

А. В. Козлов,  
докт. мед. наук

Г. Д. Большакова,  
канд. мед. наук

В. А. Зиминая,  
канд. мед. наук

Д. Г. Осташова

Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

## ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ АНАЛИЗА МОЧИ

(продолжение. Начало см. в № 1 (21) 2009, № 1–2 (22) 2010)

### *Ограничения количественных методов определения форменных элементов в моче*

Микроскопия осадка мочи, подсчет клеток в единице объема мочи, определение химического состава тест-полосками в XX столетии во многих странах представляет собой общепринятую процедуру анализа мочи. Данная процедура в настоящее время не способна в полной мере удовлетворить современным требованиям для выявления поражения почек, особенно на ранних стадиях, поскольку два важных ее этапа плохо поддаются стандартизации [1]. Первый — преаналитический, касающийся получения образца мочи.

Его решением занимались многие исследователи. В частности, А. Ф. Каковский практически всю статью, опубликованную в 1910 г. в газете «Русский Врач», посвятил проблеме стандартизации анализа мочи, в частности его преаналитического этапа. Многие положения этой статьи остаются актуальными и для нашего времени и заслуживают цитирования большого фрагмента статьи: «Наконец, нужно принять во внимание, что систематическое количественное исследование осадка имеет в виду только сравнение результатов анализов, для какой цели важно брать лишь мочу, выработанную почками при совершенно одинаковых условиях. С этой точки зрения я настаиваю именно на утренней моче, которая, кроме большой выгоды в смысле свежести, важна и потому, что отделяется почками обыкновенно при одинаковых и тех же условиях не только в отношении приемов пищи и питья, покоя и перспирации и пр., а все эти условия оказывают, как известно, большое влияние на свойства мочи. Ни в каком другом времени суток нельзя поставить больного в столь однообразные условия, как это удобно сделать ночью. Следует приучить больных ужинать за несколько часов до сна и до утра ночью не пить. При нужде же пить каждую ночь по возможности одинаковое количество одной и той же жидкости. Если больной ночью не может заснуть, то, во всяком случае, обязан оставаться в постели. Температура и степень влажности спальни должна быть одинаковой. Перед сном больной опорожняет свой мочевого пузырь и потом по возможности задерживает мочу в пузыре

до утра (в интересах свежести мочи), а утром мочится непосредственно в чистый бокал. Если больной не может так долго удерживать мочу, то в этом случае нужно собрать его ночную и утреннюю мочу. Словом, по моему мнению, при систематических сравнительных анализах осадка следует применять свежую мочу, отделенную почками в течение приблизительно 8 часов, предназначенных для сна. Для количественного микроскопического анализа, как и химического, следует брать обязательно суточную мочу, но для систематического количественного определения цилиндров и форменных элементов она не годится, ибо все же легко портится и мутнеет, вследствие чего часть цилиндров и форменных элементов совершенно распадается; к тому же, большое количество зернистого белкового распада, выпавшие минеральные составляющие части и пр. мешают точному количественному исследованию, равно как и муть сильно затрудняет отстаивание, отделение и центрифугирование осадка» [2].

Позднее, в 1925 г., известный канадский исследователь Т. Аддис занимался решением проблемы количественного подсчета организованных элементов в моче, изучая скорость выделения с мочой эритроцитов у «здоровых» студентов-медиков [3].

Второй этап: неавтоматизированный способ подсчета клеток в моче также трудно поддается стандартизации. Как следует из результатов ряда исследований, при этом способе коэффициент вариации может колебаться в значительных пределах — от 3,0 до 45 % при подсчете эритроцитов и от 3,4 до 40 % при подсчете лейкоцитов [4, 5].

Анализ результатов, полученных различными авторами (см. в № 1–2 (22) 2010), наводит на мысль, что попытка установления более или менее обоснованных референтных интервалов для большинства компонентов осадка мочи остается задачей, которую невозможно решить без использования автоматизированных систем.

