



ПРЕДИСЛОВИЕ

Диагностика многих заболеваний мочевыводящих путей основана на микроскопическом исследовании осадка мочи. Чаще всего, при анализе осадка мочи определяют клетки, цилиндры, микроорганизмы и кристаллы, которые экскретируются в мочу при различных заболеваниях; в моче практически здоровых лиц многие из этих элементов не выявляются, либо определяются в небольших количествах. Методика этого лабораторного исследования широко используется, достаточно легка в исполнении и разработана давно. Конечно, технологии подготовки образцов и проведения исследования требуют дальнейшего совершенствования. Кроме того, для проведения исследования требуется определенный навык. Все это может быть причиной снижения диагностического значения полученных результатов.

Иллюстрации, представленные в данном атласе помогут врачу-лаборанту в идентификации элементов, которые наиболее часто определяются в осадке мочи. Приведена подробная информация по стандартизации исследования мочевого осадка, что позволит повысить точность метода. В лаборатории могут использовать усовершенствованный метод для определения и идентификации клеток и других элементов мочи. Европейской группой анализа мочи в рамках Европейской конфедерации лабораторной медицины (European Urinalysis Group under European Confederation of Laboratory Medicine) рекомендовано использование метода с применением суправитальных красителей, как для обычной микроскопии, так и для фазово-контрастной.

Атлас иллюстрирован фотографиями элементов, которые чаще всего определяют в клинической практике. Эти фотографии получены с образцов конкретных больных, окрашенных красителем RESTAIN Urine. Раствор красителя легко использовать для окрашивания осадка мочи, и рекомендованы Европейскими директивами. Приведены фотографии, сделанные как при световой, так и фазово-контрастной микроскопии, что позволит сравнить эти два метода.

- REAGENA LTD-

Др. Тимо Кouri, Госпиталь университета Тампере, Финляндия

Создан при сотрудничестве доктора Тимо Кouri и Reagentia Ltd.

REASTAIN URINE

Для точного
исследования осадка
МОЧИ



OY REAGENA LTD

«реагенты и тест-наборы для здравоохранения»

www.reagena.fi





RESTAIN URINE (STERNHEIMER)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Метод

Модифицированный по Sternheimer метод суправитального окрашивания.

Применение

Для in vitro диагностики при исследовании осадка мочи под микроскопом. Только для профессионального использования.

Реагенты

Продукт REASTAIN URINE KIT
1x50 мл Цветной Реагент СИНИЙ
(Кат.№ 730345)
Alcian синий 8 GS 1,8 %
Стабилизатор
1x50 ml Цветной Реагент КРАСНЫЙ
(Кат.№ 830345)
Rhodamin 3 GO 1,2 %
Стабилизатор

Приготовление рабочего реагента

Смешайте окрашенные реагенты 1:1.

Процедура

1. Добавьте одну каплю (50мкл) рабочего реагента в осадок мочи (0,5 мл) и осторожно перемешайте.
2. Через 5 минут перенесите 13 мкл (или 20 мкл) окрашенного осадка на предметное стекло и накройте покровным стеклом 18x18 мм (22x22 мм) или заполните камеру слайд-планшета PLIVA-Lachema
3. Исследуйте образец, используя увеличение x100 и x400.

В образце мочи с pH>7 или с высокой осмоляльностью может быть выпадение осадка краски. Обычно это не мешает окрашиванию.

Стабильность и хранение

Неоткрытые реагенты, защищенные от света, стабильны при 10 - 25⁰С до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.

Рабочий реагент стабилен в течение 3 месяцев при комнатной температуре.

Хранить рабочий реагент при 10 - 25⁰С в защищенном от света месте, в стеклянных или HDPE-пластиковых флаконах

Если в рабочем реагенте во время хранения появляется муть или осадок, мы рекомендуем профильтровать его, используя фильтр 0.45 мкм.

Литература

Sternheimer R: A supravital cytodagnostic stain for urinary sediments. JAMA 1975; 231: 826-832.

Kouri TT, Gant VA, Fogazzi GB, Hofmann W, Hallander HO, Guder WG: Towards European urinalysis guidelines. Introduction of a project under European Confederation of Laboratory Medicine. Clin Chim Acta. 2000 Jul;297(1-2):305-11.

Изготовитель

REAGENA Ltd (Финляндия)
Takoiantie 18 FIN-70900 TOIVALA
www.reagena.fi info@reagena.fi

Основное:

Каждый элемент сфотографирован при использовании световой и фазово-контрастной оптики, за исключением одной фотографии с клетками карциномы, которые окрашены по Папаниколау и суправитальным красителем (использовалась световая микроскопия). Изображения позволяют оценить отличия двух методик.

ФКМ - фазово-контрастная микроскопия

СМ - световая микроскопия

ФКМ	СМ	Сокращение	Описание
1a	1b	Гран.	Скопления гранулоцитов с сегментированным, чаще всего голубым ядром. Цитоплазма зернистая, и обычно окрашивается красным.
2a	2b	Гран., гиал.цил., бакт., дрожжи	Гранулоциты (обозначено а) с многосегментным ядром. Также видны два гиалиновых цилиндра, бактериальная клетка и дрожжи. Обратите внимание на отличия изображений бактериальной клетки при фазово-контрастной и световой микроскопии.
3a	3b	Лимф., эритро.	В середине виден один лимфоцит, ядро занимает практически всю клетку. Кроме того, видны эритроциты.
4a	4b	Макр., эритро.	Макрофаги лучше всего идентифицировать, когда они поглощают эритроциты. Чаще всего хроматин в ядре разнородный. В данном случае, клетка имеет два ядра. Кроме того, вне макрофага видны 3 эритроцита.
5a	5b	Эритро. неправ.	Овальные эритроциты ("шина колеса"). Морфология лучше всего видна при фазово-контрастной микроскопии, но также определяется при световой микроскопии.
5a	5b	Эритро. неправ.	Мочевые акантоциты (обозначено) - это эритроциты с нарушенной формой с пузырями на поверхности клетки. Один из них виден в середине. Если доля акантоцитов составляет более чем 5%, то это свидетельствует о ренальном кровотечении, если выявлена гематурия.
6a	6b	Плоск. эпит., эпит. кан. почек, эритро.	Плоская эпителиальная клетка и две эпителиальные клетки канальцев почек (обозначено), которые отличаются по размеру. Также видны эритроциты.
7a	7b	Эпит. кан. почек, перех. эпит., плоск. эпит., гиал. цили.	На этой фотографии видна разница в размерах эпителиальных клеток канальцев почек (обозначено а) (красная гранулярная цитоплазма, внутри гиалиновых цилиндров), две клетки переходного эпителия (обозначено б) (полностью, либо частично гранулированная цитоплазма, прозрачное ядро) и большая клетка плоского эпителия (опалесцирующая цитоплазма, разрушенное ядро)
8a	8b	Эпит. кан. почек, перех. эпит., плоск. эпит., гиал. цили.	На этой фотографии видна разница в размерах эпителиальных клеток канальцев почек (обозначено а) (красная гранулярная цитоплазма, внутри гиалиновых цилиндров), две клетки переходного эпителия (обозначено б) (полностью, либо частично зернистая цитоплазма, прозрачное ядро) и большая клетка плоского эпителия (опалесцирующая цитоплазма, разрушенное ядро)
9a	9b	Перех. эпит.	Клетка переходного эпителия, чаще всего в моче определяется единично. На фотографии представлено скопление этих клеток, полученных с помощью катетера. Злокачественные клетки переходного эпителия также могут быть представлены в виде скопления клеток с нормальными цитологическими характеристиками. В норме клетки переходного эпителия имеют зернистую цитоплазму и ядерный хроматин. Редко можно видеть нуклеолы.

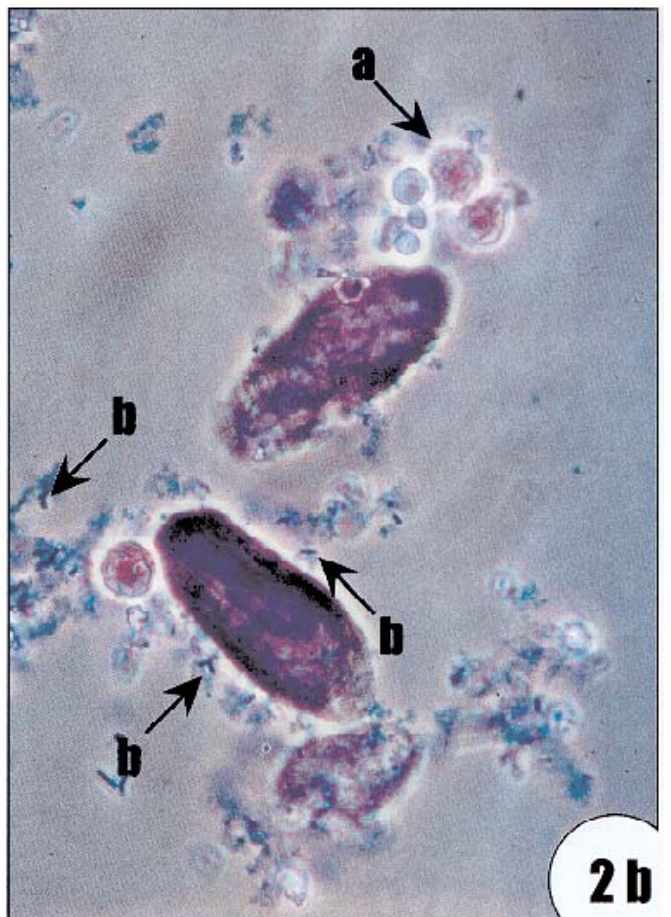
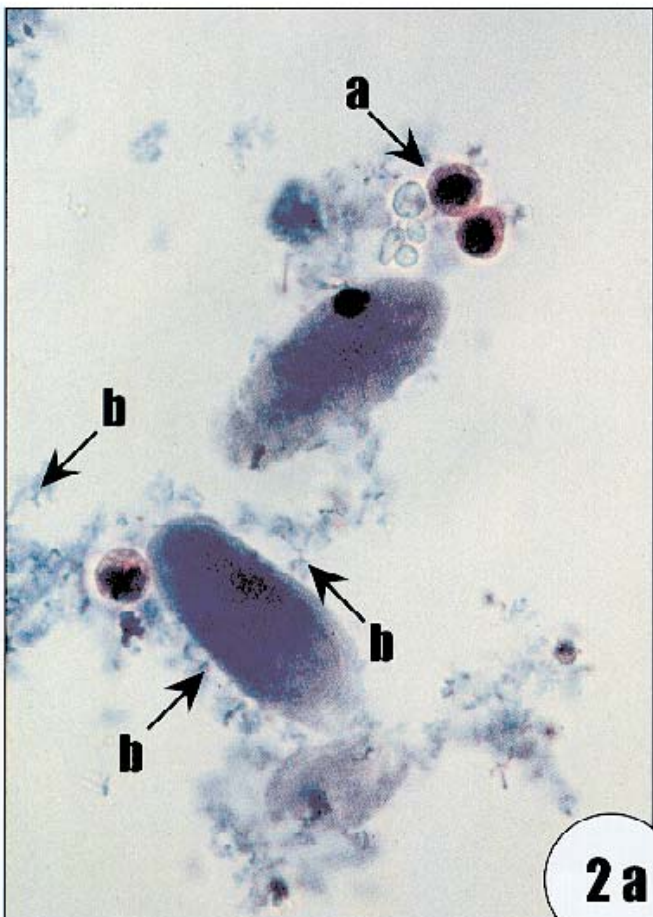
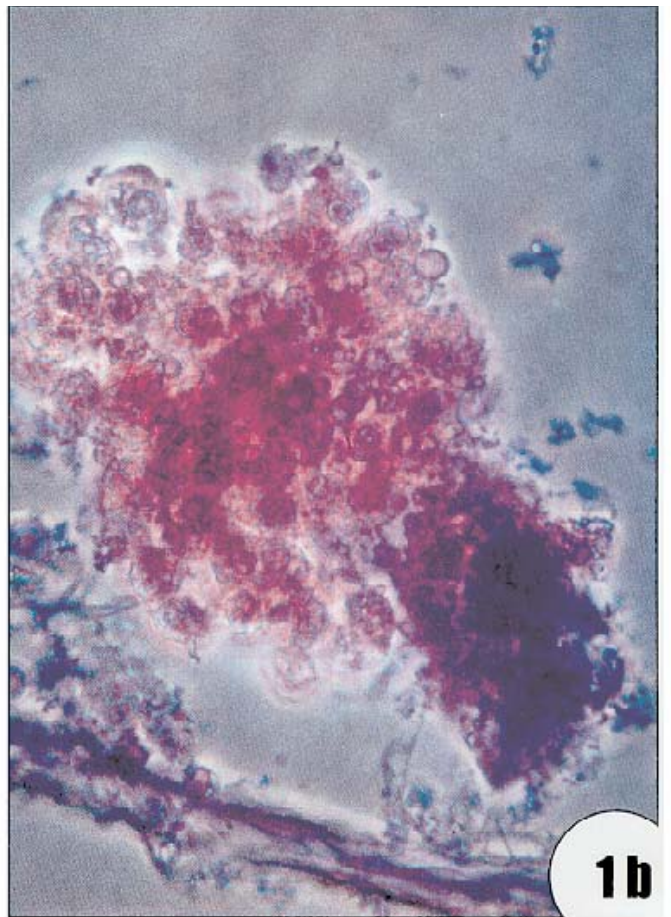
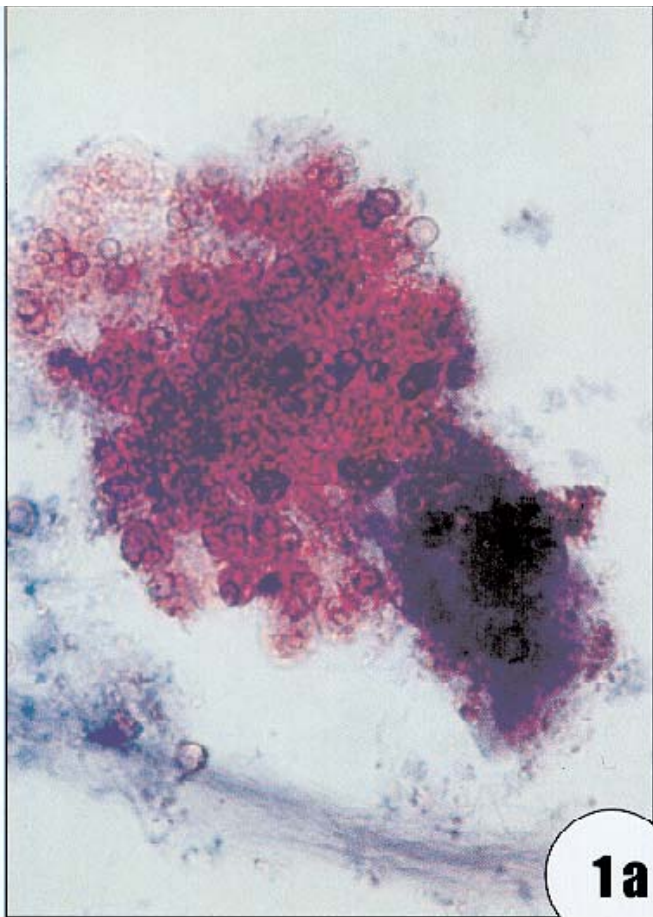


