

酵母样真菌的浓度对 UF-1000i 尿沉渣分析仪检测结果的影响

罗小兵¹, 尤举铭² (1. 广州市番禺区第二人民医院检验科 511470; 2. 陕西省汉中市中心医院检验科 723000)

【摘要】 目的 探讨不同浓度的酵母样真菌对 UF-1000i 尿沉渣分析仪检测结果的影响。**方法** 将白色念珠菌用无菌生理盐水制成 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 /mL 浓度的菌悬液, UF-1000i 尿沉渣分析仪分别检测菌悬液以及生理盐水对照, 分析红细胞、白细胞及酵母菌结果。再取各浓度菌液, 加入定量的血细胞, 用同样步骤进一步验证。**结果** 白色念珠菌的浓度为 10^3 /mL 和(或) 10^4 /mL 时, 检测指标与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。浓度为 10^5 /mL~ 10^7 /mL 时, 酵母菌和红细胞的计数结果明显高于对照组($P<0.05$), 而且红细胞计数随浓度增加而递增。浓度达到 10^7 /mL 时还引起白细胞计数的增高($P<0.05$)。**结论** 酵母样真菌在 UF-1000i 尿沉渣分析仪中的检出数量与产生干扰的数量相同, 均为 10^5 /mL; 大于或等于此数量可引起仪器红细胞计数假性增高; 其浓度达到 10^7 /mL 时, 也干扰仪器白细胞计数结果。

【关键词】 酵母样真菌; 尿沉渣分析仪; 红细胞; 白细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.18.013 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)18-2284-02

The effect of yeast-like fungus diversity on the results by UF-1000i urine cell analyzer LUO Xiao-bing¹, YOU Ju-ming² (1. Clinical Laboratory, The Second People's Hospital of Panyu District, Guangzhou 511470, China; 2. Clinical Laboratory, The Hanzhong Central Hospital, Hanzhong, Shanxi 723000, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the effect of yeast-like fungus diversity on the results by UF-1000i flow cytometer. **Methods** Five levels of albicans monilia suspension (range from 10^3 /mL to 10^7 /mL) and the normal saline control were analysed, the quantity of yeast, red blood cell and white blood cell were used to evaluated. To confirm these, the five levels of suspension were added into some quantitative blood cells, and they were analysed by same procedure. **Results** Three indices had no difference from the control when the dose of albicans monilia was 10^3 /mL or 10^4 /mL. But the quantities of yeast and RBC were significantly increased comparing the control as the doses reached to 10^5 /mL— 10^7 /mL. Moreover, the amounts of RBC were increased progressively accompanied with the increasing dose. Meanwhile, as the dose reached upon 10^7 /mL, the quantity of WBC was also significantly increased. **Conclusion** The detectable diversity is the same as interference-induced diversity of yeast-like fungus is 10^5 /mL by UF-1000i urine cell analyzer, the quantity of RBC is false increased in or upon this concentration. When the density upon 10^7 /mL, the WBC quantity is also false increased.

【Key words】 yeast-like fungus; urine cell analyzer; red blood cell; white blood cell

UF-1000i 尿沉渣分析仪是目前常用于尿液有形成分筛查的自动化分析仪, 该仪器具有检测快速、敏感度高、精密度高优点。但有文献报道, 大量酵母菌可引起仪器红细胞计数的假性增高^[1]。为准确了解该仪器对酵母样真菌的检出浓度与产生干扰浓度以及两者间的关系, 作者进行了相关分析, 以期对仪器的全面评价和结果正确判断提供依据。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 UF-1000i 尿沉渣分析仪及配套试剂, 质控物均购自日本 Sysmex 株式会社。10 μ L 定量接种环购自法国生物梅里埃公司。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液制备及实验分组 实验分为生理盐水(对照组)、白色念珠菌悬液组、含血细胞生理盐水组(血细胞对照组)和含血细胞白色念珠菌悬液组。白色念珠菌来自本科细菌室(分离自尿液标本), 用无菌生理盐水将其制成 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 /mL 不同浓度菌悬液组, 每个浓度设 3 个平行样本, 浓度确定采用显微镜计数结合平板计数法。然后再取一定体积的 5 种菌悬液分别加入已知浓度的红细胞(RBC)和白细胞