### *Подходы к автоматизации процесса микроскопического анализа мочи*

1. *Анализ изображения.* Первые попытки автоматизации процесса микроскопии мочи были приняты более 25 лет назад [6]. В основу метода

ОБЗОРЫ

идентификации организованных элементов в моче с помощью анализатора Yellow IRIS был положен анализ изображения окрашенных частиц мочи, полученный с помощью видеокамеры. После сортировки частиц по форме и размерам проводили их идентификацию. Точность и чувствительность метода была выше по сравнению с неавтоматизированным микроскопическим методом. Пропускная способность анализатора была невысокой, результаты анализа зависели от концентрации частиц в моче и квалификации персонала.

Анализатор мочи Iris iQ200 «Urine Microscopy Analyzer», производимый в настоящее время компанией Iris Diagnostics (США), относится к следующему поколению анализаторов, основанных на технологии цифровой обработки изображений клеток, движущихся в потоке жидкости (рис. 1). Анализ частиц производят с помощью объектива и видеокамеры. Размеры, форму частиц, их контрастность, особенности структуры

анализируют с использованием современных компьютерных технологий [7].

Программное обеспечение позволяет проводить распознавание в автоматическом режиме не менее 12 разных организованных составляющих мочи и выводить результаты распознавания на экран в двух вариантах:

- в виде изображения обнаруженных элементов (рис. 2);
- в виде показателей в количественной (содержание в мкл) или в более привычной полуколичественной форме (рис. 3).

Те элементы мочи, которые не могут быть идентифицированы в автоматическом режиме, программное обеспечение относит к категории неклассифицируемых частиц (unclassified particles), среди которых могут присутствовать разные артефакты.

Оператор после просмотра изображений может визуализировать результат анализа или дополнительно

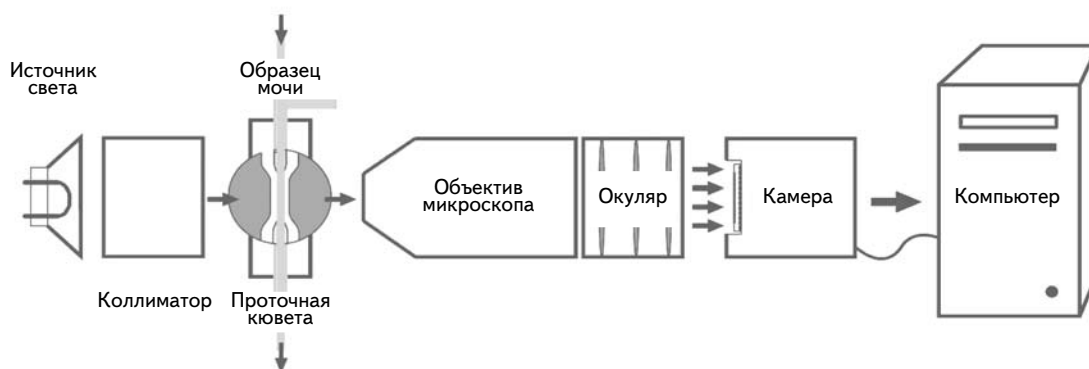


Рис. 1. Устройство анализатора мочи Urine Microscopy Analyzer Iris iQ200

1	WBC White blood cells	Лейкоциты				
2	RBC Red blood cells	Эритроциты				
3	SQEP Squamous Epithelial Cells	Клетки плоского эпителия				
4	WBCC White blood cells clumps	Скопления лейкоцитов				


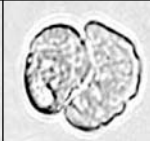



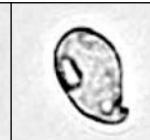








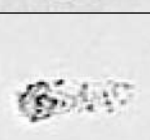

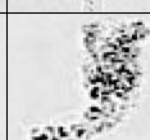
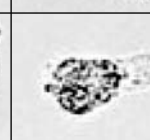


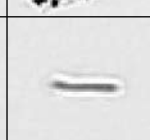
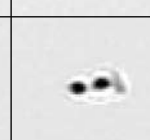







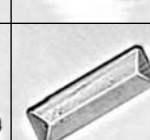
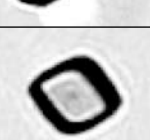


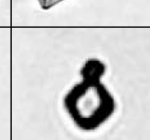


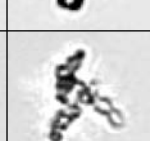
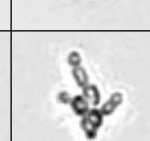