ФКМ	ОМ	Сокращение	Описание
10a	10b	Перех. эпит.	Переходный эпителий (обозначено) с двумя нормальными ядрами. Нуклеолы прозрачные, короткие, но не увеличенные. Также виден один зернистый цилиндр.
11a	11b	Перех. эпит. атипичн.	Клетки карциномы переходного эпителия (атипичные клетки). Атипичные клетки должны быть охарактеризованы квалифицированным цитопатологом. Клетки карциномы переходного эпителия показаны при окрашивании по Папаниколау (11b) и при суправитальном окрашивании (11a) со световой микроскопией.
12a	12b	Перех. эпит. атипичн., гранул., цил., эритро.	Умеренно атипичная клетка переходного эпителия с двумя ядрами находится в середине. Форма ядра нормальная (округлая), но видны два ядра. При рутинном анализе мочи, умеренно атипичные эпителиальные клетки выявляются при различных заболеваниях мочевых путей. Полностью зернистый цилиндр лучше виден при фазовоконтрастной микроскопии. Одна клетка эпителия почечных канальцев с гранулярной цитоплазмой находится внутри цилиндра (не в фокусе), другая находится вне цилиндра.
13a	13b	Перех. эпит. атипичн., эритро.	Умеренно атипичная клетка переходного эпителия с удлинёнными нуклеолами в ядре (обозначено). Число эритроцитов указывает на гематурию.
14a	14b	Гиал. цил., эритро.	На этой фотографии представлена типичная эпителиальная клетка канальцев почек (обозначено) на гиалиновом цилиндре. При фокусировании со световой микроскопией, можно видеть, находится ли клетка внутри или вне цилиндра. Оцените разницу обычной и фазовоконтрастной микроскопии в детекции гиалиновых цилиндров.
15a	15b	Гиал. цил., эритро.	С помощью данного красно-голубого суправитального красителя гиалиновые цилиндры обычно окрашиваются в голубой цвет. Также заметьте, что внутри цилиндра находится эпителиальная клетка канальцев почек.
16a	16b	Гиал. цил., эритро.	Эпителиальная клетка канальцев почек внутри гиалинового цилиндра (прокрашен не очень хорошо). Эпителиальная клетка канальцев почек лучше всего видна при красном окрашивании.
17a	17b	Гиал. цил., эритро., плоск. эпит.	Гиалиновые цилиндры (обозначено a) не всегда хорошо окрашиваются. В данном случае, цилиндр виден только при фазовоконтрастной микроскопии. Тогда, внутри цилиндра можно будет увидеть эпителиальную клетку канальцев почек. Внизу видны две клетки переходного эпителия (обозначено b).
18a	18b	Цил., гран.	Зернистый цилиндр образуется при разрушении клетки (как в данном случае), либо при преципитации неклеточных элементов в канальцах почек, имеющих гранулярную структуру. На фотографии видна эпителиальная клетка канальцев почек без плазматической мембраны.
19a	19b		Зернистый цилиндр и бактерии. Остатки эпителиальных клеток канальцев почек окрашены красным. Также видна бактериальная клетка (указана).

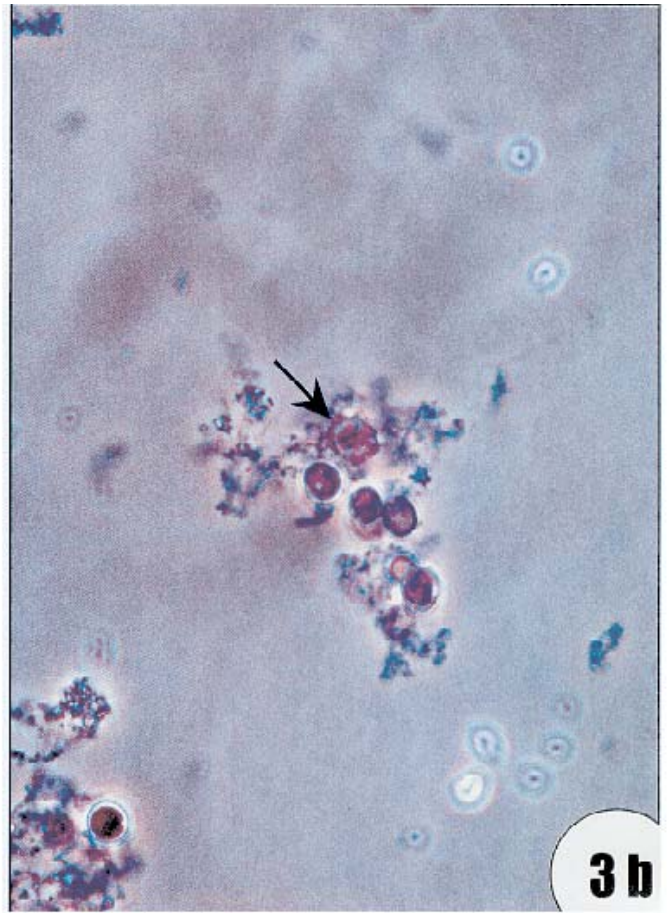


ФКМ	ОМ	Сокращение	Описание
20a	20b	Воск. цил., эритро.	Восковые цилиндры обычно окрашиваются суправитальным красителем в красновато-голубой цвет. Чаще всего, это свидетельствует о хроническом заболевании почек, сопровождающимся застоем мочи в канальцах почек.
21a	21b	Воск. цил., эритро.	Типичный восковой цилиндр с разрушенным концом. В углу видна эпителиальная клетка канальцев почек.
22a	22b	Цил., гранулы	Из лейкоцитов, в моче чаще всего выявляются гранулоциты. Гранулоциты внутри цилиндра - наиболее специфичный признак для воспаления ткани почек. Заметьте, что цилиндр с гранулоцитом, отличается от зернистого цилиндра. Гранулоциты и клетки канальцев можно отличить по многосегментным ядрам (указан).
23a	23b	Цил.-эритро., цил.-гранулы	Исследование клеток внутри цилиндра является очень важным. В данном случае, голубой цилиндр содержит эритроциты, гранулоциты (обозначено) (сегментированное ядро) и случайная клетка канальцев. И фазовоконтрастная, и световая микроскопия с окрашиванием имеют важное значения для диагностики.
24a	24b	Цил.-эритро.	Эритроцитные цилиндры свидетельствуют о наличии гематурии, так как эритроциты захватываются цилиндрами в почках. Отметьте различия в форме и размерах эритроцитов, т.е. их дисморфизм.
25a	25b	Цил.-эпит. кан. почек, эритро.	Эпителиальная клетка канальцев почек занимает практически весь размер цилиндра, который также имеет гранулярную структуру. Этот цилиндр называют цилиндром эпителия канальцев почек. Клетки канальцев лучше всего выявлять внутри цилиндра. При фазовоконтрастной микроскопии видны эритроциты (указано) вне цилиндра, которые не видны при световой микроскопии.
26a	26b	Цил.-бакт.	Бактериальные цилиндры патогномоничны для пиелонефрита: бактерии инфицируют ткань почки. Эти цилиндры можно спутать с зернистым цилиндром, что может быть причиной пропуска этого элемента. Заметьте прозрачные гранулы в конце цилиндра (указано).
27a	27b	Дрожжи, гран., бакт.	Видны дрожжи (обозначено). Кроме того, можно видеть один гранулоцит и бактерию.
28a	28b	Артефакт	Частица туалетной бумаги. Заметьте надрезы и порванные концы частиц.
29a	29b	Цил. - липиды	Капли липидов в виде светлого пятна видны при фазовоконтрастной микроскопии. Также они выглядят как светлые участки при световой микроскопии. Наличие липидных цилиндров связано с липидурией (обычно указывает на поражение гломерул).
30a	30b	Цил. гиал., эпит. канал. почек	Гиалиновый цилиндр с некоторой зернистостью. Также видны две клетки канальцев почек (указано), одна внутри, другая вне цилиндра.

