

Автоматизации анализа мочи

Сравнение автоматического и
традиционного подсчета
форменных элементов

Волкова Ирина Александровна
К.м.н., РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

Традиционное исследование мочи

- **Общий анализ мочи (ОАМ)**
 - Физические свойства
 - Химическое исследование
 - Микроскопия осадка мочи

- **Определение количества форменных элементов** (эритроциты, лейкоциты, цилиндры)

До автоматизации все виды исследования проводились пробирочными методами с микроскопией форменных элементов

Автоматизация анализа физических/химических свойств мочи

Тест-полоски + отражательный фотометр (метод сухой химии)

- | | |
|--------------|---------------------|
| 1. плотность | 6. кровь/гемоглобин |
| 2. pH | 7. глюкоза |
| 3. белок | 8. кетоновые тела |
| 4. лейкоциты | 9. билирубин |
| 5. нитриты | 10. уробилиноген |

*В некоторых тест-полосках есть
дополнительные тестовые зоны*

*В инструкции к тест-полоскам указаны причины
ложноположительных и ложноотрицательных результатов
Перед работой с полосками мочу надо перемешать*

Аналитическая чувствительность тест-полосок

Полоски оценивают показатели **полуколичественно**, что допускает существенный разброс результатов в пределах каждой тестовой зоны полоски

Аналитическая чувствительность, т.е. минимальный уровень определяемого аналита, каждой тестовой зоны полоски соответствует первому положительному (позитивному) результату и отличается у полосок разных производителей

Аналитическая чувствительность полосок выше физиологической концентрации определяемого вещества, поэтому белок, глюкоза, кетоны и др., которые присутствуют в моче здорового человека в низкой концентрации, полосками не определяются

Цветная шкала сравнения

Гемоглобин	Neg	≈10	≈50	≈250			
Эритроциты (эритр./мкл)	≈5-10	≈50	≈250				
Кетоны (ммоль/л; мг/дл)	Neg	1,5/16	5,5/2	15/156			
Билирубин	Neg	+	++	+++			
Уробилиноген (мкмоль/л; мг/дл)	Normal	17/1	51/3	102/6	203/12		
Глюкоза (ммоль/л)	Neg.	2,8	5,5	17	55		
Белок (г/л; мг/дл)	Neg.	0,3/30	1,0/100	5,0/500			
PH	5	6	7	8	9		
Нитриты	Neg.	Pos.					
Аскорбиновая кислота (ммоль/л; мг/дл)	Neg.	0,6/10	1,1/20	2,3/40	3,4/60		
Удельный вес	1,000	1,005	1,010	1,015	1,020	1,025	1,030
Лейкоциты (Лей./мкл)	Neg.	≈10-25	≈75	≈500			

При оценке результатов цвет полоски сравнивается с цветовой шкалой

При наличии промежуточного цвета результат выдается в виде того значения, к которому цвет наиболее близок

Если показатель определяется, но его уровень ниже установленного нижнего предела, то результат может выдаваться в виде «следов» (space)