(WBC), 制成含血细胞的菌悬液组。

1.2.2 检测方法 UF-1000i 尿沉渣分析仪按仪器操作规程进行操作, 先测定质控品, 质控合格后再进行样本测定。每个浓度的菌悬液及生理盐水对照组均交替平行测定 5 次后, 再同样方法测定含血细胞的菌悬液及生理盐水(血细胞对照组), 所有测定于 3 h 之内完成, 然后记录、统计分析结果。

1.3 统计学处理 用于分析统计的软件为 SigmaState, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计分析采用单因素方差分析(ANOVA), 实验组与对照组的比较采用最小显著差法(LSD), 实验组间的比较采用 q 检验(Newman-keuls test), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同浓度菌悬液时红细胞、白细胞和酵母菌的仪器计数结果(表 1)。

2.2 不同浓度菌悬液中加入定量的血细胞后 3 项指标的仪器计数结果(表 2)。由表 1、表 2 的结果可以看出: 当白色念珠菌的菌悬液浓度小于 10^5 /mL 时, 仪器对其不能检出, 亦没有引起红细胞和白细胞计数的差异。但当浓度达到 10^5 /mL 时, 在

其被检出的同时也造成了红细胞计数的明显差异($P<0.05$),而且这种差异程度随着浓度的增加而增加。当其浓度达到 $10^7/\text{mL}$,白细胞计数结果也明显高于含血细胞生理盐水组($P<0.05$)。

表 1 不同浓度菌悬液 3 项指标的仪器测定结果
($\bar{x}\pm s, n=15, \text{个}/\text{微升}$)

组别	酵母菌	红细胞	白细胞
生理盐水组	0	2 ± 1	0
$10^3/\text{mL}$ 组	0	2 ± 2^a	0
$10^4/\text{mL}$ 组	0	3 ± 2^a	0
$10^5/\text{mL}$ 组	34 ± 4^b	39 ± 6^b	2 ± 2^{ab}
$10^6/\text{mL}$ 组	256 ± 36^b	407 ± 49^b	3 ± 2^{ab}
$10^7/\text{mL}$ 组	$2\,953\pm 87^b$	$3\,872\pm 92^b$	16 ± 5^b
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

注:与生理盐水组比较, $^aP>0.05$, $^bP<0.05$ 。

表 2 含血细胞菌悬液 3 项指标的仪器测定结果
($\bar{x}\pm s, n=15, \text{个}/\text{微升}$)

组别	酵母菌	红细胞	白细胞
含血细胞生理盐水组	0	22 ± 3	8 ± 3
$10^3/\text{mL}$ 组	0	23 ± 5^a	9 ± 3^a
$10^4/\text{mL}$ 组	0	25 ± 6^a	10 ± 4^a
$10^5/\text{mL}$ 组	48 ± 10^b	45 ± 8^b	9 ± 5^a
$10^6/\text{mL}$ 组	387 ± 28^b	307 ± 59^b	11 ± 3^a
$10^7/\text{mL}$ 组	$3\,765\pm 71^b$	$2\,102\pm 112^b$	28 ± 6^b
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

注:与血细胞对照组比较, $^aP>0.05$; 与血细胞对照组比较, $^bP<0.05$ 。

3 讨 论

UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪采用流式细胞及电阻抗的原理,通过检测经荧光染色后的单个细胞的荧光强度、散射光强度及电阻抗的大小来识别尿内细胞、管型、结晶等各种有形成分。近年来,关于酵母样真菌引起其红细胞计数假性增高的报道日渐增多^[2-4]。这些报道较好分析了酵母样真菌干扰细胞计数的大体情况和导致干扰的原因,但都没有指出产生干扰的具体浓度和相应的检出浓度,以及二者存在何种关系。基于此点,作者用临床最常见的酵母样真菌(白色念珠菌)进行了仪器的检出及抗干扰浓度分析,以期对仪器的合理、客观评价和临床结果判断提供一定依据。

