

А. В. Козлов,
д-р 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

Рассмотрены подходы, способствующие стандартизации выполнения анализа мочи.

Анализ мочи относится к разряду наиболее часто выполняемых лабораторных процедур [1]. Простота получения материала и постановки химических реакций с применением тест-полосок, часто более раннее появление изменений в составе мочи, чем клинических симптомов заболевания, указывают на необходимость его проведения у различных категорий пациентов. Исследование мочи в динамике позволяет судить о характере патологического процесса и эффективности лечения. Больные сахарным диабетом могут проводить анализ мочи в режиме «самоконтроля», определяя тест-полосками концентрацию глюкозы, белка и нитритов на дому [2]. В лабораториях США ежегодно выполняется около 100 млн анализов мочи на сумму, превышающую 500 млн долларов [3].

В само понятие анализа мочи включены три основных типа исследований: описательной части, определения химического состава, микроскопического анализа осадка мочи. Исследование химического состава мочи тест-полосками и микроскопию осадка выполняют в обычных лабораториях. Цитологическое исследование проводят в специализированных лабораториях. Поскольку цитологический анализ мочи требует больше времени по сравнению с традиционными рутинными методами, его следует проводить у больных с подозрением на наличие опухолей органов мочевыводящей системы [4]. Кроме того, могут проводиться бактериологическое исследование, определение концентрации гормонов, лекарственных препаратов и др.

Анализ мочи остается одной из тех лабораторных процедур, которые сложнее всего поддаются стандартизации. Это приводит к тому, что результаты анализа клиницисты, как правило, интерпретируют без учета возможных нарушений, допущенных на преаналитическом этапе, и особенностей самого аналитического этапа. Для повышения качества анализа была разработана система мероприятий, способствующих минимизации количества ошибок как на преаналитическом, так и на аналитическом этапах [5].

Стандартизация преаналитического этапа, проходящего вне лаборатории

Подготовка пациента

Подготовка пациента включает ряд мероприятий информационного и организационного характера. На преаналитическом этапе следует:

- 1) обеспечить пациентов инструкциями о правилах сбора мочи;
- 2) для улучшения усвоения инструкции материал предпочтительно предоставлять в форме иллюстраций;
- 3) убедиться в том, что пациенты усвоили положения инструкции.

Мероприятия	Содержание инструкции
Инструктирование пациента	Ознакомление с инструкциями в письменной и устной форме. Контроль усвоения содержания инструкций
Ограничение потребления жидкости	Не потреблять жидкость после 22 ч (допустимо не более 1/2–1 стакана воды). Собирают первую или вторую утреннюю порцию мочи
Физическая активность	Избегать физической нагрузки накануне вечером и утром перед получением образца мочи
Образец мочи	По возможности удержаться от мочеиспускания в течение 4–6 ч, чтобы обеспечить превращение в мочевом пузыре нитратов в нитриты под действием бактерий
Предотвращение бактериального загрязнения образца	Провести надлежащий туалет наружных половых органов. Собрать в контейнер «среднюю» порцию мочи. В исключительных случаях — использование катетера, при крайней необходимости — надлобковая пункция

Правила получения образцов мочи определены методическими рекомендациями «Взятие и доставка биоматериалов для клинико-лабораторных исследований в клинико-диагностических лабораториях» (М., 1979): «...Больной утром в чистую стеклянную посуду собирает все количество выделенной мочи и доставляет в лабораторию не позже 0,5–1,5 ч после выделения». Эти образцы используют для анализа ее химического и клеточного состава [6].

Образцы мочи

Результаты исследования мочи могут стать недостоверными при несоблюдении определенных правил во время сбора и хранения образцов мочи. В зависимости от цели исследования образцы мочи собирают либо в виде отдельных порций, либо за определенный промежуток времени.

