本、对照物和校准物质。还有电机驱动系统机械部分及流体系统从标本管中吸取样品。此外,还可连接到实验室信息系统(laboratory information system, LIS)。

试带供纸质模块负责分配试带,将试带正面向上放置到传送器系统。进样针负责混合标本,然后从样品管中吸取一定量尿液,再将样品放置各个试剂模块上。试带试剂模块和尿中各种成分发生反应,而使试带变色,颜色变化由仪器进行读取。用过的试纸被送到废物容器。

仪器利用摄像机对试带反应全程进行自动图像捕获,有的试带还具备最低检出限及维生素 C 测试原理,从而提醒使用时与主要化学成分反应产生的潜在干扰,以避免假阴性结果。仪器内置高气密性自动送纸机,可自动排列试带并进行自动输送,无需手动排列,最大批量标本数为 60 个,甚至可多达 200 余个,并可自动读取条形码,真正实现了离机操作。

2. 仪器检测项目灵敏度和测量范围

尿干化学分析仪检测项目灵敏度和测量范围随不同厂家和不同型号略有不同,可参考欧洲尿液分析指南的要求。建议实验室在新购进尿干化学分析仪时可按照其推荐的比较方法确认该设备多项指标的检测限和确定限。

3. 质量保证

所有干化学尿液分析仪应有原厂配套质控品,只有在质控通过的状态下,仪器才能正常检测标本,以确保仪器对于结果的准确判读。

三、尿液干化学分析临床适用范围

1. 尿液酸碱度(pH)

人体肾脏和肺正常工作可维持人体的酸碱平衡。肺呼出二氧化碳,而肾脏则回收和产生碳酸氢根和铵离子。尿液的酸碱改变受许多因素的影响,如疾病、用药和饮食。pH 约 6.5,在 4.5~8.0 波动。尿液 pH 参考区间较宽与饮食关系较大,肉类蛋白质和一些水果可形成酸性

尿 pH($\text{pH} < 6$)；素食为主者尿 pH 增高($\text{pH} > 6$)。因此,通过尿 pH 检测可初步判断机体酸碱平衡状况,是一项有用的临床应用指标。

2. 蛋白尿

尿中仅有微量蛋白质是由于肾小管对蛋白质有极高的重吸收率,所以检测尿中蛋白质含量异常是肾病重要指标。正常的肾小球滤过膜只允许分子量 $< 50 \sim 60 \text{kDa}$ 蛋白质顺利通过,因此,肾小球滤过的原尿中主要为小分子蛋白(如溶菌酶、 β_2 -微球蛋白、视黄醇、轻链等),正常情况下由近端小管重吸收;而中分子量的白蛋白(66kDa)仅有极少量滤过;大分子($> 90 \text{kDa}$)球蛋白不能通过。近曲肾小管能将原尿中 95% 小分子蛋白重吸收,故正常尿液中蛋白含量极微($< 150 \text{mg}/24 \text{h}$),定性试验一般不能测出,当定性试验阳性或定量超过 $0.1 \text{g}/\text{L}$ 称为蛋白尿(proteinuria)。干化学法测定尿蛋白阳性时应引起足够重视。

3. 尿糖与酮体尿

在某些生理或病理情况下尿中可出现各种糖类,如葡萄糖、果糖、戊糖、半乳糖、乳糖、麦芽糖和蔗糖,其中葡萄糖最常见。

(1) 尿糖:健康人尿液中几乎不含葡萄糖或微量($< 2.0 \text{mmol}/\text{L}$)。当血糖浓度超过肾糖阈(一般为 $8.88 \text{mmol}/\text{L}$)或血糖浓度虽未升高但肾糖阈降低,会导致过多葡萄糖从肾小球滤出,尿中出现葡萄糖,尿糖定性试验呈阳性($> 2 \sim 5 \text{mmol}/\text{L}$)时称为葡萄糖尿(glucosuria),是诊断糖尿病的重要线索。尿糖阳性常提示血糖超过肾糖阈,因而尿糖阴性不能排除糖尿病。当肾功能减退,肾小管对葡萄糖重吸收能力减低,肾糖阈下降时,尽管血糖浓度正常仍可出现糖尿。进食大量糖类饮食、饮料、静脉输注大量葡萄糖、颅脑外伤、脑血管意外、急性心肌梗死等,亦可出现暂时性血糖升高而致糖尿。