结果显示,UF-1000i 尿沉渣分析仪检测白色念珠菌时,检出浓度和产生干扰浓度均是 $10^5/\text{mL}$,说明仪器检测白色念珠菌可能存在“只要检出即有干扰”现象。因此,使用该仪器检测到酵母菌时,应当考虑到红细胞计数的假性增高。同时,在检测其他体液标本比如脑脊液中酵母样真菌(如新型隐球菌)时,还应注意检出的浓度下限,当检出结果为阴性时不能排除感染。结果还显示,红细胞的假性增高随着白色念珠菌的浓度增

加而加剧,这与有关报道一致^[5]。一些报道指出,仪器的部分荧光参数有助于鉴别红细胞与细菌或酵母菌^[6-7]。作者对此也进行了初步试验,发现酵母菌存在时,仪器的前向散射光强度(S-FSC)、侧向散射光强度(S-SSC)及荧光强度(S-FLH 和 S-FLL)均明显高于单纯血细胞组($P<0.01$,数据未列出)。应当注意的是,本研究样本量有限,标本也与临床标本有所不同,还需要更多的临床数据来支持与验证。

此外,还发现当白色念珠菌的浓度达到 $10^7/\text{mL}$ 时,亦会引起仪器白细胞计数的假性增高。这可能与白色念珠菌浓度较大时,因其本身含有的大量细胞核及孢子等物质,导致荧光信号与白细胞重叠或类似有关^[5]。这也提示,仪器测定白细胞时还应鉴别大量酵母菌的干扰。作者发现白色念珠菌的菌体大小和连体孢子的数量及大小、菌体内是否有细胞核等都会影响仪器的 3 项指标的计数结果。通常情况下,菌体较小、连体孢子多及无细胞核时更易干扰红细胞计数;反之,对白细胞的干扰作用有所增加。还有,由于作者使用的溶剂不是尿液,也可能对计数结果造成一定影响,但作者认为不会影响到结果的统计学意义。

综上所述,UF-1000i 尿沉渣分析仪检测酵母样真菌时,应当注意“检出即有干扰”的现象,当显示检出酵母菌时,应考虑红细胞和白细胞存在假性增高。

参考文献

[1] 马郑辉. UF-100 全自动尿沉渣分析仪各检测项目假阳性结果的分析[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(1): 67.

[2] 刘景瑶, 孟冬梅, 赵冬梅, 等. Sysmex UF-100 全自动尿沉渣分析仪在临床检测中的应用[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(10): 2356-2357.

[3] 陈忠, 邹晓月, 袁立新. UF-100 尿沉渣分析仪和干化学检测尿中红细胞和白细胞及管型的干扰因素分析[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(4): 534-537.

[4] 毛菊珍, 顾国浩, 丰斌, 等. iQ200 全自动尿沉渣分析仪假阳性图像的影响因素探讨[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(5): 397-398.

[5] 马丽, 袁汉尧, 王小梅. 酵母菌对 UF-100 全自动尿沉渣分析仪红细胞检测结果的影响[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(3): 161-162.

[6] 马骏龙, 丛玉隆. 细菌对尿液分析仪测定尿红细胞的影响[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22(4): 205.

[7] 邱方城, 秦维超, 李雅嫦, 等. Sysmex UF-100 全自动尿沉渣分析仪检测尿红细胞影响因素分析[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(6): 472.

(收稿日期: 2012-02-17)

(上接第 2283 页)

methods, proposed: a statistical approach; Approved Guideline. document EP6-A [S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.

[7] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 66-68.

[8] 顾柄权, 刘树林. 美国 MD-100 自动生化分析仪性能评价[J]. 陕西医学检验, 2000, 15(3): 37.

[9] CNAS-CL02. ISO15189: 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[10] 刘小娟, 黄亨建. 罗氏生化试剂用于奥林巴斯全自动生化分析仪的溯源性分析[J]. 华西医学, 2004, 19(3): 401-402.

(收稿日期: 2012-03-26)