ОБЗОРЫ

Во избежание загрязнения мочи различными внешними примесями перед сбором образца следует провести тщательный туалет наружных половых органов. Спонтанные порции мочи, собранные без соблюдения специальных предосторожностей, особенно у женщин, часто являются контаминированными, например, лейкоцитами или эритроцитами. При возможности необходимо избегать сбора мочи для исследования на фоне менструации и в течение 2–3 дней после ее завершения. Перед сбором мочи область вокруг отверстия мочеиспускательного канала должна быть вымыта водой с мылом; первая порция мочи не собирается. Для женщин желательно использование тампонов для предотвращения контаминации выделениями из влагалища. Лежачих больных предварительно подмывают, затем промежность вытирают сухим стерильным ватным тампоном в направлении от половых органов к заднему проходу. У лежачих больных, собирая мочу, необходимо следить, чтобы сосуд был расположен выше промежности во избежание загрязнения из области анального отверстия. Желательно использовать широкогорлый сосуд с крышкой, по возможности надо собирать мочу сразу в емкость, в которой она будет доставлена в лабораторию. Мочу из судна, утки, горшка не следует брать, так как даже после прополаскивания этих сосудов на дне и стенках может сохраняться осадок фосфатов, способствующих изменению состава мочи. В тех случаях, когда в лабораторию доставляется не вся собранная моча, перед сливанием ее части необходимо тщательное взбалтывание, чтобы осадок, содержащий форменные элементы и кристаллы, не был утрачен.

По сути, эти образцы соответствуют так называемой ночной порции — overnight collection, или образцу мочи, собранному за фиксированный промежуток времени — timed urine specimen в рекомендациях NKF (National Kidney Foundation). Данный промежуток может составлять 8, 4 или 2 часа. В некоторых зарубежных руководствах эту пробу мочи иногда обозначают как «первую утреннюю» пробу (first morning specimen).

Кроме того, исследуют так называемую вторую утреннюю порцию мочи (second, double-voided specimen). Ее собирают в утренние часы после опорожнения мочевого пузыря. Мочу, собранную за сутки (24-hour urine specimen), используют для количественного определения различных компонентов мочи, в частности, суточной потери белка или альбумина.

Характеристика образцов мочи

Первый утренний образец. Собирают сразу после пробуждения. При взятии утренней мочи (например, для общего анализа) собирают всю порцию утренней мочи (желательно, чтобы предыдущее мочеиспускание было не позже, чем в 2 ч ночи) в сухую, чистую посуду, при свободном мочеиспускании.

Второй утренний образец. Первый утренний образец выливают, второй образец собирают и направляют на анализ.

Случайный образец (разовая проба мочи, random, spot).

Образец, собранный за фиксированный промежуток времени:

Образцы мочи (классификация NKF)	Характеристика
Первая утренняя порция мочи (first morning specimen)	На составе не сказываются особенности пищевого режима в течение дня и физическая активность. Возможно разрушение форменных элементов при высоком значении pH и/или низкой относительной плотности. Наиболее высокая концентрация всех компонентов. Длительно находится в мочевом пузыре. Оптимальна для определения нитритов, белка, тестов на беременность, микроскопического исследования
Вторая утренняя порция (second, double-voided specimen)	Моча менее концентрированная. Форменные элементы остаются неповрежденными
Разовая порция мочи (random specimen, spot) — случайный образец	Наиболее простой способ получения. Используют для исследования химического состава, микроскопии осадка мочи
Суточной объем мочи (timed 24-hour specimen)	Используют для количественного исследования химического состава мочи
Порция мочи, собранная за определенный промежуток времени (timed urine specimen — 2, 4, 5-hour volume)	Используют для: — определения уробилиногена; — мониторинга сахарного диабета; — для определения уровня глюкозы через 2 часа после приема пациентом пищи, богатой углеводами

— за 2 или 3 часа. При необходимости сбора мочи за такие короткие промежутки времени пациент опорожняет мочевой пузырь (эту порцию мочи выливают), отмечает время и ровно через 2 или 3 ч собирает мочу для исследования;

— за 8 часов. Сбор обычно проводят в ночное время: перед сном пациент опорожняет мочевой пузырь и отмечает время (эту порцию мочи выливают), затем пациент мочится через 8 ч в приготовленную посуду, эту порцию мочи доставляют для исследований в лабораторию. При невозможности удержаться от мочеиспускания в этот промежуток пациент мочится в приготовленную посуду несколько приемов и отмечает время последнего мочеиспускания;

— за сутки. При сборе суточной мочи пациент собирает ее в течение 24 ч, соблюдая обычный питьевой режим (1,5–2 л в сутки). Утром (в 6–8 ч), он освобождает мочевой пузырь (эту порцию мочи выливают), и в течение суток собирает всю мочу в чистый широкогорлый сосуд с плотно закрывающейся крышкой, емкостью не менее 2 л. Последнюю порцию получают точно в то же время, в которое накануне был начат сбор (время начала и конца сбора отмечают). Если не всю мочу направляют в лабораторию, то количество суточной мочи измеряют мерным цилиндром, отливают часть в чистый сосуд, в котором ее доставляют в лабораторию, и обязательно указывают объем суточной мочи.