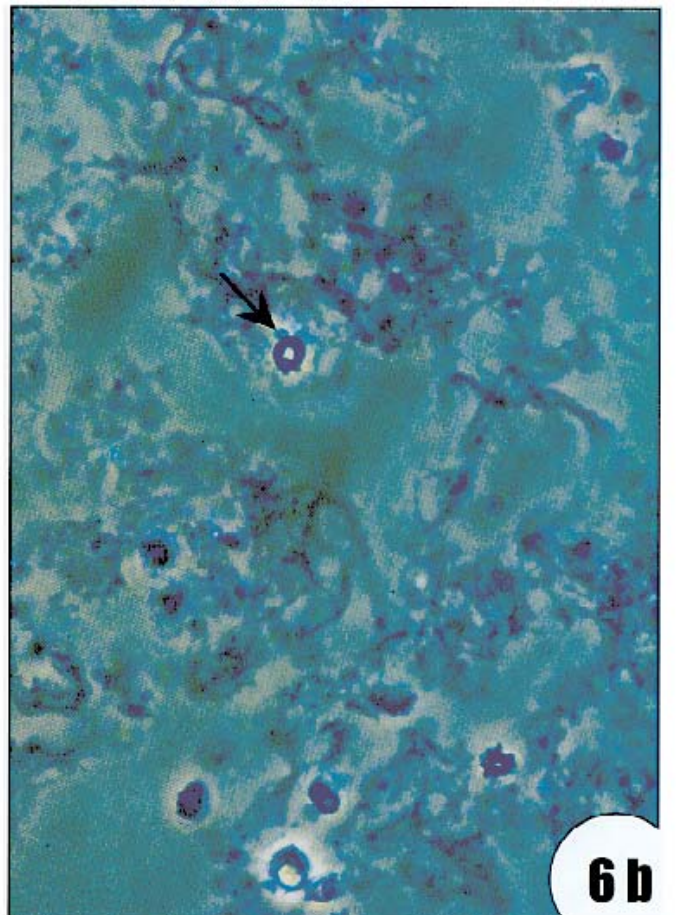
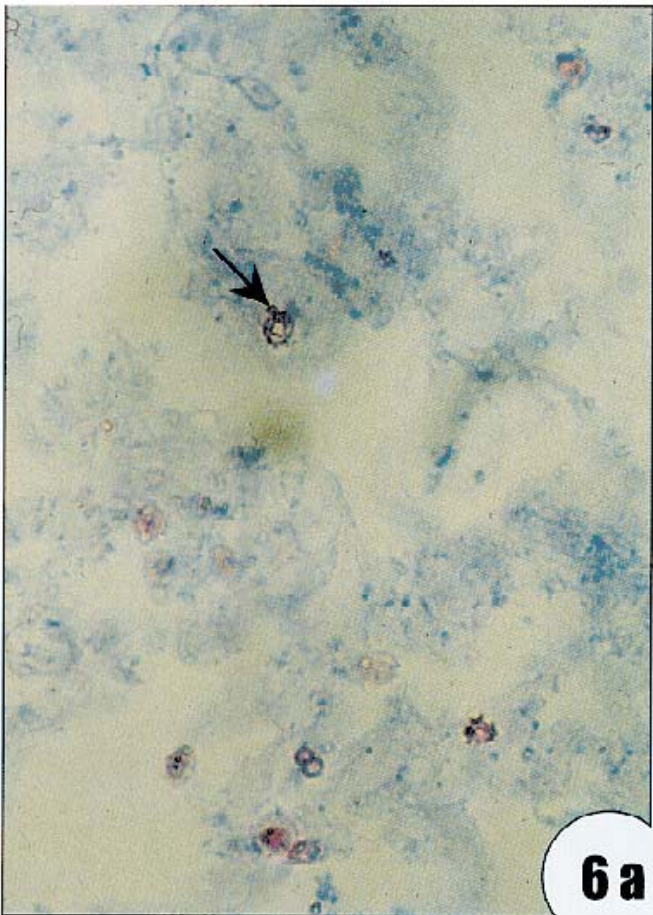
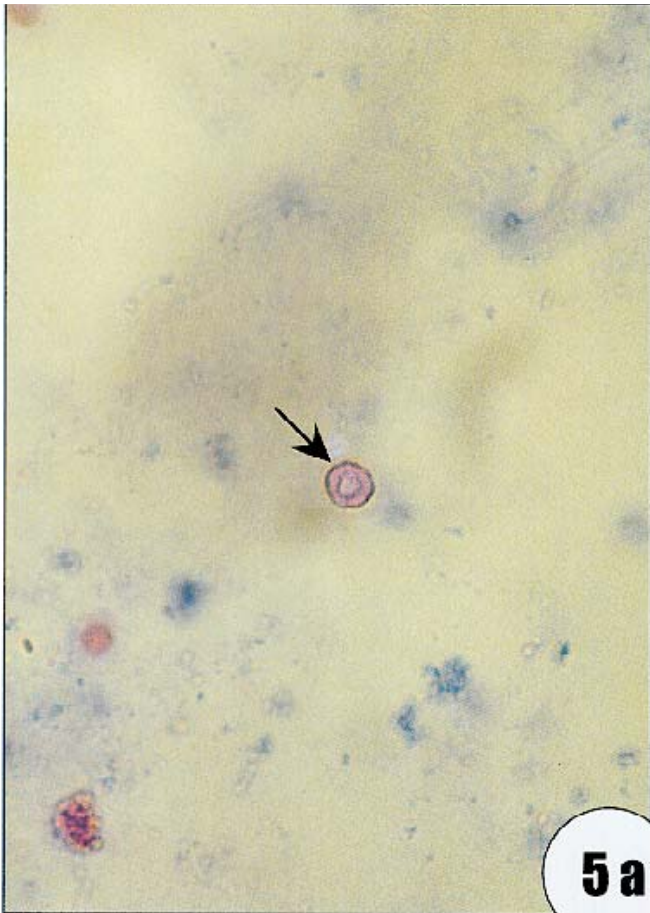




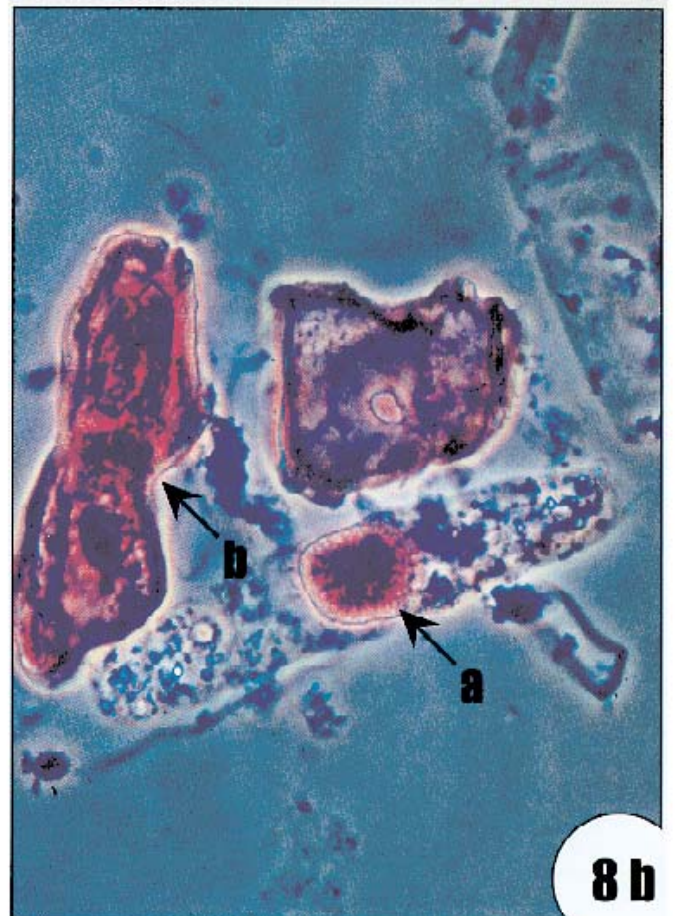
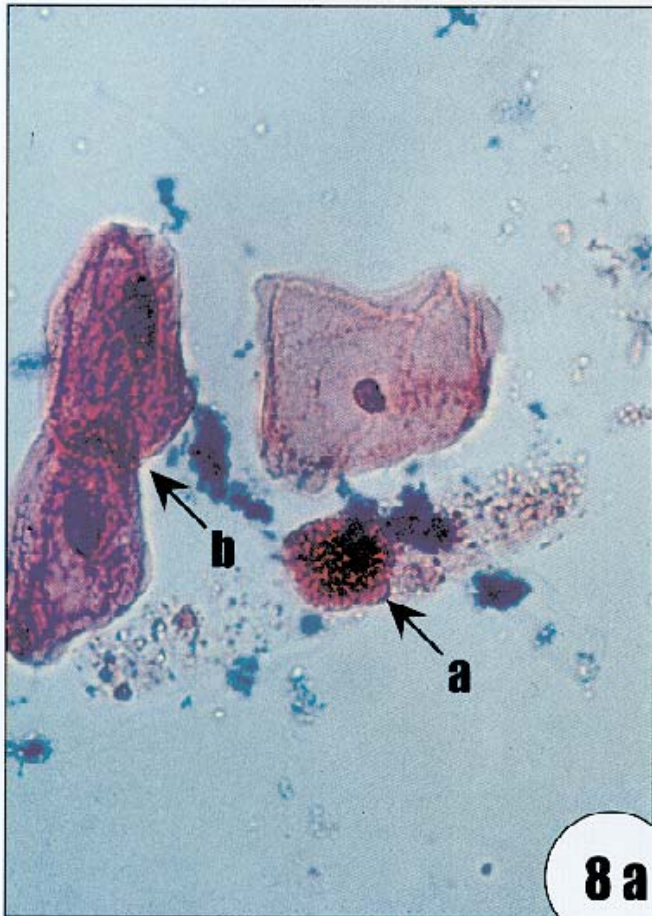
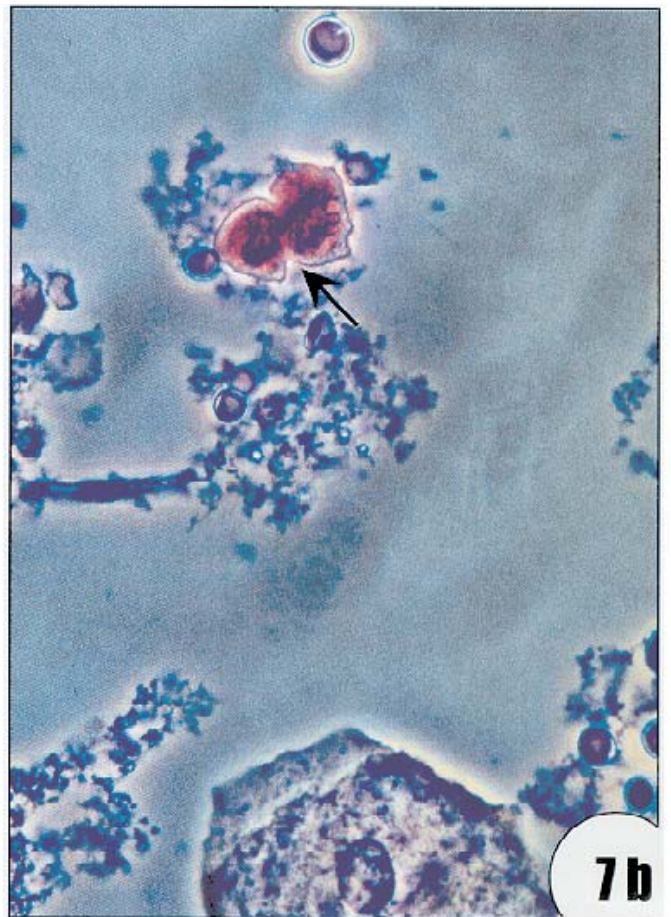
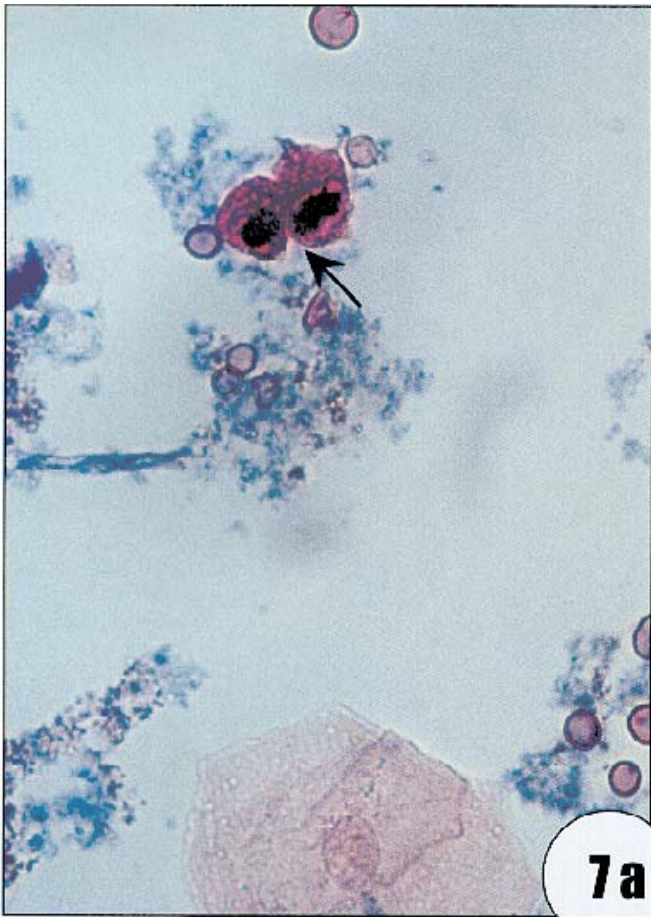
REAGENA