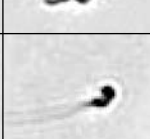
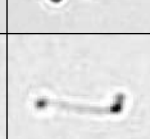




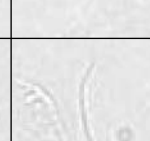
5	NSE Non-Squamous Epithelial cells	Эпителиальные клетки				
6	TREP Transitional epithelial cells	Клетки переходного эпителия				
7	REEP Renal Epithelial cells	Почечные эпителиальные клетки				
8	HYAL Hyaline casts	Гиалиновые цилиндры				
9	GRAN Granular Casts	Зернистые цилиндры				
10	Bact Bacteria	Бактерии				
11	CAOX Calcium Oxalate	Оксалат кальция				
12	TPO4 Triple Phosphate	Трехзамещенный фосфат (трипельфосфат)				
13	URIC Uric Acid	Мочевая кислота				
14	BYST Budding yeast	Дрожжи				
15	SPRM Sperm	Сперматозоиды				
16	MUCS Mucus	Слизь				

Рис. 2. Вид разных элементов мочи на экране монитора



Рис. 3. Результаты исследования на экране монитора

просмотреть частицы, отнесенные анализатором к категории «unclassified particles», с учетом собственного опыта и дополнительных морфологических критериев и дополнить реестр внесенных производителем определяемых объектов. Предусмотрен просмотр изображения всех «патологических» результатов и их редактирование в случае необходимости.

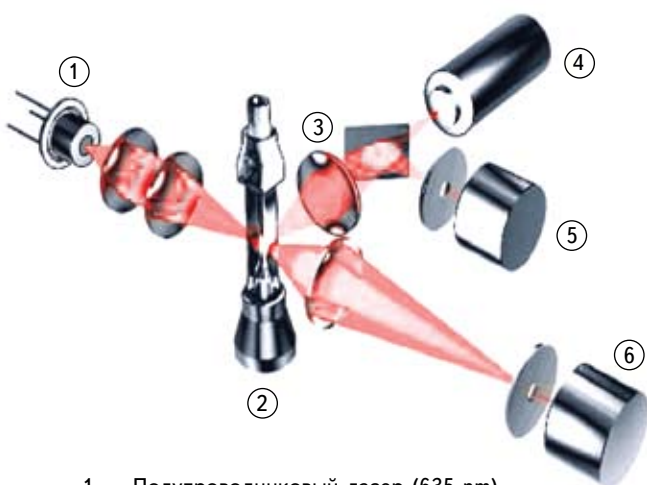
Сам анализатор iQ200 может работать в автоматическом режиме как микроскоп или в составе полностью автоматизированной системы анализа мочи в паре с анализатором тест-полосок. При количествен-

ном подсчете эритроцитов, лейкоцитов и клеток плоского эпителия в анализаторе iQ200 обеспечивается линейность, точность и воспроизводимость результатов [8].

Программное обеспечение позволяет определять бактерии и почечные элементы (цилиндры, эпителиальные клетки) с помощью обученного оператора. Установление типа цилиндров проводится при вмешательстве оператора. Клетки плоского эпителия полигональные, часто с острыми краями, могут выглядеть расфокусированными по сравнению с визуальной микроскопией [9, 10].

2. *Проточная цитометрия.* Принципиально иной подход к идентификации частиц мочи — проточная цитометрия — был задействован в анализаторах UA-1000 и UA-2000, представленных компанией Sysmex в 1990 и 1993 гг. В их основу был положен анализ изображения частиц мочи, полученных с помощью проточной цитометрии [11] на экране. Производительность анализаторов была невысокой, их эксплуатация требовала высокой квалификации персонала. Основным недостатком ранних автоматизированных систем анализа изображения заключался в том, что требовался постоянный контроль изображения со стороны оператора [12].