Пример инструкции по сбору «средней» порции мочи.

1. Открывайте емкость для сбора мочи только непосредственно перед использованием.

2. Проведите тщательное подмывание с мылом. Во время подмывания мужчины должны полностью оттянуть крайнюю плоть; женщины должны разделять половые губы. В качестве дополнительного средства для профилактики контаминации мочи женщинам показано использование тампона. После подмывания вытираться насухо не следует.

3. Соберите среднюю порцию мочи в предназначенную для этого емкость, не прикасаясь ею к телу.

4. Закройте емкость и немедленно отправьте ее на анализ.

Необходимо разъяснять пациентам, что соблюдение указанных инструкций имеет решающее значение для получения «правильных» результатов и позволить избежать ошибок при постановке диагноза.

На лабораторию возлагают:

- обеспечение пациентов соответствующими контейнерами для сбора мочи, при необходимости консервантами;
- обеспечение пациентов простыми и четко написанными инструкциями;

- при необходимости контролировать полноту сбора мочи за сутки путем определения концентрации креатинина и расчета содержания креатинина в суточном объеме мочи.

Используемые емкости должны быть по возможности тщательно вымыты; на стенках не должно содержаться остатков моющих средств или дезинфицирующих растворов, поскольку содержащиеся в них окислители могут исказить результаты. Идеальным выходом является постепенный переход на одноразовые емкости, которые после использования подлежат уничтожению.

Требования к емкости:

- объем не менее 100 мл с широким горлом (не менее 4 см в диаметре) с плоским основанием во избежание случайного опрокидывания;

- должна быть сухой, чистой, желателен из прозрачного материала, инертного к составным частям мочи (при необходимости стерильной);

- должна иметь плотно закрывающуюся крышку, чтобы избежать вытекания содержимого при транспортировке, при этом крышка должна открываться без усилий;

- сама емкость не должна содержать химических соединений, например, детергентов, способных исказить результаты определения составляющих мочи.

Хранение образцов мочи

Анализ мочи подразумевает ее исследование по возможности быстрее после сбора — оптимально не позднее ближайших 2 часов.

Более длительное хранение может привести к искажению результатов вследствие:

- разрушения лейкоцитов и эритроцитов;

- увеличения количества бактерий;

- потребления глюкозы и восстановления нитритов, обусловленного жизнедеятельностью микроорганизмов;

- увеличения pH, связанного с образованием аммиака вследствие расщепления мочевины бактериями.

Эти процессы замедляются при хранении образцов мочи в закрытой емкости при охлаждении.

Все замечания о нарушениях, допущенных на преаналитическом этапе, следует фиксировать в виде дополнительных отметок на емкости с мочой. Это может выполнять медицинская сестра или медицинский технолог.

Дополнительные данные, необходимые для трактовки результатов анализа:

- время мочеиспускания;

- время, прошедшее с момента предыдущего мочеиспускания (время нахождения в мочевом пузыре в часах);

- соблюдение инструкции по сбору мочи.

Направление на исследование должно включать:

- паспортные данные: фамилия и инициалы пациента, возраст или дату рождения, пол;

- название отделения в стационаре, номер палаты, номер истории болезни (идентификационный номер или штрих-код), диагноз, дата, время получения образца мочи с указанием типа образца — утренняя, случайная и т. д.;

- показатели, подлежащие исследованию; при необходимости указать принимаемые пациентом лекарства;

- немаркированные или неправильно маркированные образцы непригодны для исследования, о чем необходимо уведомить клинициста, назначившего исследование.

Транспортировка

1. Образец мочи охлаждают с целью замедления процессов разрушения клеток и роста бактерий.

2. В лаборатории образец исследуют под микроскопом не позднее 4 ч после получения. Дополнительные замечания о преаналитическом этапе следует заносить в сопроводительные документы и фиксировать при поступлении образца в лабораторию.

При поступлении образца в лабораторию следует определить его «приемлемость» для исследования с учетом изложенных ниже критериев и зарегистрировать. Эти критерии должны быть включены в «Руководство по качеству».