(2) 酮体:酮体(ketone bodies)是脂肪代谢的中间产物,包括丙酮(2%)、乙酰乙酸(20%)和 β -羟丁酸(78%),均属酸性物质。健康人血中酮体含量极微,定性试验阴性,定量检验(以丙酮计算)为 $0.34 \sim 0.85 \text{mmol}/24 \text{h}$ ($20 \sim 50 \text{mg}/24 \text{h}$)。干化学法测定尿酮体仅测定乙酰乙酸和丙酮,试带与 β -羟丁酸不反应,当检测结果与临床症状不符时应引起注意。

4. 尿胆红素与尿胆原

(1) 胆红素:是血红蛋白的代谢产物,主要在脾脏、肝脏、骨髓网状内皮细胞中形成。胆红素分为与葡萄糖醛酸结合的结合胆红素和未结合胆红素两种。后者为非水溶性胆红素,不能通过肾小球屏障。前者能溶于水,部分可从尿中排出为尿胆红素(urine bilirubin),但含量极少($\leq 2 \text{mg}/\text{L}$),定性试验阴性。干化学法测定尿胆红素常以半定量形式报告结果。当肝病、胆道阻塞时,血中结合胆红素浓度增高,出现胆红素尿。

(2) 尿胆原:结合胆红素排入肠道转化为尿胆原(urobilinogen),从粪便排出为粪胆原,大部分尿胆原被肠黏膜重吸收经肝转化为结合胆红素再排入肠道,小部分尿胆原从肾小球滤过和肾小管排出。正常人尿液中尿胆原为 $0 \sim 20 \mu\text{mol}/\text{L}$,定性试验呈阴性或弱阳性。干化学法测定尿胆原常以半定量形式报告。溶血性疾病、肝病等可见尿胆原排泄增多。胆红素和尿胆原实验室检查有助于黄疸类型的鉴别诊断。

5. 亚硝酸盐

大肠埃希氏菌等革兰阴性菌能还原尿中硝酸盐为亚硝酸盐,亚硝酸盐阳性提示有泌尿系

统感染,见于40%~80%大肠埃希菌感染;而克雷伯杆菌、肠球菌、变形杆菌、葡萄球菌、假单胞菌属不能将硝酸盐转化为亚硝酸盐。亚硝酸盐试验阳性反应需要4个基本条件:①尿中有适量硝酸盐存在;②尿液在膀胱中停留4小时以上;③尿中致病菌含硝酸盐还原酶;④尿液必须新鲜,使用抗生素48小时内可干扰该试验。阴性结果不能排除泌尿系感染,可能是非硝酸盐消耗菌、尿频、尿稀释等所致。

6.尿隐血与红细胞

(1)尿隐血(occult blood, OB)与红细胞的干化学检测:正常人尿液中无游离血红蛋白。阳性提示尿液中存在红细胞(erythrocyte, ERY)或血红蛋白(hemoglobin, Hb)和(或)肌红蛋白(myoglobin, Mb)。血尿常见,血红蛋白尿少见,肌红蛋白尿罕见。当尿中ERY为5~10个/ μL 时, $\text{Hb} > 150 \mu\text{g/L}$, OB试验呈阳性,常提示血尿、血红蛋白尿或两者同时存在。OB试验具有较高灵敏度,临床上常用于尿隐血与红细胞、肌红蛋白尿筛查。

(2)显微镜检验尿中红细胞(red blood cell, RBC):尿试带法OB阳性标本,离心后显微镜观察可出现如下结果:①镜下血尿或肉眼血尿;②RBC和Hb混合尿肉眼观察尿液为红色,离心后尿沉渣和上清尿均为红色,高倍视野中有大量红细胞,此种标本较为常见;③Hb尿;④假阳性,主要原因可能是热不稳定过氧化物酶干扰。研究发现,尿液OB试验阳性标本约一半镜检无红细胞。因此,OB试验阳性标本应进行离心后显微镜检查,红细胞数量以镜检为准,必要时用特异性强的单克隆抗体法确证是否为Hb尿。