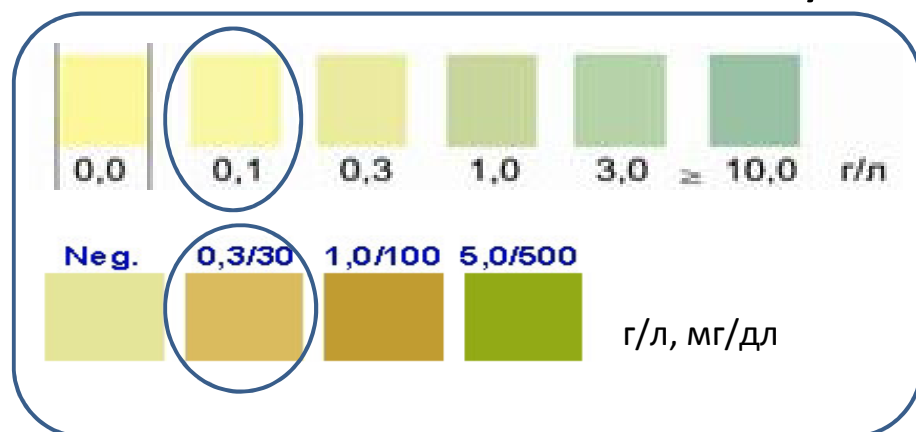
Тесты, вызывающие затруднения

Белок

Определяется преимущественно **альбумин**

Низкая аналитическая чувствительность

к миеломному белку и глобулину



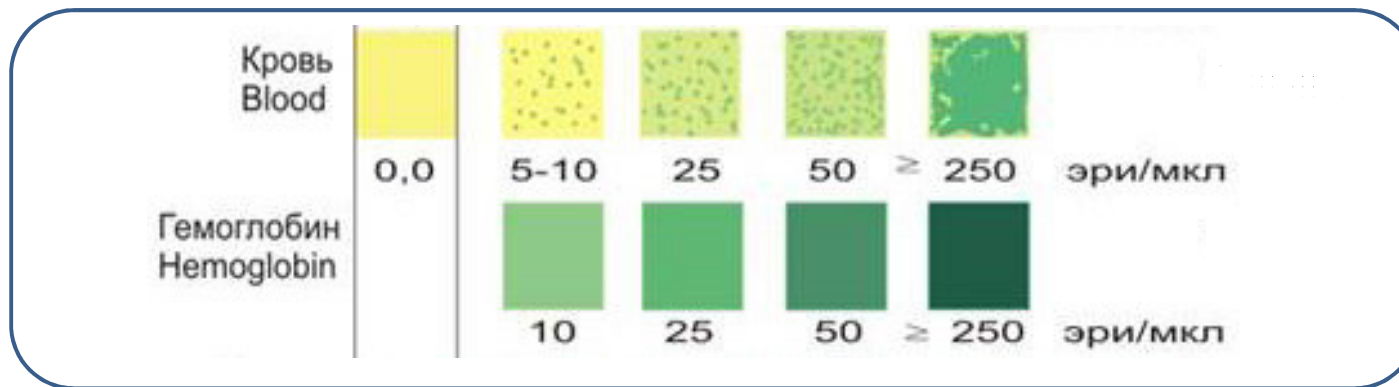
Чувствительность к белку
отличается в полосках разных
производителей
При высокой чувствительности
ошибка меньше

Рекомендации

В связи с низкой чувствительностью полосок к глобулину и миеломному белку рекомендуется определять белок дополнительно другими методами

Кровь (реакция на гем)

Полоски выявляют **гемоглобин, миоглобин и эритроциты**
 Чувствительность 5-20 эр./мкл

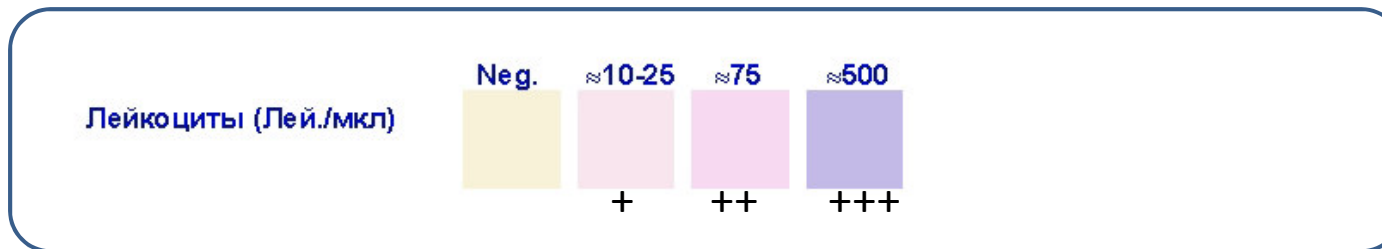


Параметр	Тест-полоски	Микроскопия
Неизмененные эритроциты (содержат Hb)	+	+
Измененные эритроциты (без Hb) - кислая моча, длительное хранение, повреждение клубочков почек)	-	+
Гемоглобин	+	-
Миоглобин	+	-

Полоски выявляют только неизмененные эритроциты

Лейкоциты (эстеразная активность)

Эстеразная активность **нейтрофилов** и гистиоцитов
Чувствительность 15-25 лей/мкл



Тест-полосками обнаруживаются:
целые и разрушенные нейтрофилы

Особенно актуальна оценка разрушенных лейкоцитов в щелочной моче, где форменные элементы (эритроциты, лейкоциты, цилиндры) разрушаются и не могут быть выявлены микроскопией