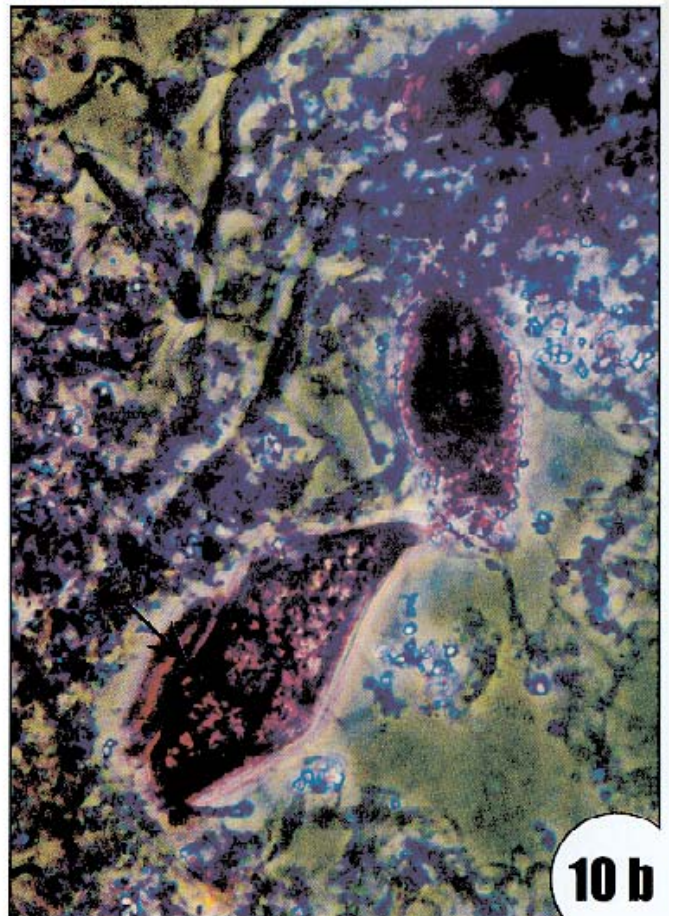
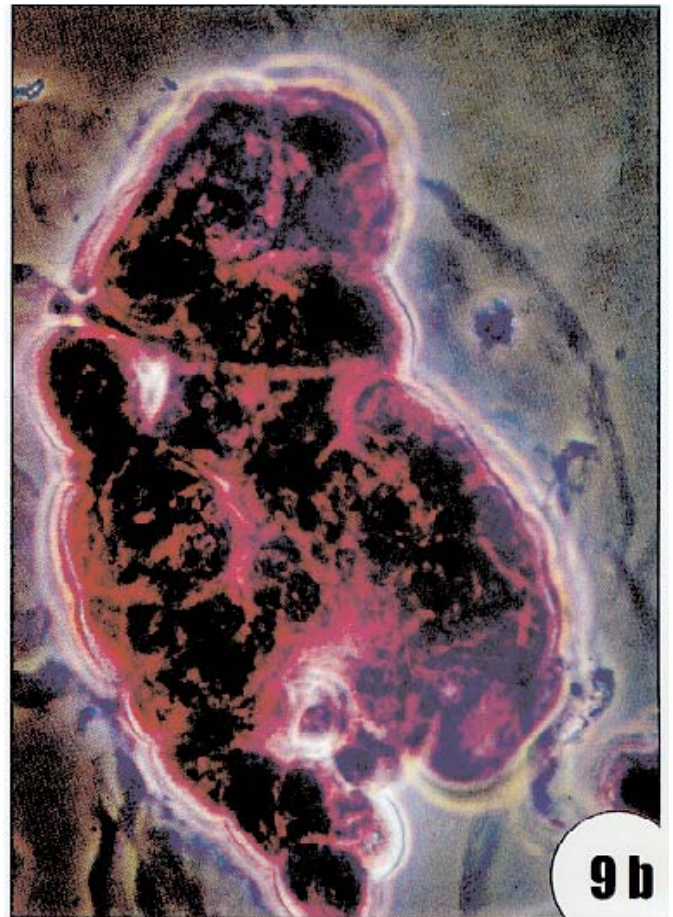
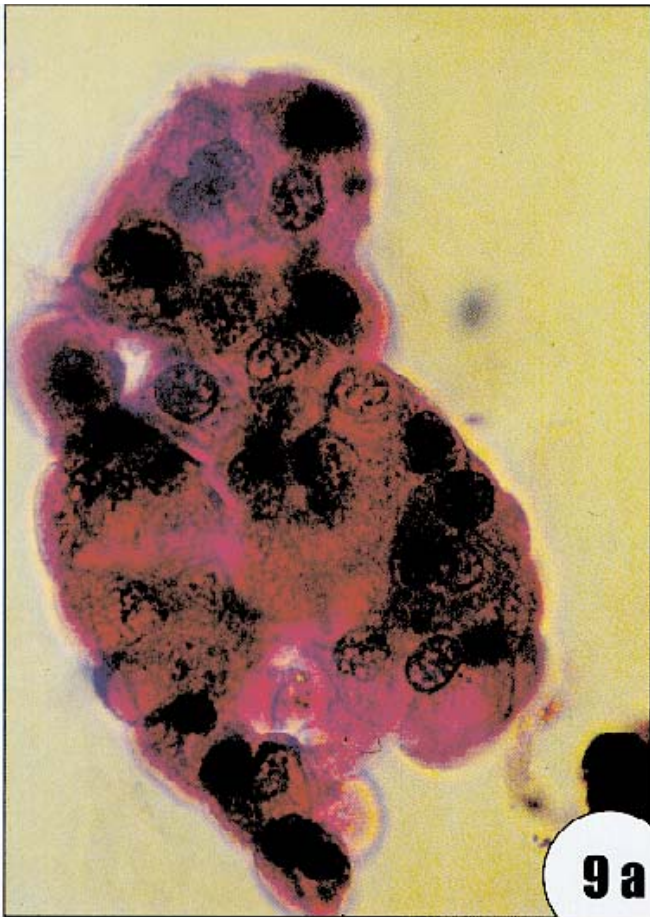
REAGENA



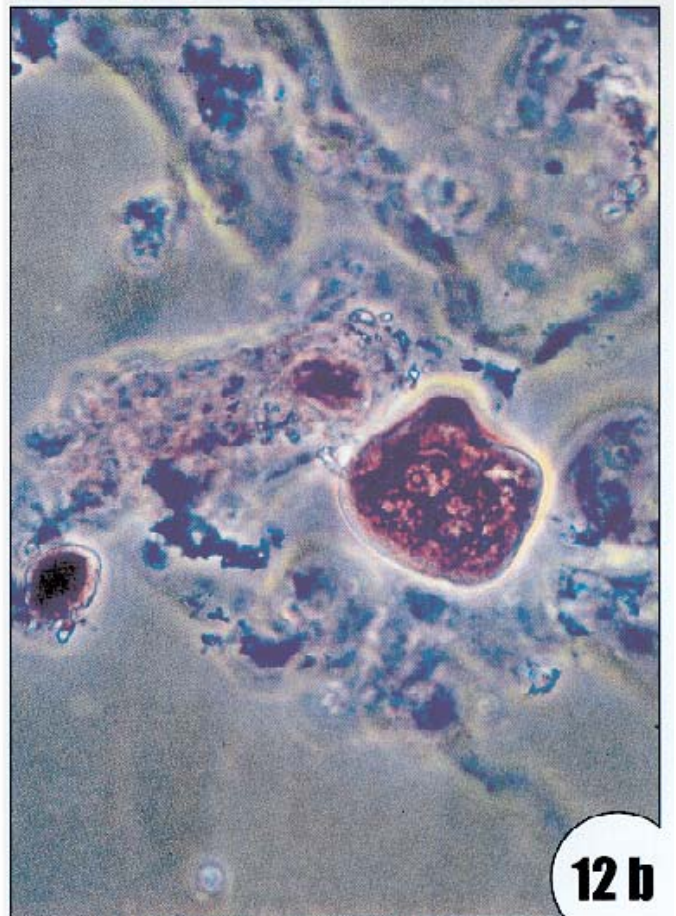
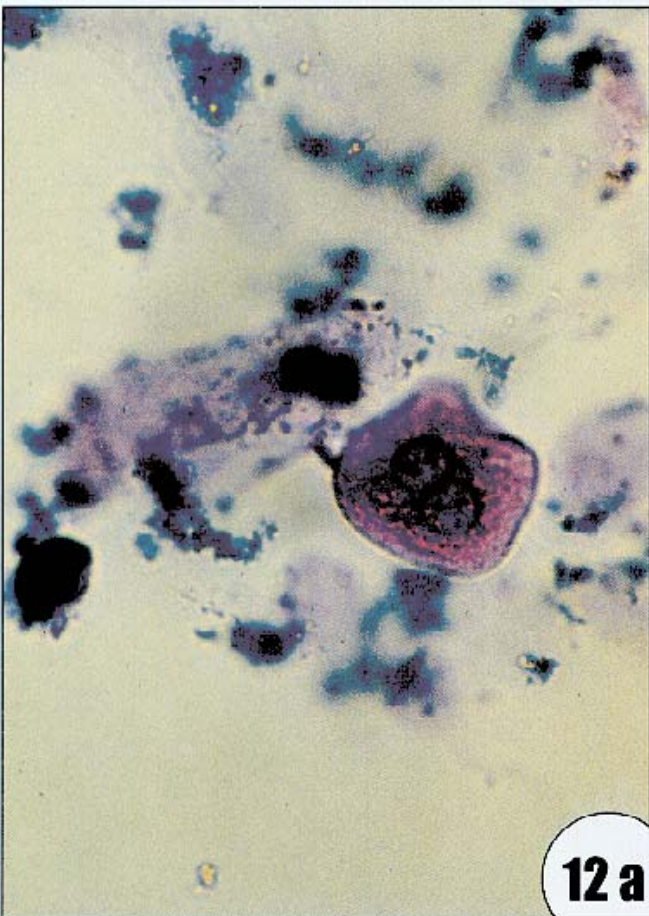
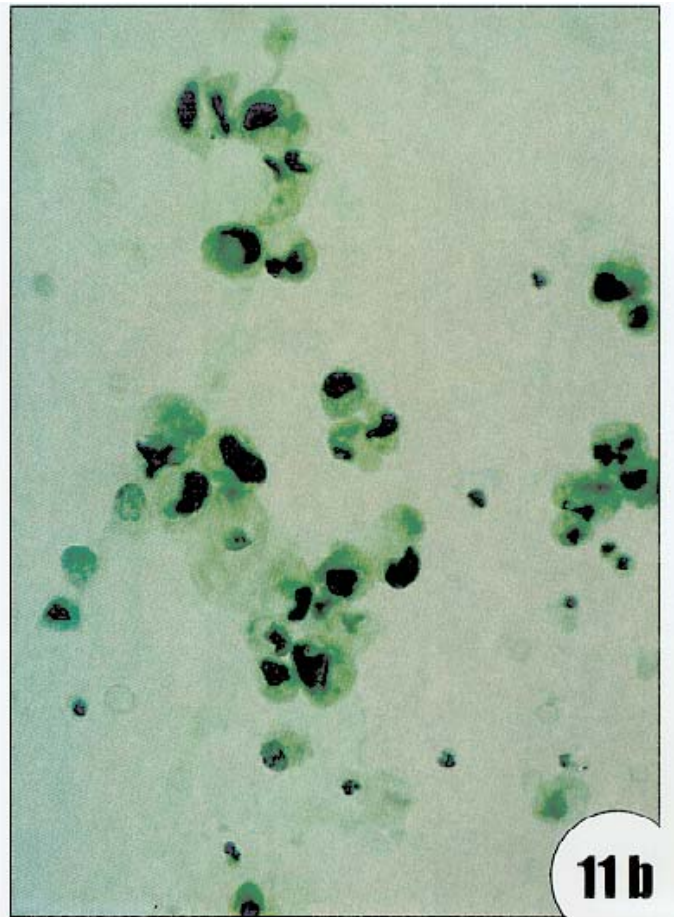
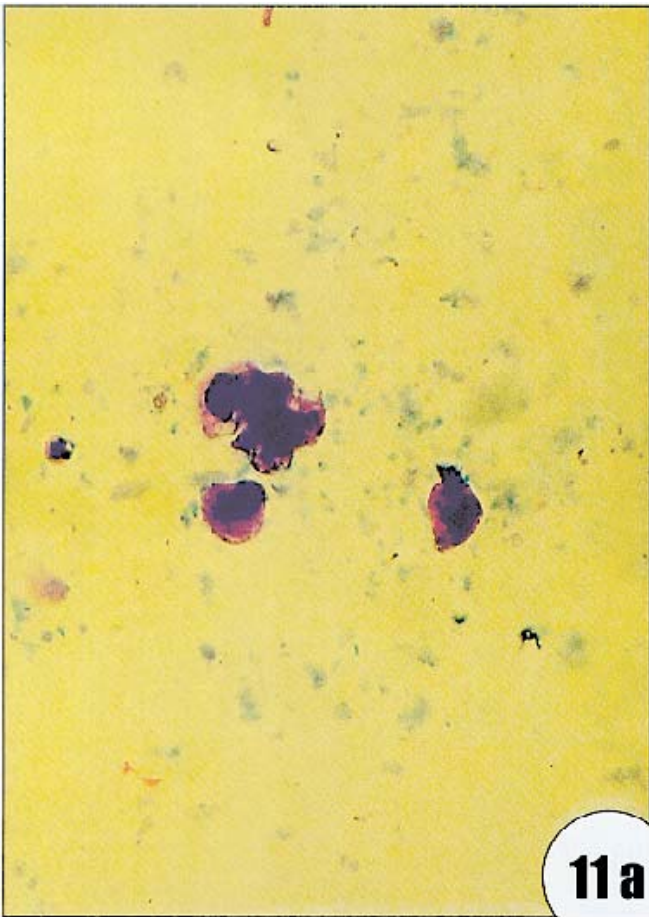
REAGENA