7.白细胞尿

尿液中白细胞(leukocyte, LEU)包括中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞。尿沉渣中白细胞数 > 5 个/HP(high power field, HP),称为镜下白细胞尿;若尿中含大量白细胞,使尿呈乳白色,甚至有脓丝或凝块,称为肉眼脓尿(pyuria)。

试带法检测尿液中白细胞是通过检测粒细胞胞质中酯酶水解吲哚酚酯和有机酸并进一步与重氮盐生成重氮色素的原理,而间接推算出每微升尿中白细胞数量。常以半定量形式报告结果。对泌尿系统感染有筛查价值,但不能检测尿中单核细胞和淋巴细胞,故不适于免疫性疾病、泌尿系结核和肾移植后排斥反应等淋巴细胞增多性疾病的检验。

8.比重(specific gravity, SG)

是4℃条件下尿液与同体积纯水的重量之比。SG高低与尿量、尿中可溶性物质质量及性质有关,可粗略反映肾小管浓缩与稀释功能。在病理状况下,SG还受尿中蛋白质、糖及细胞等成分影响。连续监测尿液SG变化比一次测定更有意义。正常成人在水摄入充足时24小时期间尿比重应为1.016~1.022,但正常肾脏可将其控制在1.003~1.030范围。

干化学法测定尿比重是一种间接测量方法,其方法不受高糖,蛋白质或造影剂的影响。SG是判断肾小管浓缩稀释功能的良好指标,也对临床输液和休克扩容治疗有良好的指导作用。

四、尿液干化学分析临床应用评注

1.尿液多联试带干化学法检验的优势与局限性

(1)优点:具有简便、快速、可定性或半定量等优点,目前临床上广泛使用。尿液在浸入不同检测项目的试纸条后,根据设计反应原理不同,呈现不同反应颜色。根据反应颜色变化进行

定性或半定量检验。可用于患者家中监测。

(2)局限性:①是一种筛查试验,由于多联试带各项试验原理不同,尿中干扰因素多,检验结果有一定假阳性或假阴性,不能代替传统化学检测“湿化学法”后者可准确定量,且干扰因素少。②有关细胞筛查项目,如白细胞、红细胞检查,也不能取代尿有形成分显微镜检验。③亚硝酸盐试验阳性或阴性也不能取代尿液细菌培养等检验。

(3)尿试带法与尿沉渣检验应联合应用:无论试带法结果如何,都应做显微镜检验,应制定并验证尿液有形成分分析的显微镜复检标准。因此,临床上的尿常规检验应该包括理学、干化学和尿沉渣镜检三部分内容。

2. 影响尿液干化学检验结果的一些因素

(1)比重:尿 pH 值对试带法测定尿比重有很大影响,当尿液 $\text{pH} \geq 7.0$ 时,尿必然存在氢氧根离子(OH^-), OH^- 中和了氢离子(H^+),导致 H^+ 不与试带中酸碱指示剂反应,使测定结果偏低,故应在测定值上增加 0.005 作为补偿。试带法测定尿比重是测定尿液离子浓度,而比重计法和折射仪法都是测定尿中固体物浓度,所以结果存在一定差异。如尿中非离子型化合物增多,如葡萄糖、造影剂等,可导致折射仪法和比重计法测定结果高于试带法。尿蛋白浓度增高时,对比重计法和折射仪法有影响,其原因是由于蛋白质是两性电解质,本身既带电荷又有固体量。此外,干化学法不适用于测定新生儿尿液,可能是由于新生儿尿比重太低(比重在 1.002~1.004)。

(2)pH 值:检测时尿液必须新鲜,容器应装满尿以减少死腔量,盖紧。装入标本后最好冷藏,但不能冻结,否则 pH 值会上升。因放置过久 CO_2 丢失和细菌分解尿素等成分使其 pH 改变,如变形杆菌分解尿素产氨,尿液变碱。测定时,如试带浸入尿时间过长,尿 pH 呈减低趋势。某些食物、药物、生理活动和肾功能异常都会影响尿液 pH,在分析结果时应考虑上述因素。