В более поздних моделях анализаторов Sysmex UF-50 и UF-100 для дифференциации элементов мочи одновременно используется проточная цитометрия, импеданс и окраска клеток двумя флуоресцентными красителями — карбоцианин (carbocyanine) для мембран клеток и фенантридин (phenanthridine) для нуклеиновых кислот. При отражении частицами мочи лазерного потока регистрируется два параметра —



- 1 — Полупроводниковый лазер (635 nm)
- 2 — Проточная кювета
- 3 — Спектральный фильтр
- 4 — Фотоэлектромножитель (флуоресценция)
- 5 — Фотодиод (боковое светорассеяние)
- 6 — Фотодиод (прямое светорассеяние)

Рис. 4. Оптическая схема анализатора UF-100 [15]

величина светорассеяния и интенсивность флюоресценции (рис. 4). Идентификация частиц основана на учете особенностей прямого светорассеяния, ширины светорассеяния и величины импеданса разными клеточными элементами мочи [13].

За счет автоматизации процесса цитофлуориметрии была достигнута высокая производительность (до 100 результатов/часов) и точность [14]. В более поздних моделях анализатора UF1000i аргоновый лазер был заменен на лазер полупроводниковый.

С помощью прибора UF1000i анализируют следующие показатели: «определяемые», включающие подсчет:

- эритроцитов (RBC — Red blood cells);
- лейкоцитов (WBC — White blood cells);
- клеток плоского эпителия (ES — Epithelial cells);
- гиалиновых цилиндров (CASTS);
- бактерий (BACT).

Анализатор предупреждает (Flags) о присутствии в моче:

- «патологических» цилиндров (Path. CAST — pathological casts) — цилиндров с разными включениями (inclusional);
- небольших круглых клеток (SRC — small round cells); в эту фракцию включены клетки почечных канальцев и клетки переходного эпителия;
- дрожжеподобных клеток (YLS — yeastlike sells);
- сперматозоидов (SPERM);
- кристаллов (X'TAL — cristalls);
- слизи (MUCUS).

Результаты могут выводиться на экран в форме скатерограмм (рис. 5) или в виде показателей в количественной (содержание в мкл) или полуколичественной форме (в поле зрения — HPF), рис. 6.

Символом ★ отмечено превышение референтных значений, символ + указывает на присутствие в моче любого из перечисленных показателей — одного или в сочетании: «патологических» цилиндров, небольших круглых клеток, дрожжеподобных клеток, сперматозоидов, кристаллов, слизи.

Учитывая высокую надежность и чувствительность метода проточной цитометрии для количественного определения в моче эритроцитов, лейкоцитов, клеток плоского эпителия, гиалиновых цилиндров, бактерий, ряд авторов предлагают шире использовать значения концентрации клеток в 1 мкл мочи в качестве референтных [16] (таблица).

Несмотря на то, что обе автоматизированные системы анализа мочи эксплуатируются в лабораториях в течение ряда лет, полученные результаты не позволяют представителям лабораторного сообщества высказаться однозначно в пользу одной из них [18]. Сравнительный анализ литературных данных, полученных двумя системами, позволяет сформулировать ряд частных и общих выводов.

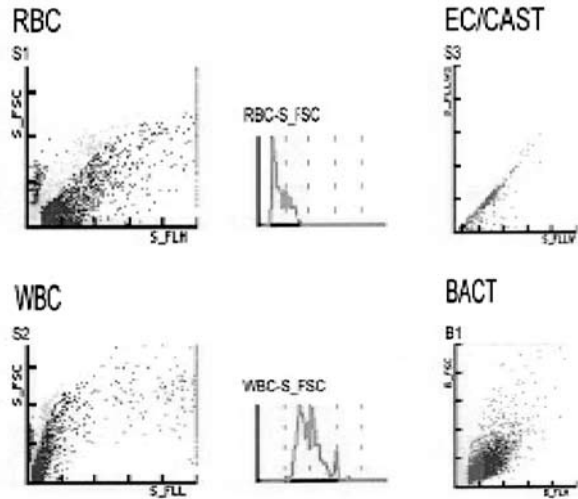


Рис. 5. Скатерограммы разных элементов мочи

Rack No.	1	Tube Pos.	8	Analysis Day
Patient ID				
Full Name				Sex
Doctor				Ward
Sample Comment				
RBC	33.3	★ [u/L]		6.0 [HPF]
WBC	18.9	[u/L]		3.4 [HPF]
EC	57.6	[u/L]		10.4 [HPF]
CAST	0.84	[u/L]		2.44 [LPF]
BACT	2201.5	+ [u/L]		2.2x10 <sup>6</sup> [mL]
X'TAL				
YLC		+		
SRC		+		
Path.CAST				
MUCUS				
SPERM				