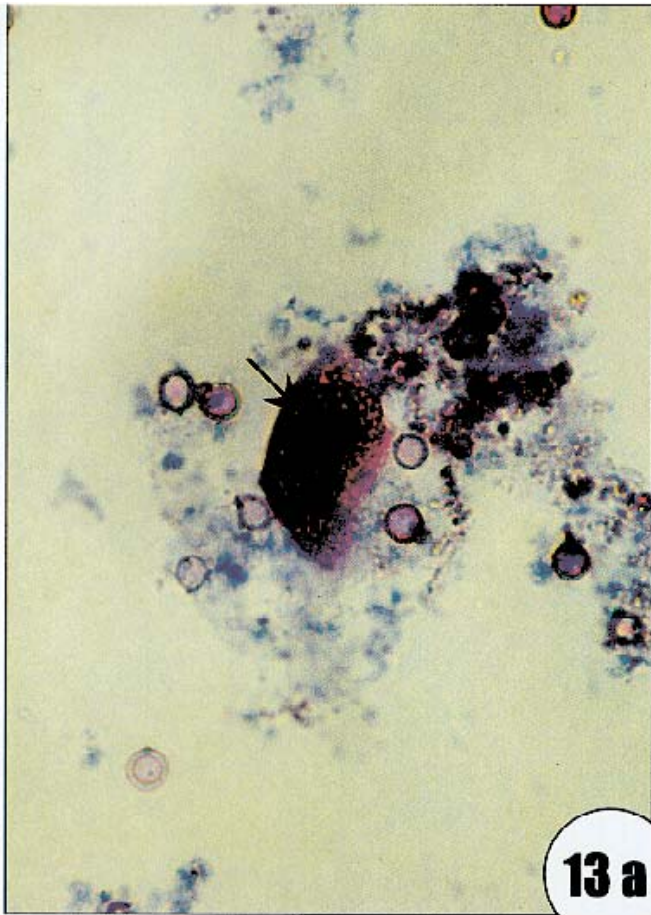
REAGENA



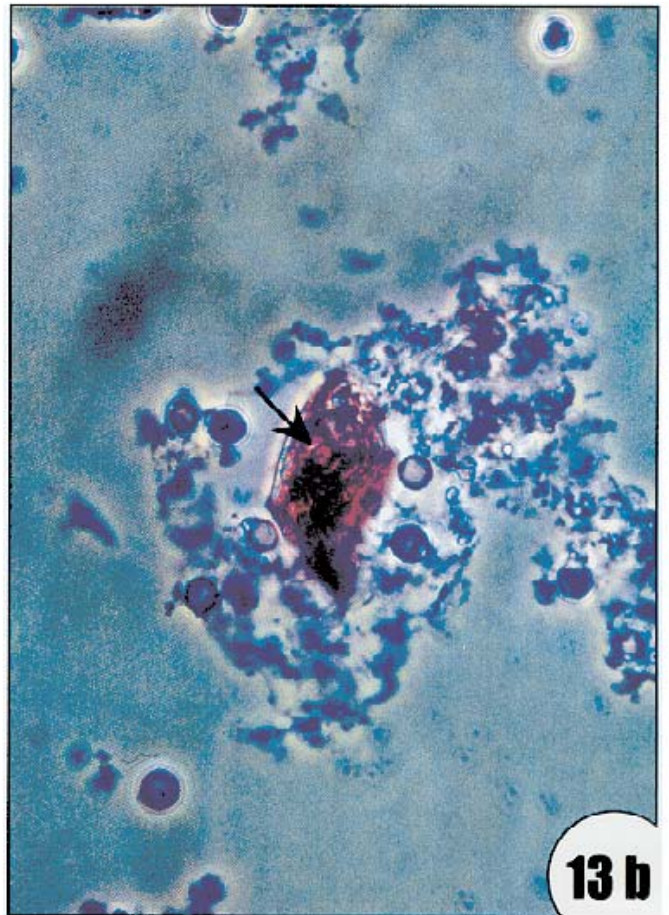
REAGENA



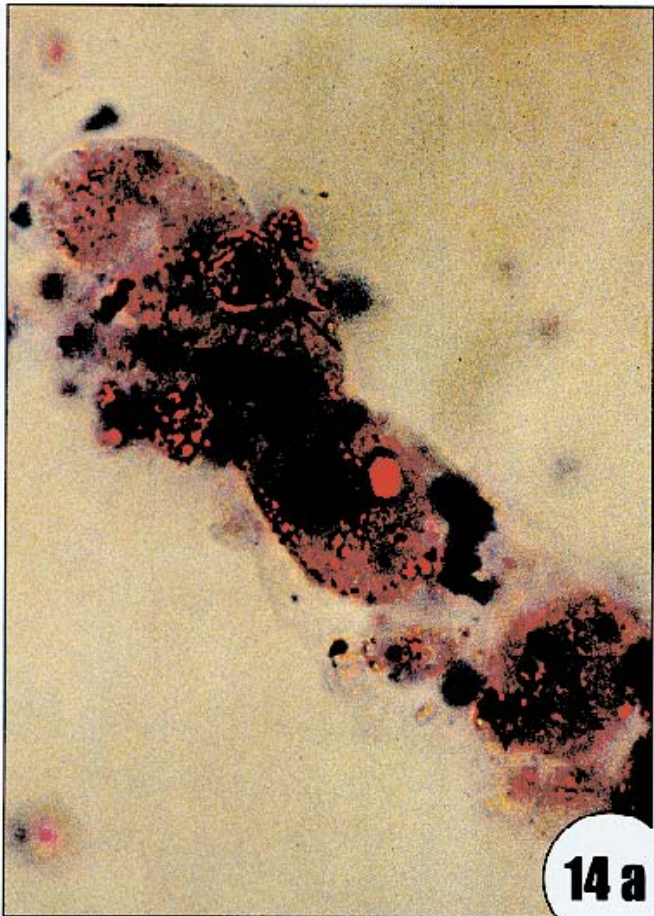
REAGENA



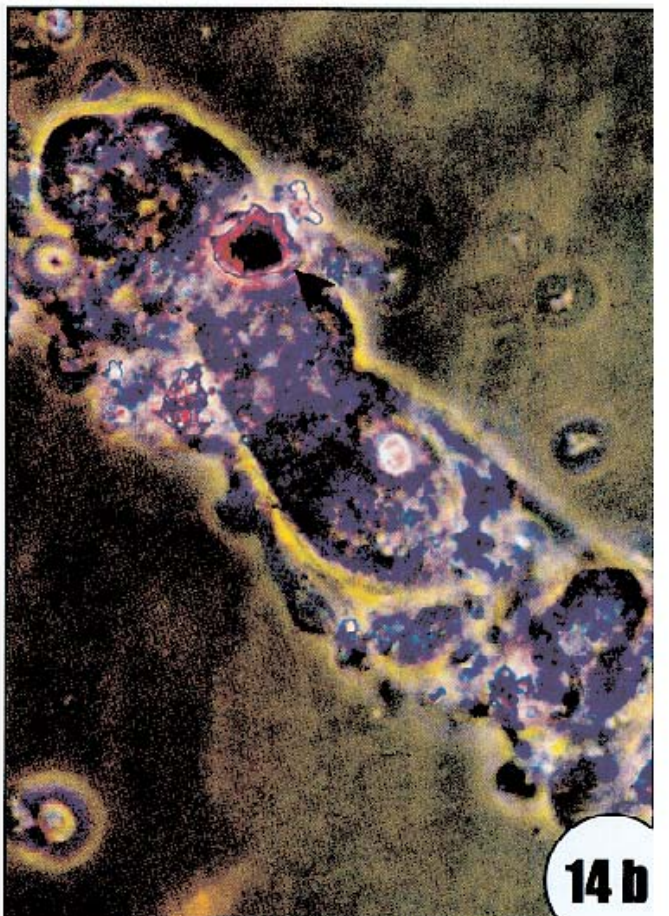
13 a



13 b



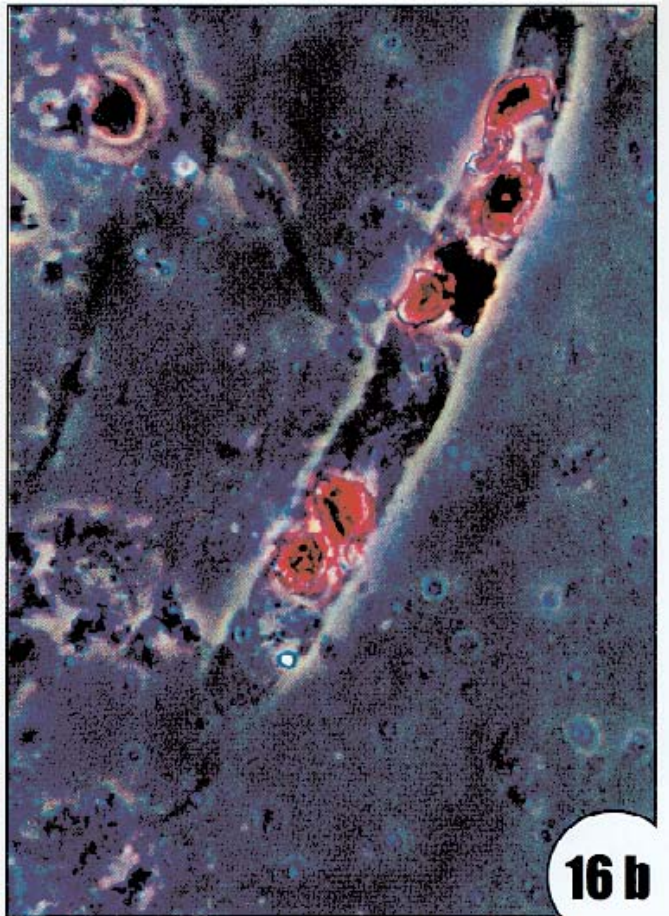
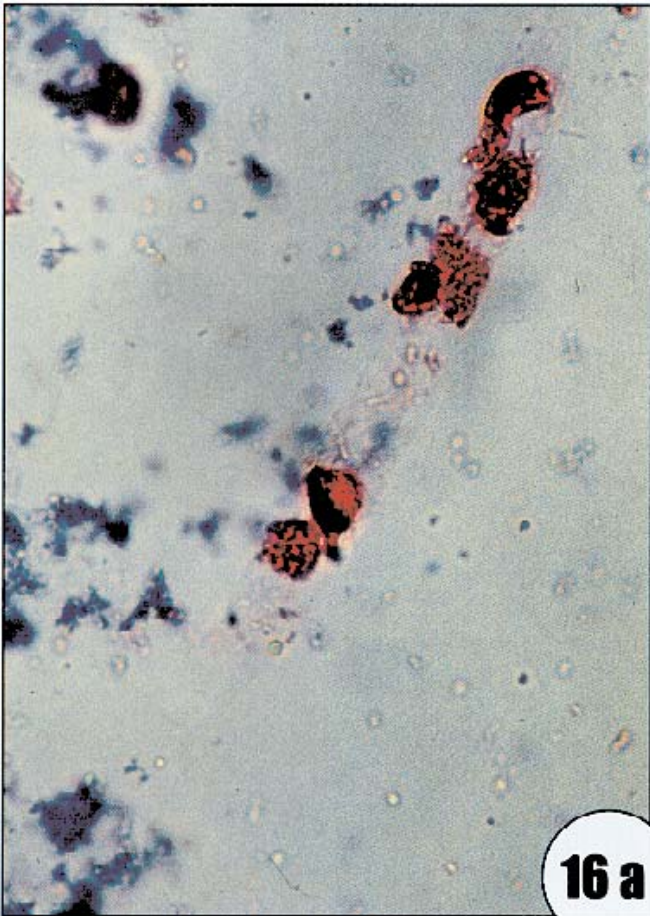
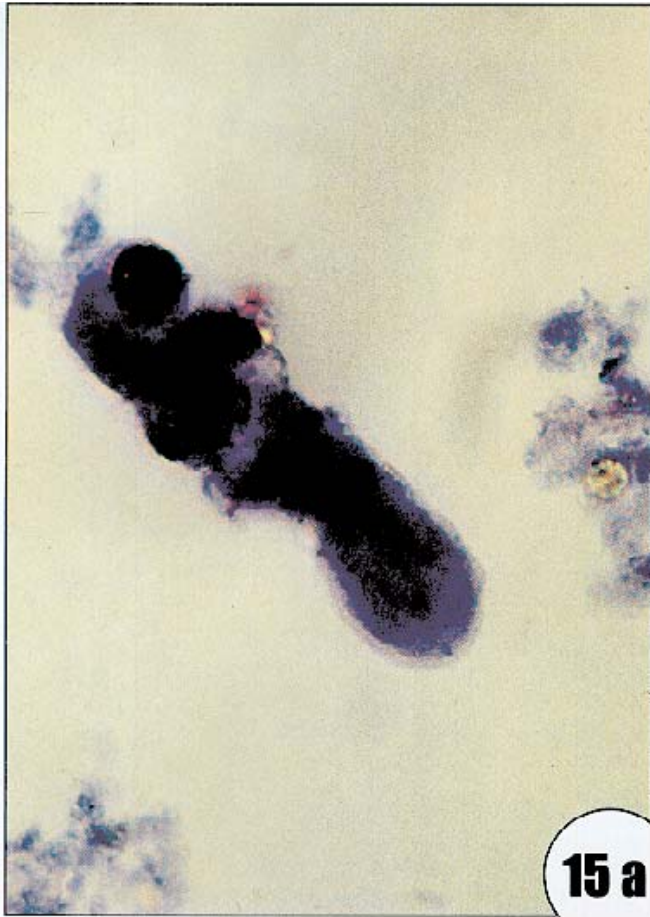
14 a