Сотрудник лаборатории, принимающий и регистрирующий материал, контролирует:

- отсутствие или наличие видимых признаков загрязнения;

- правильность и полноту маркировки емкости (код или фамилия больного и другие данные должны соответствовать данным, указанным в бланке-направлении на анализ);

- промежуток между временем сбора мочи и доставкой в лабораторию.

В случае соблюдения пациентом всех рекомендаций на доаналитическом этапе образец мочи расценивают как «стандартизированный»; в противном случае образец относят к «нестандартизированному», что позволяет усомниться в правильности результатов исследования [5].

ОБЗОРЫ

Стандартизация преаналитического этапа в лаборатории

Перед проведением анализа образцы должны быть доведены до комнатной температуры.

Исследование химического состава мочи

Поскольку на анализ мочи, особенно на этап микроскопии осадка, расходуется много времени, было проведено большое количество исследований, целью которых явилась разработка подходов, позволяющих исключить данный этап или минимизировать количество микроскопических исследований осадка мочи [7].

Для этого в настоящее время повсеместно используют надежные и апробированные в течение многих лет технологии количественной оценки ряда химических компонентов в «здоровой» и «патологической» моче, основанные на использовании тест-полосок. Исследование химического состава мочи с помощью тест-полосок (dipstick methodology) представляет собой стандартную аналитическую процедуру, основанную на технологических приемах так называемой «сухой химии» (dry chemistry) [8]. При данном способе анализа все необходимые для конкретной реакции компоненты — буферный раствор, индикатор, ферменты, субстрат и др. — наносятся в фабричных условиях на бумажную или пленочную основу.

Прообразом современных тест-полосок явились пропитанные хлоридом олова полоски шерстяной ткани, предложенные в 1850 г. французским химиком Jules Maumene (1818–1898). При нанесении капли мочи на поверхность такой полоски и нагревании в пламени свечи полоса немедленно чернела, если моча содержала сахар (глюкозу). Несмотря на простоту, метод не получил широкого распространения, и потребовалось почти 70 лет, прежде чем венский химик Fritz Feigl (1891–1971) разработал так называемый spot analysis.

В последующие годы многие врачи, прежде всего в Великобритании, проявили интерес к работам английского физиолога George Oliver (1841–1915), который предложил в 1883 г. «Urinary Test Papers» и визуальный способ оценки результатов.

Применение приборов, работающих на принципе отражательной фотометрии, позволяет использовать тест-полоски для количественной оценки результатов. Отражательный фотометр является устройством со сложной оптической схемой, регистрирующим не интенсивность окраски сенсорных элементов тест-полоски, а интенсивность монохроматического светового потока, отраженного от поверхности каждого сенсорного элемента. В автоматическом режиме осуществляется фотометрия и производятся расчет и распечатка результатов.

В настоящее время химический анализ мочи может быть выполнен с использованием тест-полосок, выпускаемых разными производителями. В таблице приведены характеристики параметров тест-полосок для исследования мочи, производимых компанией Roche Chemstrip и Bayer N-Multistix [9].

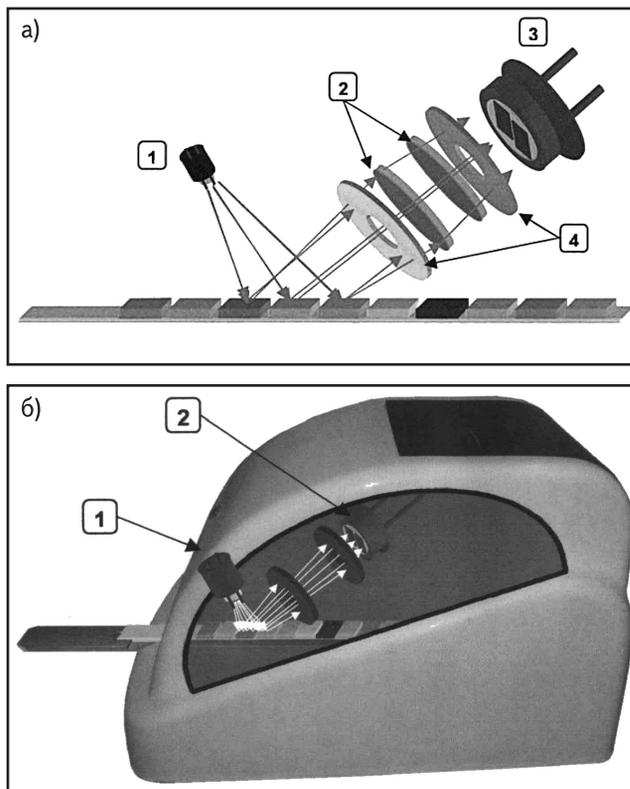


Рисунок. Принцип работы (а) и устройство (б) отражательного фотометра: 1 — источник света; 2 — конденсорные линзы; 3 — фотоприемник; 4 — диафрагмы (рисунок предоставлен А. В. Никифоровым)