(3)蛋白质:目前,试带法大多使用指示剂蛋白误差原理测定尿蛋白,会受到来自尿液 pH、蛋白质种类及其他一些干扰物质如药物等影响。因此,尿液一定要新鲜。当尿液偏酸($\text{pH} < 4.5$)或偏碱($\text{pH} > 9.0$)可致假阴性或假阳性,应将尿液 pH 调至 5~7 再行检测。试带法主要对白蛋白敏感,对球蛋白的敏感度只有白蛋白的 1/100~1/50,当 5.5g/L 球蛋白时仅为弱阳性反应,因而对肾病晚期出现高球蛋白尿(非选择性蛋白尿)时可呈假阴性。此外,当使用大剂量青霉素时,可出现假阴性。

用“湿化学法”可克服试带法部分缺陷。常用的方法有磺基水杨酸法和加热醋酸法,对尿蛋白检测的灵敏度分别为 0.05~0.10g/L 和 0.15g/L。磺基水杨酸法灵敏度高,对白蛋白、球蛋白、本周蛋白均可反应,但影响因素也不少。加热醋酸法的准确性高,是尿蛋白定性的参考方法。当遇干化学法受干扰、高球蛋白尿时,宜选用这两种方法测定。由于临床蛋白定性试验多采用随机尿,易受尿液浓缩和稀释的影响,难以准确反映尿蛋白的排出总量,一般应以 24 小时尿蛋白定量为准。

(4)尿糖:试带法是基于葡萄糖氧化酶的酶促反应,特异性强,敏感度高。与班氏法不同的是,不与其他还原性糖(如果糖、半乳糖、甘露糖等)及所有还原性物质[如维生素 C(vitamin C, VitC)等]反应。尿中大量 VitC 可竞争抑制低浓度葡萄糖($< 14\text{mmol/L}$),使试带法出现假阴

性结果。此外,尿量对其结果亦有影响,尿少时尿糖阳性强,尿量多时阳性可减弱。临床可见糖尿病治疗后血糖下降但尿糖阳性不减弱,可能是患者喝水减少引起尿量减少所致。

(5)酮体:尿酮体中丙酮和乙酰乙酸都具有挥发性,后者更易受热分解为丙酮,尿液被细菌污染后,酮体会消失,使阳性反应强度减弱或假阴性,因此标本一定要求新鲜。试带法与尿液中酮体不同成分的敏感度不同,对乙酰乙酸最敏感(50~100mg/L),丙酮次之(400~700mg/L)、不与 β -羟丁酸反应,因此,不同病程酮体成分的变化会给检测结果带来影响。如糖尿病酮症酸中毒早期酮体成分以 β -羟丁酸为主,乙酰乙酸很少或缺乏可出现假阴性结果,导致对总酮体量估计不足;而在糖尿病酮症酸中毒逐步缓解之后,乙酰乙酸量反而增高,可能会影响对患者的病情分析。

(6)尿胆红素与尿胆原:其检测原理要求尿液必须新鲜并避光,否则可致胆红素氧化降解成胆绿素,使阳性结果减弱或转为阴性,尿胆原可转变为尿胆素。尿中存在高浓度 VitC 和亚硝酸盐时,可致尿胆红素呈假阴性;大量氯丙嗪、盐酸苯偶氮吡啶可致其假阴性。此外,正常人尿胆原排出量每天波动较大,午后 2~4 时达高峰,上午和夜间较少,同时其排泄率还与尿 pH 相关。

(7)亚硝酸盐:鉴于亚硝酸盐的检测原理,当尿液标本放置时间过久被细菌污染或尿液中色素含量高时可呈假阳性;如粪链球菌等非利用硝酸盐细菌感染、尿液在膀胱中停留时间过短、使用利尿剂、高比密尿、大量 VitC 干扰、食物中缺乏硝酸盐等可致假阴性。