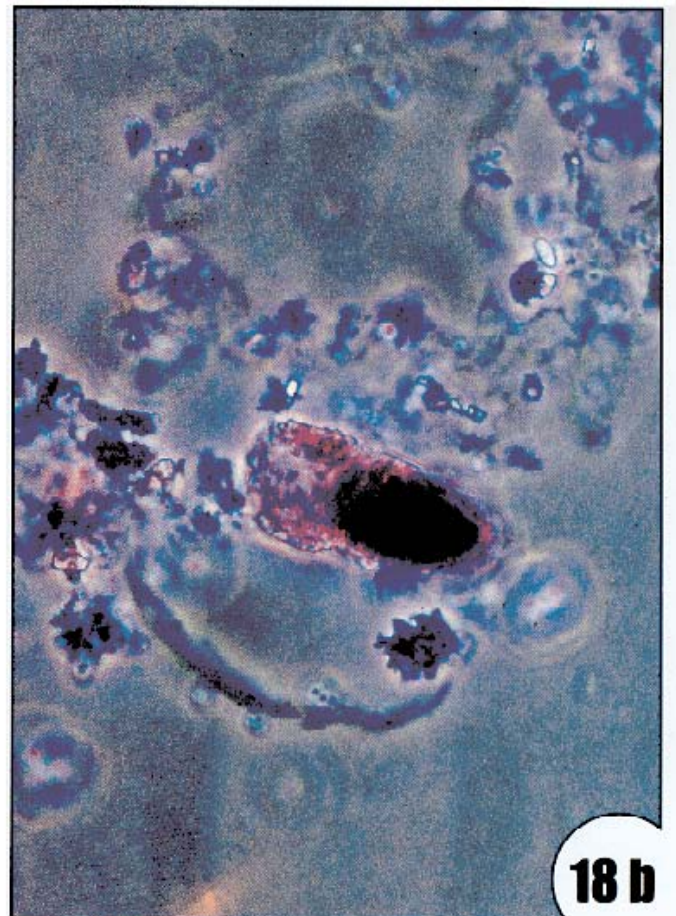
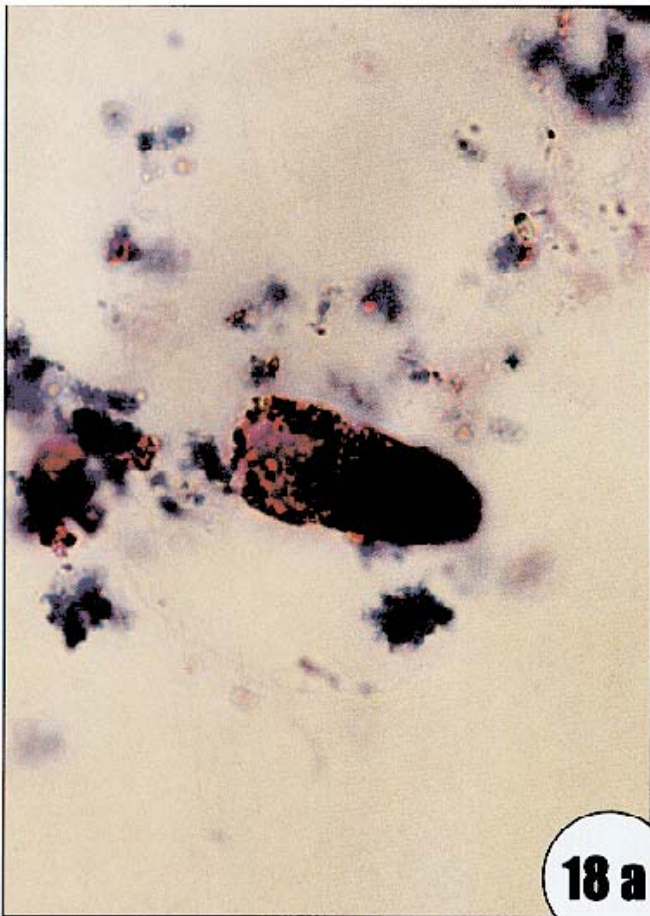
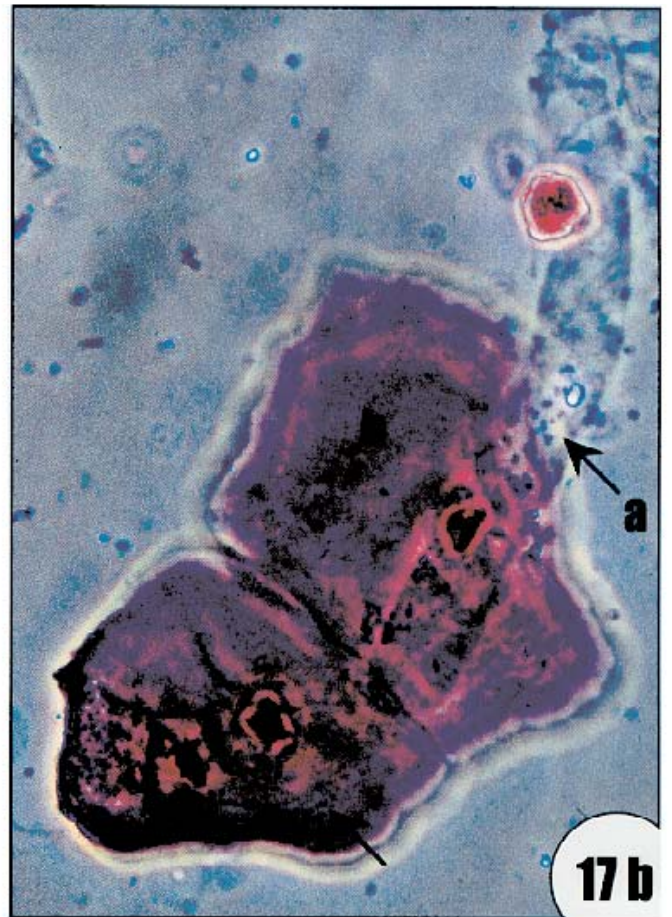
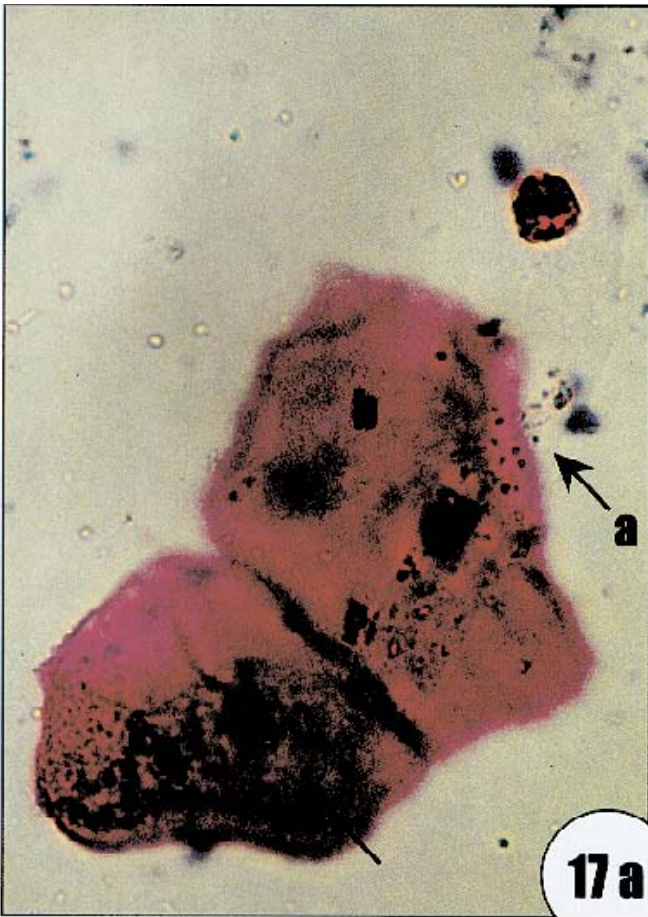
14 b



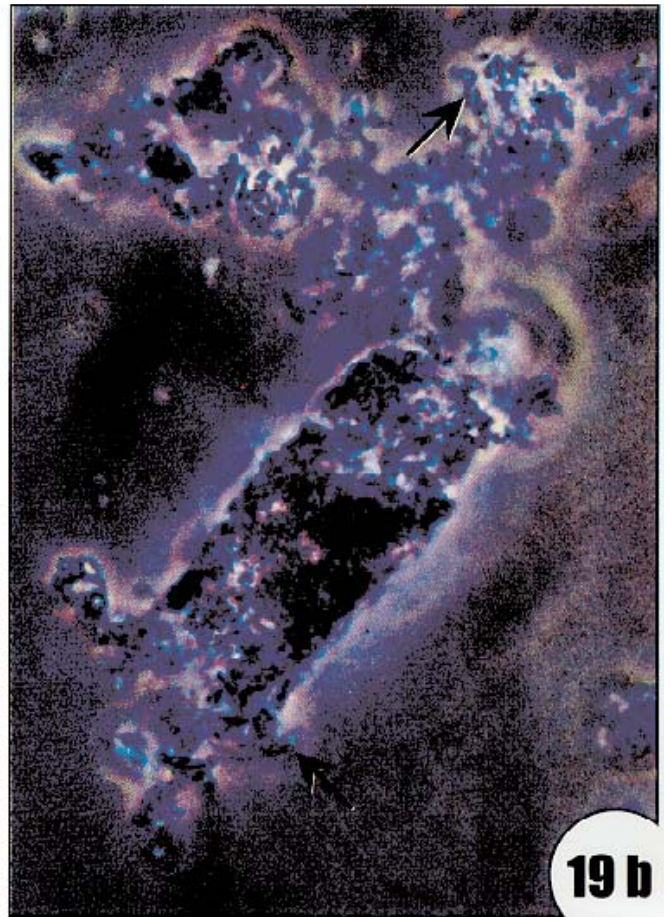
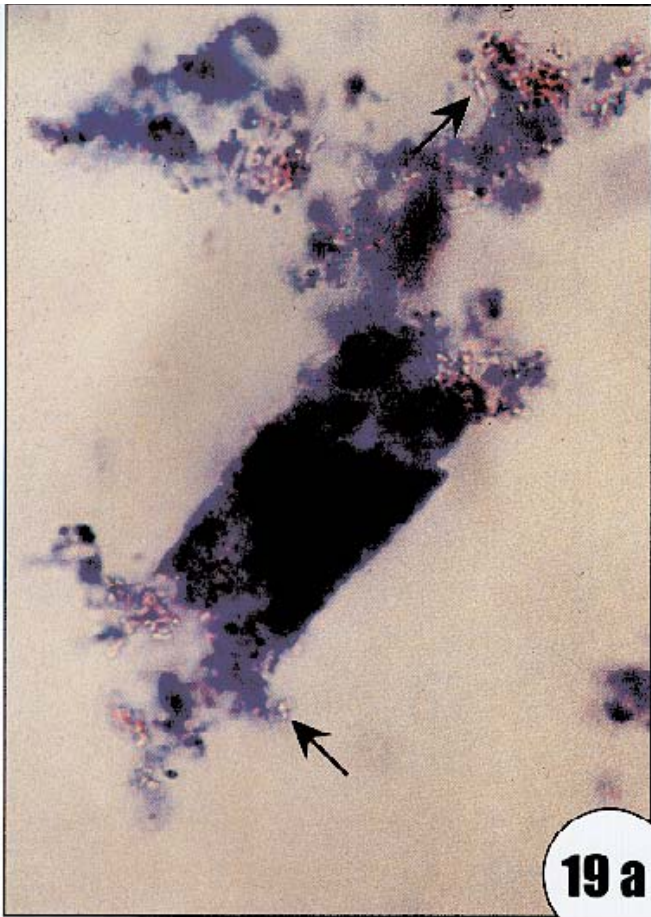
REAGENA