В некоторых тест-полосках имеется дополнительная аналитическая зона, позволяющая оценить уровень аскорбиновой кислоты в моче и учесть риск получения неправильных результатов при определении таких показателей, как гемоглобин, белок, глюкоза, билирубин [10]. При отсутствии подобной зоны на тест-полоске необходимо внимательно ознакомиться с перечнем лекарственных препаратов, которые принимает пациент. Компании-изготовители в инструкциях информируют о соединениях, способных вмешиваться в ход химических реакций, и об источниках ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

В ряде случаев положительные результаты, полученные при использовании тест-полосок, могут потребовать подтверждения с использованием химических и микроскопических методов. Использование консервантов нежелательно, поскольку они могут ингибировать ряд химических реакций.

С помощью тест-полосок могут быть определены следующие аналиты, входящие в перечень показателей химического состава мочи (таблица):

- относительная плотность;
- pH;
- белок;
- глюкоза;
- кетоновые тела;
- билирубин;
- уробилиноген;
- эритроциты/гемоглобин;

- нитриты;
- лейкоциты (эстераза нейтрофилов);
- аскорбиновая кислота (дополнительный параметр).

Таблица.
Практическая чувствительность тест-полосок Chemstrip и N-Multistix

Параметр	Тест-полоски	
	Chemstrip	N-Multistix
pH	5 – 9 ± 1 ед. pH	5 – 9 ± 1 ед. pH
Белок	60 мг/л	50 – 200 мг/л
Глюкоза	400 мг/л	750 мг/л
Кетоновые тела	50 мг/л ацетоуксусной кислоты 400 – 700 мг/л ацетона	90 мг/л ацетоуксусной кислоты 800 – 1400 мг/л ацетона
Относительная плотность	1.000 – 1.030	1.000 – 1.030
Билирубин	5 мг/л	4 – 8 мг/л
Кровь (эритроциты)	5 эритроцитов/мкл или гемоглобин из 10 эритроцитов/мкл	5 – 20 эритроцитов/мкл или гемоглобин из 5 эритроцитов/мкл
Уробилиноген	4 мг/л	2 мг/л
Нитриты	0.5 мг/л	0.6 – 1 мг/л
Эстераза лейкоцитов	6 – 10 лейкоцитов в поле зрения (hpf)*	5 – 15 лейкоцитов в поле зрения (hpf)

* hpf – high power field — поле зрения при большом увеличении

Правила хранения и использования тест-полосок

Тест-полоски должны храниться в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте при температуре от 10 до 30 °С (при отсутствии паров кислот, щелочей и органических растворителей) в течение всего срока годности. Необходимо предохранять тест-полоски от повышенной влажности и попадания прямых солнечных лучей на цветную шкалу. После вскрытия пенала тест-полоски должны быть использованы в течение не более 5 месяцев. Извлеченная из упаковки тест-полоска должна быть использована для проведения анализа в течение часа. Каждый раз после извлечения полоски из пенала последний следует немедленно и плотно закрыть крышкой. Тест-полоски поставляются в виде комплекта, который состоит из 25, 50, 75 или 100 полосок, упакованных в пенал, снабженный влагопоглощающим элементом в крышке или внутри пенала — мелкопористым силикагелем, поглощающим влагу при открывании пенала. Это обеспечивает длительный срок хранения полосок даже после вскрытия пенала. Каждый комплект полосок снабжен этикеткой и инструкцией по применению. Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдение инструкции по применению тест-полосок.

Методика проведения исследования

Необходимое для анализа количество полосок извлечь из пенала, не прикасаясь руками к аналитическим зонам. Перед исследованием мочу тщательно перемешивают. Тест-полоску погружают в емкость с исследуемой мочой, извлекают, удаляют ее избыток. При использовании отражательного фотометра тест-полоску после удаления избытка мочи помещают в специальный держатель, транспортер или на место считывания результата (в зависимости от конструкции прибора). Применение приборов, работающих на принципе отражательной фотометрии, позволяет использовать тест-полоски для количественной оценки результатов.