(8)隐血/红细胞:试带法是基于血红蛋白中亚铁血红素具有过氧化物酶样活性的检测原理,因此当尿液中含有肌红蛋白、热不稳定酶或菌尿时,可导致其假阳性;泌尿系统感染时,某些细菌产生的过氧化物酶也可出现假阳性反应;试带法与显微镜法检测尿中完整红细胞具有一定的相关性,但当肾病、糖尿病患者红细胞在泌尿道已遭到破坏时,则可使试带法与镜检法结果出现差异,此时要结合临床综合分析,必要时动态观察。此外,高浓度蛋白尿、高比密尿、尿 pH<5.0、尿中存在高浓度 VitC 或其他还原物质时可造成假阴性。

(9)白细胞:试带法检测白细胞阳性时,应作显微镜检验,但两种结果常存在差异。如试带法阳性而镜检阴性,可能是尿中粒细胞溶解释放出酯酶于尿中所致;当尿液中存在高浓度胆红素,服用呋喃坦啶等药物,试带法可出现假阳性结果;高比密尿、大量蛋白尿(>5g/L)、尿糖浓度过高、大剂量使用先锋霉素Ⅳ、庆大霉素后、尿中 VitC 浓度增高和高浓度草酸均可致试带法结果假阴性。肾移植患者观察排异反应时不适合采用试带法检测白细胞(淋巴细胞),因此法只测定粒细胞。

(10)VitC:一般采用还原法测定,灵敏度约为 50~100mg/L。尿中 VitC 浓度增高,可抑制隐血/红细胞、胆红素、葡萄糖、亚硝酸盐与试剂的反应而呈假阴性,抑制的程度随 VitC 浓度增加而加大。因此,VitC 测定不作为尿中 VitC 定量用,主要是依据其浓度提示上述几项检测结果的准确性,避免出现假阴性结果。

第二节 尿液有形成分自动化检查进展

随着科技不断进步,人们健康意识日趋增强,尿液检测量大幅攀升,尿有形成分人工显微镜检查凸显不足,自动化尿有形成分分析仪应运而生。目前,国内、外已较普遍使用能对尿有形成分进行自动分析的仪器,迄今为止,这些设备主要分为两大类:一类是采用显微镜数码成像分析技术原理,另一类采用流式细胞术,均可直接检测不离心新鲜尿液标本,快速定量计数尿中各种有形成分,其结果重复性较人工镜检方法有显著提高。同时能与实验室信息系统接口,便于检索和结果报告,已逐步成为常规尿有形成分筛查试验,全自动尿液有形成分分析仪的临床应用大大提升了尿液检测效率,仪器结果阴性样本可不必进行人工镜检。由于有形成分分析仪不能像人工镜检那样准确识别各种有形成分,对其筛查出的异常标本必要时应由检验人员使用显微镜进一步确认。

一、尿液有形成分自动化分析仪发展史

尿液成分显微镜检查可以追溯到 17 世纪上半叶,但在 20 世纪 80 年代之前,在临床实验室中,尿液有形成分的检测基本上都是采用光学显微镜的人工镜检方法。尿液有形成分的自动化进程一般认为始于 1983 年,美国国际遥控影像集团公司(International Remote Imaging System, Inc., IRIS)推出了世界上第一台尿液有形成分分析工作站“YellowIris”,该仪器主要检测原理以电视摄像模式获取尿中有形成分图像,并采用智能化自动显微镜技术(automated intelligent microscopy, AIM),根据所拍摄细胞大小来进行有形成分计数和分类,从而改变了尿液有形成分分析技术的历史。由于该工作站的细胞鉴别还是以人工方式,实际自动化程度不高,较难在实验室普及使用。

1990 年日本希森美康公司(Sysmex)的前身日本东亚公司(TOA)与美国国际遥控影像系统有限公司(IRIS)合作,对其生产的 Yellow IRIS 进行改进,研制生产出了以流式细胞术结合照相技术的尿有形成分自动分析系统 UA-1000,检测速度为 70 个样本/小时。在 1993 年,TOA 公司在 UA-1000 基础上,生产出了尿液有形成分自动分析系统 UA-2000。两款仪器主要由平面流动池和 CCD 摄影相机、影像信息处理机和荧光显示屏等构成。