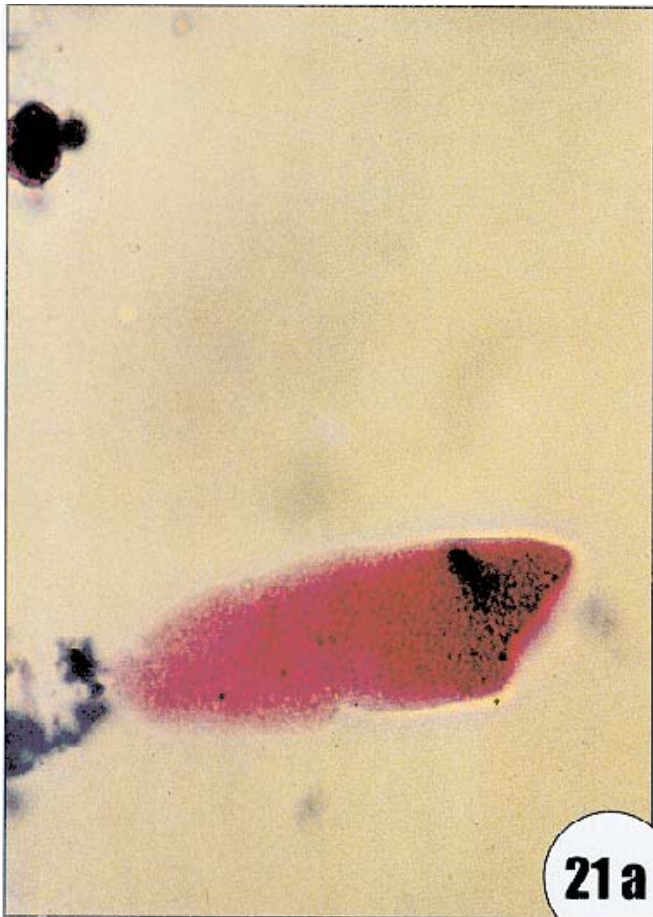
REAGENA



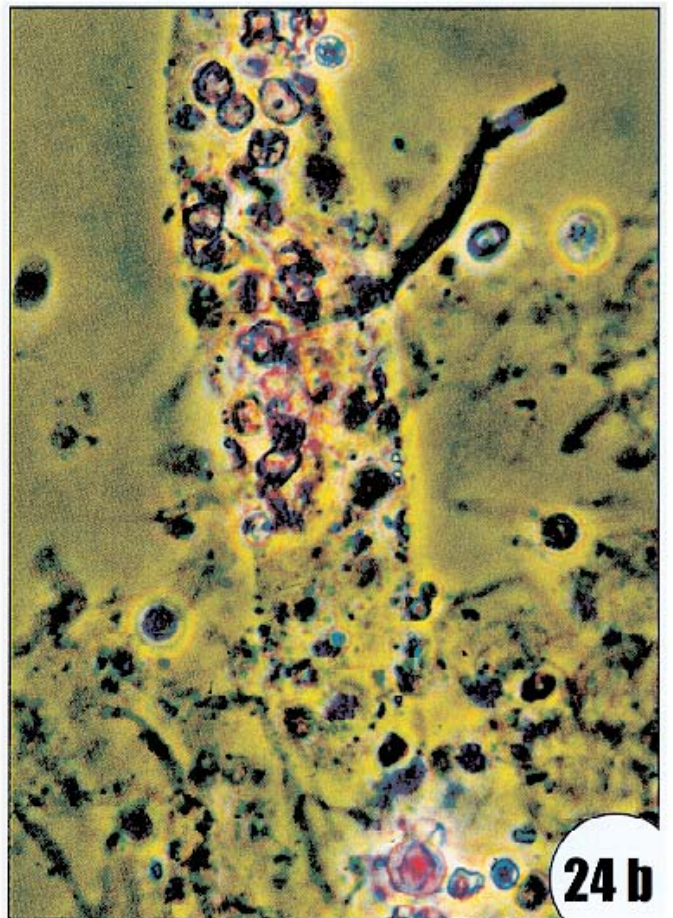
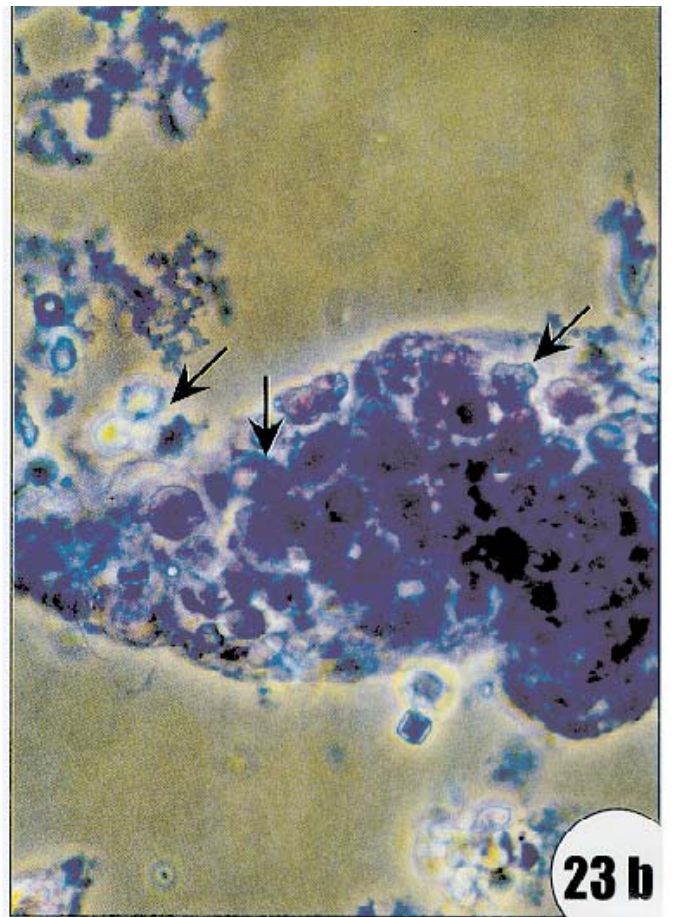
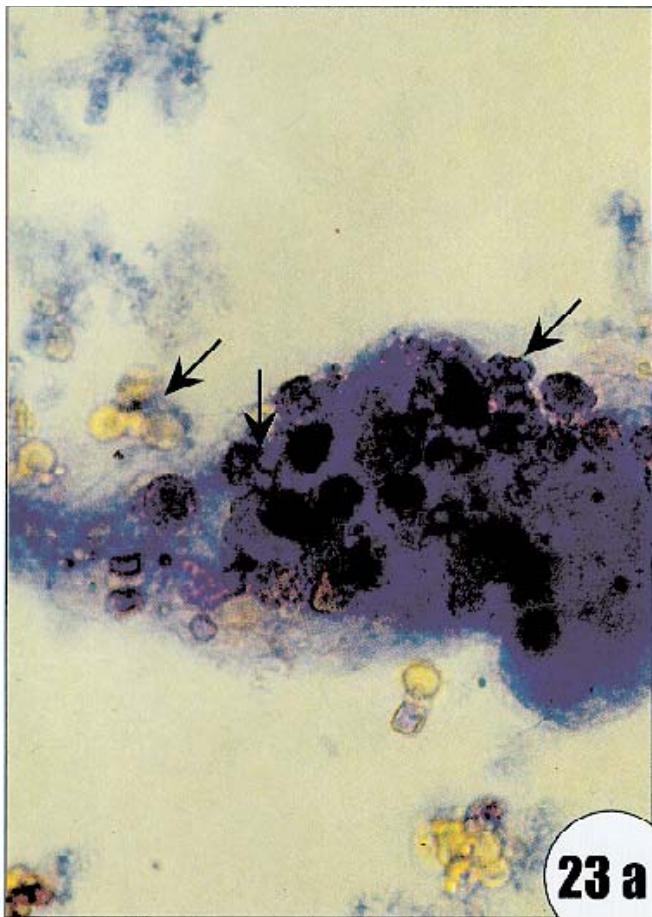
REAGENA



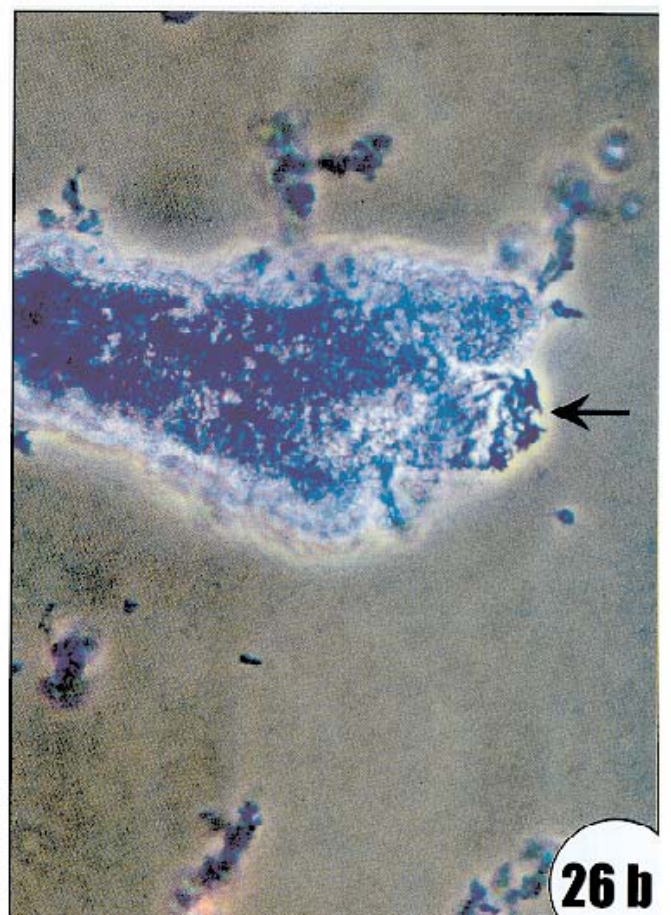
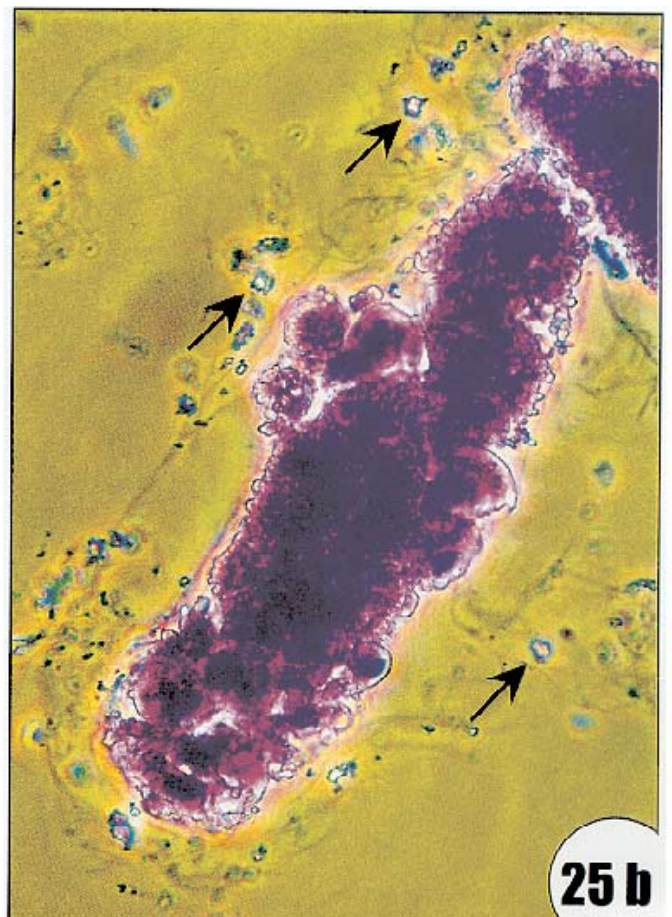
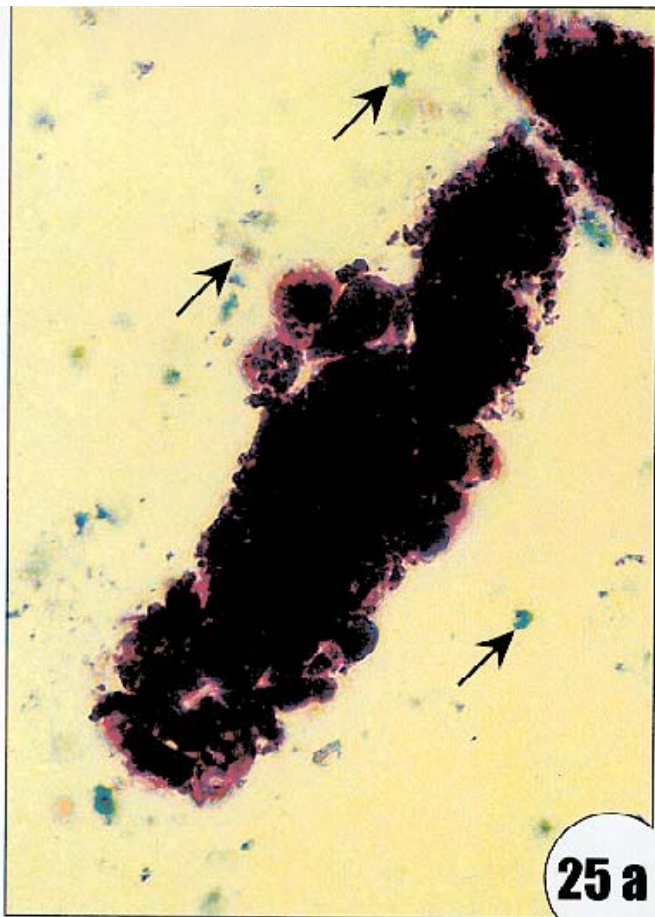
REAGENA