*Лимфоциты, моноциты и
другие клетки (не гранулоциты)
полосками не определяются!*

Соответствие количества лейкоцитов, определенных тест-полосками, и при микроскопии

Лейкоциты полоски	Микро- скопия	Интерпретация
Отр. (-)	N	Патологии не выявлено
Отр. (-)	> N	Лейкоцитурия, но лейкоциты не гранулоциты (лимфоциты, моноциты) Идентификация лейкоцитов: суправитальная окраска, уролейкограмма
		Ложное занижение*
Полож. (+)	N	Лейкоцитурия, в пробе разрушенные лейкоциты
		Ложное завышение*
Полож. (+)	>N	Нейтрофильная лейкоцитурия Оценивать совместно с тестом на нитриты

N – референтные пределы, + - положительный результат

*Ложные результаты связаны с влиянием на эстеразную активность посторонних веществ (указано в инструкции)

Результаты тест-полосок по крови и лейкоцитам следует включать в бланк анализа совместно с результатами микроскопии, что необходимо для адекватной интерпретации результатов

Дополнительная идентификация клеток проводится при несовпадении результатов тест-полосок и при микроскопии (лимфоциты, моноциты и др.) и включает:

- микроскопию суправитально окрашенных препаратов
- оценку окрашенных мазков из осадка мочи (уролейкограмма)

Различные популяции лейкоцитов при микроскопии нативной мочи не идентифицируются!

Традиционная оценка форменных элементов мочи ориентировочным и количественным методом

Показатель	Ориентировочный метод (осадок)	Подсчет по Нечипоренко
Объем мочи	10 мл	10 мл
Объем осадка	Не измеряется	1 мл
Степень концентрирования	Не известна	10
Толщина препарата	Не известна	0,1 мм
Объем анализируемой мочи	Зависит от объектива, окуляра и толщины препарата	Определяется сеткой камеры

В количественном методе стандартизованы степень концентрирования, толщина препарата и объем мочи при микроскопии

При микроскопии осадка в ОАМ эти параметры не стандартизованы и поэтому не известны

Микроскопия осадка в ОАМ

Количество форменных элементов в поле зрения микроскопа зависит от

- **степени концентрирования мочи**

- **просматриваемого объема мочи**

в поле зрения микроскопа, который зависит от

- **Толщины препарата**

- **Поля зрения микроскопа (определяется *линейным полем* окуляра)**

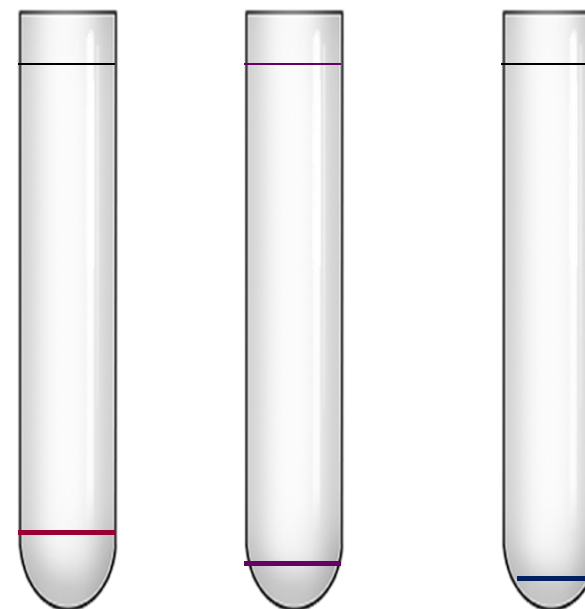
Зависимость количества клеток в поле зрения микроскопа от степени (фактора) концентрирования мочи

Параметры	1	2	3
Исходный объем мочи мл	10	10	10
Объем мочи для осадка мл	1	0,5	0,25
Фактор (степень) концентрирования (ФК)	10	20	40
Количество условных клеток в поле зрения	3	6	12

При разной степени концентрирования мочи количество форменных элементов будет меняться даже при микроскопии в одних и тех же условиях

Результаты разных операторов и в разных лабораториях могут отличаться в разы

Исходный объем мочи 10 мл



1

0,5

0,25

Объем осадка мл

Толщина препарата для микроскопии

При микроскопии осадка мочи на предметном стекле толщина препарата не стандартизирована и зависит