鉴于当时数字照相技术和计算机分析技术的局限性,该分析仪对图像分析和鉴别能力较差,生产成本颇高,导致未能在临床实验室普及应用。随着流式细胞术与数字流动摄像分析术合作失败, Sysmex 与 IRIS 开始研发各自不同优势的尿液有形成分分析技术,形成了目前市场上的两大技术流派,即尿液有形成分流式细胞术和数字图像分析技术。

二、两种尿有形成分分析系统的优势与局限性

1. 数字图像分析技术的尿有形成分分析系统

以美国 IRIS 公司 1Q200 系列尿液有形成分分析仪最具代表性。经多年技术改进和发展,该产品为适应不同用户需求生产出不同速度和型号仪器。目前,1Q200 系列仪器可与 iChem Velocity 尿液干化学分析仪器一起组合成 iRICELL 系列全自动尿液分析流水线系统。可将显微镜镜检结果和干化学检测结果合并在一起,可在同一个电脑屏幕中进行查阅和

分析,并发出检验报告。

该系统测定原理主要由三大技术构成:①系统采用平面流式细胞技术,鞘液包裹着样本,使细胞相对独立地分布在一个平面空间内,避免发生重叠;②显微镜数码成像,鞘液层压中的标本被输送至与 CCD 像机连接显微镜镜头前,并被数字相机拍照;③APR(auto particle recognize)图像形态学分析软件,计算机系统通过神经网络对颗粒进行自动识别和分类,可直接显示有形成分形态用于人工审核检测结果。

1Q200 可报告参数 39 项,包括 12 项自动分类和 27 项需人工确认进一步分类参数,并有两个水平原厂质控品,仪器能对质控数据进行汇总,并自动生成 L-J 曲线,对其检验质量提供保证。

由于:①尿中有形成分复杂,在不同尿液环境中会出现不同变化;②流动池中有形成分随着拍照角度不同会呈现不同形态,拍摄图片与镜下观察有一定区别;③检测标本无染色,生成的是黑白图像,尿中某些有形成分需染色确认,如确定标本中脂肪滴,需苏丹红(黑)染色;④标本中存在大量不规则结晶时,设备可能会将其误认为红细胞、出芽酵母菌等;⑤尿管型成分复杂,图片不能完全呈现完整细节;⑥图像是静止的,不能观察到毛滴虫类鞭毛运动。鉴于上述情况,此类设备存在局限性是必然的。因此,当上述情况出现时,仍需人工识别和判断。实验室需根据各自临床不同情况,建立并验证本实验室人工显微镜复检规则。使用该设备的检验人员需要不断地进行专业培训,熟练掌握图像识别和确认技巧。

2.流式细胞分析技术的尿有形成分分析系统

目前,以流式细胞术为原理的尿有形成分分析仪仅为日本希森美康公司所有,从 1995 年的 UF-100 到 2006 年的 UF-1000i,2012 年的 UF-1000i/AX4030 尿液分析工作站,即将尿有形成分分析和尿干化学分析同时发出报告。

该检测系统的核心技术是以半导体激光作为激发光源,用核酸荧光染料对尿中各有形成分进行染色,以流式细胞术作为有形成分计数和分类手段,并以强大计算机软件系统作为有形成分分析平台,创立尿有形成分分析自动化的新方法,并逐渐成为临床实验室尿液检测的常规设备,很大程度满足了临床日益增大尿检数量需求,特别是该系统建立并标配尿有形成分人工镜检筛查规则的 LABOMAN 复检软件,为临床实验室复检奠定了基础。