Рис. 6. Результаты анализа мочи в количественной и полуколичественной форме

Референтные значения (2,5-й и 97,5-й процентиля) концентрации (в мкл) основных компонентов в моче для анализатора UF-100 [17]

Параметр	Мужчины		Женщины	
	Процентиля			
	2,5-й	97,5-й	2,5-й	97,5-й
Эритроциты	0,8	19,6	0,4	17,1
Лейкоциты	0,8	20,5	0,5	25,4
Эпителиальные клетки	0,8	2,1	0,4	7,2
Цилиндры	—	0,98	—	1,0

## ОБЗОРЫ

1. Автоматизация процесса анализа осадка мочи с помощью автоанализаторов мочи, облегчая трудоемкий неавтоматизированный процесс в лаборатории, позволяет получить в разных лабораториях надежные и сопоставимые результаты.

2. Высокая производительность автоанализаторов мочи дает возможность анализировать все поступающие в лабораторию образцы мочи, увеличивая тем самым, выявление образцов, требующих пристального микроскопического анализа. Если следовать указаниям европейских руководящих документов, то определенная доля образцов мочи может быть отнесена к категории не требующих микроскопического исследования, то есть нормальных.

3. Автоматизированный анализ мочи не способен полностью заменить классический микроскопический анализ. Он необходим для тех образцов мочи, которые содержат дисморфные эритроциты, дрожжевые клетки, простейшие (*Trichomonas*), овальные жировые тельца, цилиндры необычной формы и некоторые типы кристаллов.

4. Результаты анализа мочи, полученные с помощью обеих автоматизированных систем, в целом сопоставимы. Наиболее высокая корреляция результатов была обнаружена при использовании обеих систем для количественного подсчета эритроцитов и лейкоцитов в моче [19].

5. Определенные трудности у пользователей могут возникать при выявлении разных типов цилиндров обеими системами [20].

6. При определении других составляющих осадка мочи (эпителиальных клеток, бактерий, дрожжевых клеток) результаты автоматизированного анализа могут отличаться от результатов классического микроскопического метода.

7. Алгоритмы анализа мочи в каждой лаборатории следует разрабатывать с учетом особенностей технологий, заложенных в конкретный анализатор. Их реализация будет способствовать значительному уменьшению количества бесполезных микроскопических исследований, экономии времени и уменьшению финансовых затрат лаборатории без снижения клинической значимости результатов.

8. В то же время, автоматизированные методы анализа мочи не защищены полностью от ошибок. В связи с этим, использование дополнительных алгоритмов, сравнение результатов с результатами анализа тест-полосками и другими лабораторными данными позволяет в дальнейшем снижать количество клинически значимых ошибок.

Примечательно, что во всех без исключения цитируемых публикациях авторы однозначно указывают, что визуальная микроскопия остается методом, который необходимо использовать для анализа тех образцов мочи, с которыми по той или иной причине не справился анализатор. Во всех подобных ситуациях лабораторный специалист выступает в роли независимого арбитра.

По мере оснащения лабораторий автоматическими анализаторами мочи, возможно, будет поставлен вопрос о необходимости изменения сложившегося классического подхода к анализу мочи и постепенному переходу на использование строго обоснованных количественных «референтных» значений концентрации клеток в моче, подобно тому, как это существует в клинической химии при использовании биохимических анализаторов.

В то же время, следует отдавать отчет в том, что переход на автоматизированные методы анализа мочи потребует со стороны клиницистов и лабораторных работников пересмотра сложившихся подходов к трактовке результатов анализа мочи. Поскольку лабораторные работники будут освобождены от рутинной избыточной и часто ненужной микроскопии осадков мочи, они смогут уделить более пристальное внимание диагностически сложным случаям, используя современные технологии окраски организованных элементов мочи. Клиницистам будет необходимо подробно знакомиться с особенностями и возможностями автоматизированных технологий анализа мочи, поскольку им придется, подчас, сопоставлять результаты исследования мочи, проведенные на анализаторах с разными аналитическими технологиями в автоматизированных лабораториях и классическими методами анализа в неавтоматизированных лабораториях.