- от объема капли мочи, взятой для микроскопии*
- вязкости мочи*
- площади покровного стекла*

Толщина препарата **стандартизована и равна 0,1 мм** в:

Камере Горяева



Слайд-планшетах



Зависимость объема мочи в поле зрения микроскопа от линейного поля окуляра при толщине препарата 0,1мм

Величина линейного поля (мм) может быть указана на окуляре

Например, маркировка окуляра 10/22: 10 – увеличение, 22 – линейное поле

Тип окуляра	Линейное поле мм	Объем нативной мочи в п/зр.	Объем мочи в п/зр. ФК 10	Объем мочи в п/зр. ФК 20
Стандартный	18	0,017мкл	0,17 мкл	0,34
Широкопольный	22	0,027мкл	0,27 мкл	0,54

Примечание: п/зр. – поле зрения микроскопа, ФК – фактор концентрирования мочи
Стандартные условия микроскопии в большом п/зр.: окуляр x10, объектив x40

Объем нативной мочи в поле зрения микроскопа увеличивается при:

- Повышении степени концентрирования мочи*
- Увеличении линейного поля окуляра*

Автоматические анализаторы мочи – мочевые станции

*Современные методы лабораторной диагностики
позволяют полностью автоматизировать
рутинные анализы*

***Мочевые станции** полностью автоматизируют
исследование мочи, эффективны и просты в работе*

Мочевые станции включают:

- 1. Анализатор диагностических полосок** для химического исследования мочи (все анализаторы)
- 2. Анализатор форменных элементов** мочи (все приборы, отличаются по принципу идентификации элементов)
- 3. Канал для оценки бактериурии** (некоторые приборы)

Анализатор позволяет идентифицировать:

эритроциты, лейкоциты, цилиндры, эпителий, бактерии, дрожжеподобные грибы, кристаллы, слизь, сперматозоиды

Преимущества автоматических мочевых станций

- **Использование нативной мочи** (без обработки)
- **Снижение количества ошибок** (стандартизация анализа)
- **Освобождение сотрудников** от необходимости работы с пробами мочи
- **Использование небольшого объема мочи**, что удобно при отдаленной транспортировке проб и для детей
- **Сокращение времени анализа**
- **Снижение количества проб для микроскопии осадка**

Дополнительная идентификация клеток проводится:

**-при наличии не дифференцированных элементов
(клетки эпителия, атипичные и др.)**

-при несовпадении результатов тест-полосок и подсчета форменных элементов анализатором - лимфоциты, моноциты (микроскопия нативных, суправитально окрашенных препаратов, уролейкограмма)

Соответствие объемов мочи в анализаторе и при микроскопии

Появление мочевых станций с автоматическим подсчетом форменных элементов ставит вопрос о соответствии результатов подсчета форменных элементов мочи

традиционными и автоматическими методами

Варианты подсчета	Объем мочи
Анализатор В 1 мкл	1 мкл нативной мочи (универсальный количественный метод)
В поле высокого увеличения	Стандартный (0,18 мкл нативной мочи)
В поле низкого увеличения	Стандартный для прибора (в UF соответствует 2,9 мкл)
Микроскоп Микроскопия в п/зр.	Зависит от просматриваемого объема мочи в поле зрения микроскопа

Соответствие количества элементов в поле
высокого увеличения анализатора
и при микроскопии осадка мочи при большом
увеличении (объектив x40) установлено при:

- концентрировании мочи в 10 раз
- толщине препарата 0,1 мм
- окуляре 10/18, где 18 – линейное поле

*Количество форменных элементов в поле зрения
микроскопа растет и не соответствует
результатам анализатора при:*

- *большем линейном поле окуляра*
- *увеличении степени концентрирования мочи*
- *увеличении толщины препарата*

ВЫВОДЫ

Подсчет форменных элементов в автоматическом анализаторе мочи является количественным методом и не нуждается в дополнительных количественных исследованиях

Универсальным количественным методом является подсчет форменных элементов в 1 мкл нативной мочи

Соответствие результатов анализатора и микроскопии осадка мочи прослеживается только при стандартизации всех этапов подготовки мочи и условий микроскопии