UF-1000i 可报告参数有白细胞、红细胞、上皮细胞、管型和细菌(BACT)。另外,还可提供 8 个定量的研究参数,如结晶、酵母菌、小圆上皮细胞、病理管型、精子、黏液丝和电导率。同时可将尿中红细胞形态信息(RBC-info)、尿路感染信息(UTI)和电导率(conductivity)参数进行分级报告。设备配有 2 个浓度质控品,每日质控后可自动生成 L-J 质控图进行质控分析与管理。UF-1000i 系列仪器能以报警信号方式提供红细胞“Dysmorphic?”(非均一性?)、“Iso-morphic?”(均一性?)和“Mixed?”(未分类?)信息,提示其可能来源于肾小球或非肾小球,也能通过核酸荧光试剂对尿中细菌染色,并在特殊通道对其计数和识别,为尿路感染诊断间接提供快捷证据。

鉴于 UF-1000i 系列有形成分分析系统检测原理的局限性也显而易见。流式细胞术对有形成分的识别是建立在对颗粒体积大小、颗粒内部成分复杂程度、不同颗粒核物质的多少,以及荧光染料不同亲和力来判断,而不是对形态直接辨认。因此,有将相似形态不同有形成分

混淆的可能,特别在检测标本不新鲜情况下更为明显。此外,数字成像系统分析仪也存在上述④~⑥项描述的缺陷,故以流式细胞术为原理的尿有形成分分析仪亦属筛查类检验设备,必须建立并验证人工显微镜检查可疑尿有形成分复检规则,为临床提供可信的实验室诊断相关资料。

第三节 尿液有形成分显微镜检查进展

尿液虽经尿干化学试带法和自动化尿有形成分分析仪筛检,但均不能替代人工显微镜对尿沉渣中病理成分的确认。尿液显微镜检查与尿干化学分析相结合有助于发现和检测肾脏及泌尿道的疾病过程。用显微镜检测尿中干化学法无法检测到细胞和非细胞等有形成分。显微镜检查能作为干化学法检测红细胞、白细胞及细菌确证实验。在常规实验室,尿沉渣检查标本最好保留,对干化学试带异常结果复检非常有用。在实施显微镜检查前,检验人员必须掌握尿液有形成分形态学基本知识,如病原微生物、血细胞、上皮细胞、管型、结晶等。同时,检验人员也应知晓尿中出现有形成分的临床意义,并能结合干化学检测的异常结果做出相应解释。特别注意的是,在承担发布尿异常报告职责前,检验人员必须由经验丰富的专业人员进行尿有形成分形态学严格培训和考核后才能上岗。

尿中包含所有不溶性物质,这些物质均由经肾小球滤过流经肾小管和下尿路后累积下来。细胞成分有两个来源:①脱落于肾及下尿道的上皮细胞;②血细胞,如白细胞和红细胞。尿中还可可见在肾小管和集合管形成的细胞或非细胞性管型和许多具有临床病理学意义的各类结晶体。此外,包括微生物(细菌、真菌、病毒包涵体和寄生虫等)以及肿瘤细胞。当检测到后者需做进一步检查。

显微镜检查通常使用离心尿。也有研究认为非离心尿液是定量计数尿红、白细胞更理想的方法,但尿沉渣镜检更重要的目的是为了发现有临床意义的病理成分,如管型、病理性结晶及肿瘤细胞等含量较少的有形成分。因此,规范化离心后尿有形成分人工镜检仍然十分必要,有条件的实验室应对全部标本进行人工镜检。如因标本量太多不能全部镜检时,实验室应建立尿液检验复检规则,并予以验证确认。

尿有形成分参考区间不同实验室有所不同,其原因是:①随机尿标本中有形成分浓度随尿量改变而变化;②使用不同离心沉淀方法浓缩尿沉渣,未使用特定的标准程序。所以,实验室应与肾脏科医师和病理医师沟通后建立自己的参考区间。

一、检查尿沉渣的方法

一般情况下,收集随机尿标本进行显微镜检查是满意的,但建议尿标本必须新鲜,特别是不添加防腐剂。通常,细胞和管型在标本收集2小时内就开始溶解,在低温2~8℃时有助于防止病理成分溶解,但却可能会增加各种非晶型和晶型结晶体沉淀。建议收集中段尿,女性应注意避免阴道分泌物污染。通常可用以下几种显微镜。

1. 明场显微镜

尽管明场显微镜可在一定范围内用于检测未染色尿标本,但在鉴定白细胞、巨噬细胞、上