При визуальной оценке сравнивают интенсивность окраски реакгентной зоны тест-полоски с подходящей зоной цветовой шкалы на поверхности контейнера для хранения тест-полосок и оценивают результат. Шкала разбита на интервалы, которым соответствует определенная концентрация исследуемого компонента. Результаты могут быть выражены как в единицах концентрации, так и в виде полуколичественной балльной оценки. В этом случае констатируется факт обнаружения различных количеств анализируемого компонента в образце или его отсутствие: «Negative», «Trace», «+1», «+2», «+3», «+4».

Стандартизация аналитического этапа, проводимого тест-полосками [5]

Основные аналитические зоны тест-полосок, предназначенные для определения эритроцитов, лейкоцитов, альбумина и нитритов с помощью анализатора, необходимо проверять и калибровать с использованием количественных методов: счетная камера для эритроцитов и лейкоцитов, количественное определение белка в моче с пирогаллоловым красным и раствором нитрита натрия, приготовленного на «пулированной» моче. Эту процедуру следует проводить при замене партии тест-полосок на новую партию.

При ежедневном внутрилабораторном контроле качества следует использовать образцы неразведенных и разведенных в 10 раз контрольных растворов (Liquichek, «Bio-Rad», США). Существенное преимущество использования количественных данных заключается в том, что они могут быть оценены для каждого используемого параметра в виде величины среднего значения и стандартного отклонения. Для построения контрольных карт используют общепринятые процедуры статистической обработки результатов. Нормативные документы предписывают участие каждой лаборатории в системах внешней оценки качества исследований. Результаты фиксируются в соответствующих разделах «Руководства по качеству».

Литература

1. Schewiter S.C. Quality assurance guidelines for the urinalysis laboratory / S. C. Schewiter, J. L. Schumann, G. B. Schumann // J. Med. Tech. — 1986. — Vol. 11. — P. 567–572.

2. Bonnardeau A. A study on the reliability of dipstick urinalysis / A. Bonnardeau, P. Somerville, M. Kaye // Clin. Nephrol. — 1994. — Vol. 41. — P. 167–172.

ОБЗОРЫ

3. *Valenstein P.* Unnecessary microscopy in routine urinalysis / P. Valenstein, J. A. Koepeke // *Amer. J. Clin. Pathol.* — 1984. — Vol. 82. — P. 444–448.
4. *Marcussen N.* Analysis of cytodiagnostic urinalysis findings in 77 patients with concurrent renal biopsies / N. Marcussen, J. L. Schumann, G. B. Schumann [et al.] // *Amer. J. Kid. Dis.* — 1992. — Vol. 20. — P. 618–628.
5. *Koivula T.* Basic urinalysis and urine culture: Finnish recommendations from the working group on clean midstream specimens / T. Koivula, P. Gronroos, J. Gavert [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* — 1990. — Vol. 50, suppl. 200. — P. 26–33.
6. Взятие и доставка биоматериалов для клинико-лабораторных исследований в клинико-диагностических лабораториях: методические рекомендации / под ред. профессора В. В. Мельникова. — М., 1979. — 69 с.
7. *Smalley D. L.* Comparative evaluation of biochemical and microscopic urinalysis / D. L. Smalley, J. A. Bryan // *Amer. J. Med Technol.* — 1984. — Vol. 49. — P. 237–239.
8. *Wenk R. E.* Sediment microscopy, nitrituria, and leukocyte esteraseuria as predictors of significant bacteriuria / R. E. Wenk, D. Dutta, J. Rudert [et al.] // *J Clin. Lab. Automation.* — 1982. — Vol. 2. — P. 117–121.
9. *Voswinkel P.* A marvel of colors and ingredients. The story of urine test strips / P. Voswinkel // *Kidney Int.* — 1994. — Vol. 46, suppl. 47. — S3–S7.
10. *Zweiss M. H.* Ascorbic acid interference in reagent-strip reactions for assay of urinary glucose and hemoglobin / M. H. Zweiss, A. Jackson // *Clin. Chem.* — 1986. — Vol. 32. — P. 674–677.

(Окончание в следующем номере)