## Литература

1. Kouri T., Fogazzi G., Gant V. et al. ECLM — European urinalysis guidelines//Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2000. Vol. 60 (Suppl. 231). P. 1—96.

2. Каковский А. Ф. К методике счисления организованных элементов мочи//Рус. Врач. 1910. Т. 9. № 41. С. 1444—1447.

3. Addis T. A clinical classification of Bright's disease//J.A.M.A. 1925. Vol. 85. P. 163—167.

4. David T. Wah, Wises P. K., Butch A. W. Analytic Performance of the iQ200 Automated urine microscopy analyzer and comparison with manual counts using Fuchs-Rosenthal cell chambers//Amer. J. Clin. Path. 2005. Vol. 123. P. 290—296.

5. Chien T. I., Kao J. T., Liu H. L. et al. Urine sediment examination: A comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy//Clin. Chim. Acta. 2007. Vol. 384. № 1—2. P. 28—34.

6. *Deindoerfer F. H., Gangwer J. R., Laird C. W., Ringold R. R.* The Yellow IRIS Workstation — the first commercial application of «automated intelligent microscopy»//Clin. Chem. 1985. Vol. 31. P. 1491–1499.
7. *Wah D. T., Wises P. K., Butch A. W.* Analytic performance of the iQ200 Automated Urine Analyzer and comparison with manual counts using Fuchs–Rosenthal cell chambers//Amer. J. Clin. Path. 2005. Vol. 123. P. 290–296.
8. *Altekin E., Kadisme O., Akan P.* et al. New generation IQ-200 automated urine microscopy analyzer compared with KOVA cell chamber//J. Clin. Lab. Anal. 2010. Vol. 24. P. 67–71.
9. *Alves L., Ballester F., Camps J., Joven J.* Preliminary evaluation of the Iris iQ™ 200 automated urine analyzer//Clin. Chem. Lab. Med. 2005. Vol. 43. P. 967–970.
10. *Linko S., Kouri T., Toivonen E.* et al. Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyser//Clin. Chim. Acta. 2006. Vol. 37. P. 54–64.
11. *Kutter D.* An approach to clinical evaluation of the automated urine sediment analyzer Sysmex UA-1000//Sysmex J. Int. 1991. Vol. 1. P. 49–58.
12. *Delanghe J. R., Kouri T. T., Huber A. R.* et al. The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice//Clin. Chim. Acta. 2000. Vol. 301. P. 118–228.
13. *Regeniter A., Haenni V., Risch L.* et al. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morphological findings, dipstick chemistry and bacterial culture results — a multicenter study//Clin. Nephrol. 2001. Vol. 55. P. 384–392.
14. *Hannemann-Pohl K., Kampf S. G.* Automation of urine sediment examination: a comparison of the Sysmex UF-100 automated flow cytometer with routine manual diagnosis (microscopy, test strips and bacterial culture)//Clin. Chem. Lab. Med. 1999. Vol. 37. P. 753–754.
15. *SYSMEX UF-1000i: A new face — a new phase in urinalysis.* Sysmex Xtra Online, Vol. 1. 2007.
16. *Steinmetz J., Henny J., Gueguen R.* Reference limits for urine sediments performed on Sysmex UF-50//Ann. Biol. Clin. 2004. Vol. 62. № 6. P. 671–680.
17. *Fenili D., Pirovano B.* The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100™)//Sysmex J. Int. 2005. Vol. 15 (Suppl.1). P. 24–32.
18. *Shayanfar N., Tobler U., Von Eckardstein A., Bestmann L.* Automated urinalysis: first experiences and a comparison between the Iris iQ200 urine microscopy system, the Sysmex UF-100 flow cytometer and manual microscopic particle counting//Clin. Chem. Lab. Med. 2007. Vol. 45. P. 1251–1256.
19. *Mayo S., Acevedo D., Quiones-Torrel C.* et al. Clinical laboratory automated urinalysis: comparison among automated microscopy, flow cytometry, two test strips analyzers, and manual microscopic examination of the urine sediments//J. clin. Lab. Anal. 2008. Vol. 22. P. 262–270.
20. *Chien T. I., Kao J. T., Liu H. L.* et al. Urine sediment examination: A comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy//Clin. chim. Acta. 2007. Vol. 384. № 1–2. P. 28–34.