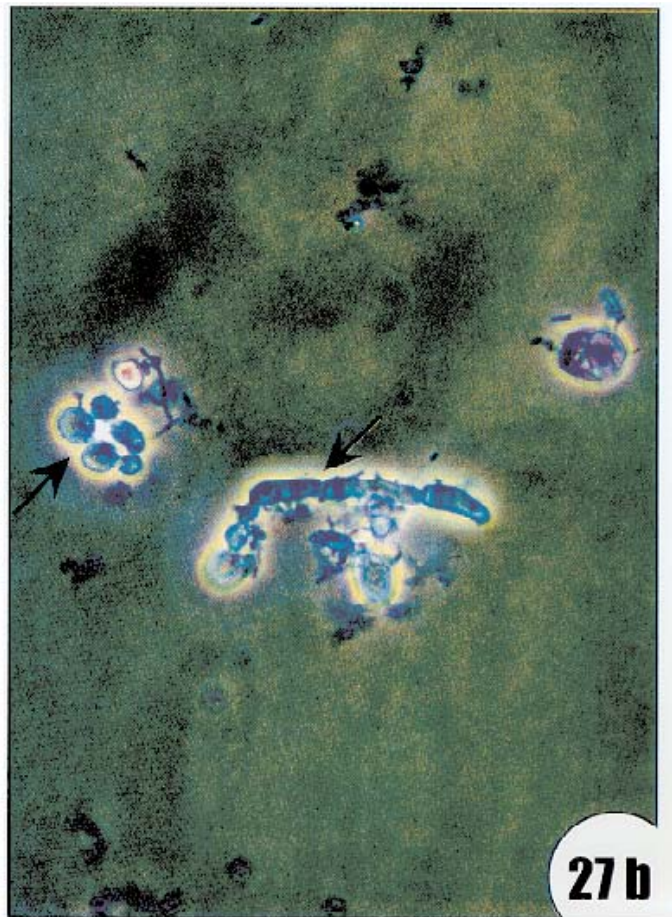
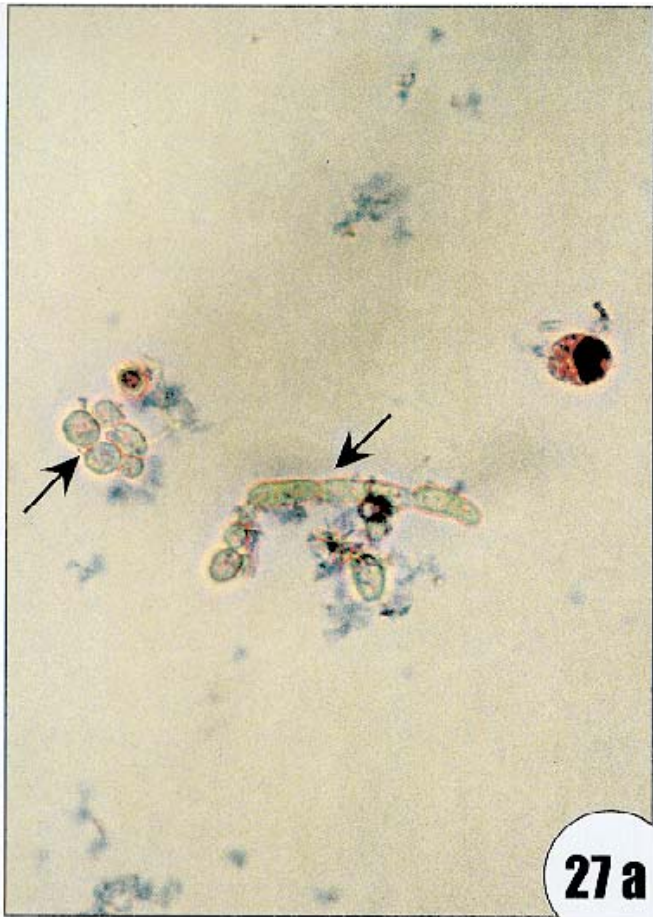
REAGENA



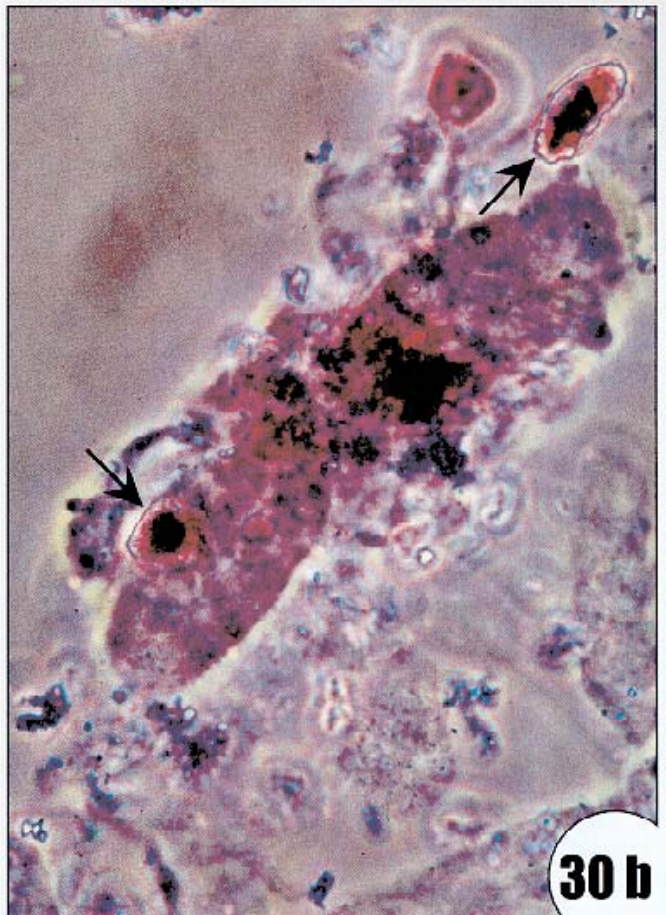
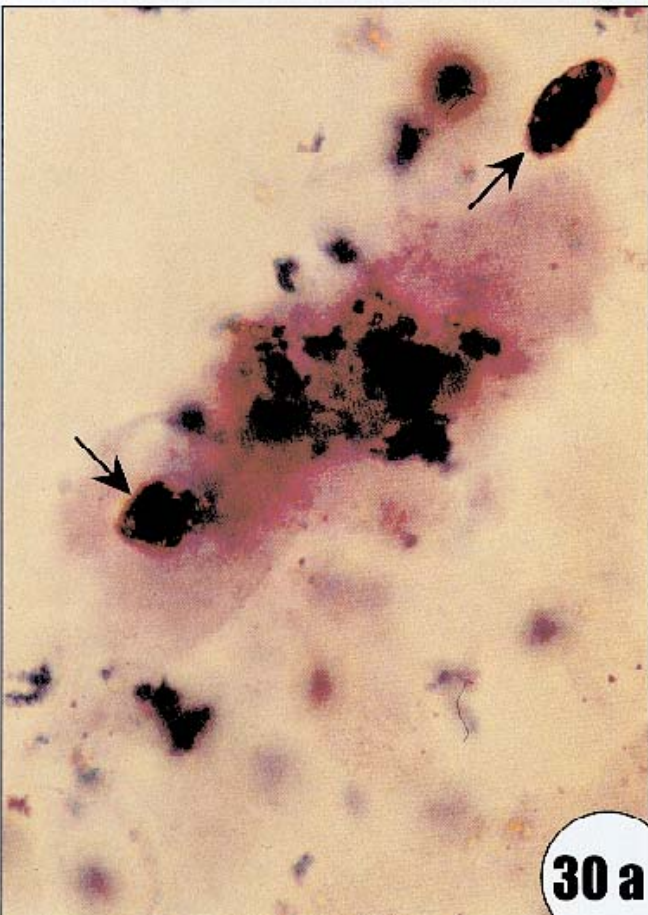
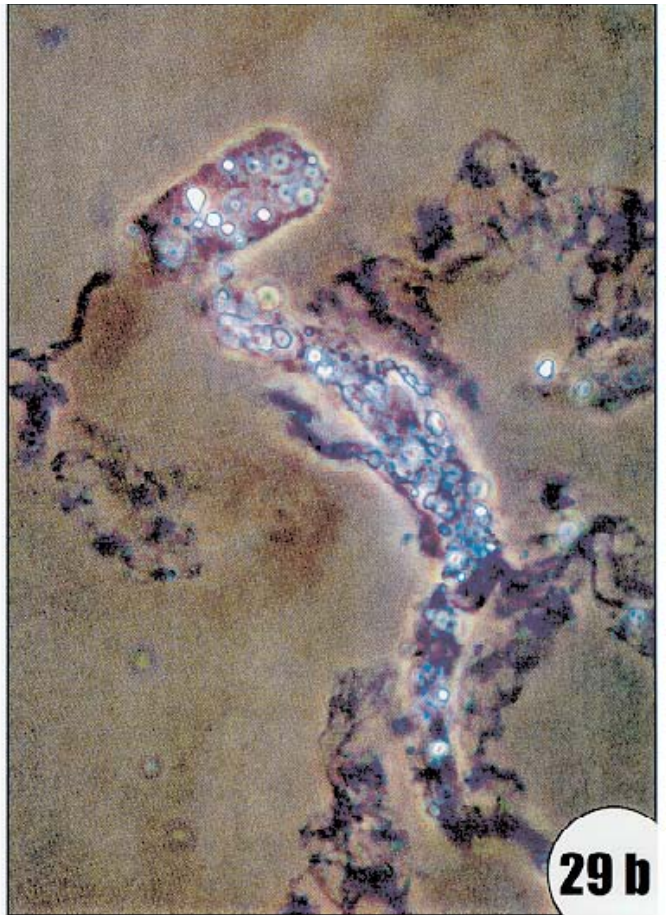
REAGENA



REAGENA



REAGENA



REAGENA

Timo Kouri

Доцент

Госпиталь Университета Tampere

Факультет Клинической Химии

Председатель Европейской Группы по Анализу Мочи (European Urinalysis Group)

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ АНАЛИЗА ОСАДКА МОЧИ В РУТИННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ.

Введение

Анализ осадка мочи впервые был введен в клиническую практику в 1930 году во Франции, Англии и Германии. Еще до 1900 года было разработано много красителей. Процедура окрашивания требовала большого количества времени, и была сложна в исполнении. Методика не была стандартизована и различалась в разных странах, а результаты, полученные в разных лабораториях, плохо воспроизводились (1). Финские исследователи уже в 1983 году впервые ввели национальные стандарты по анализу осадка мочи (2). В данной статье изложен мой опыт в качестве национального советника по анализу осадка мочи с 1990 года. Проведен обзор по клиническому значению оценки различных элементов мочи. Кроме того, предложена рутинная методика анализа осадка мочи для клинических лабораторий, основанная на суправитальном окрашивании и стандартной подготовке осадка. Так как при мониторинге пациентов, сбор мочи достаточно прост, анализ осадка мочи является основным диагностическим тестом в практике нефролога, а также других клиницистов, Анализ позволяет проводить мониторинг больных с заболеваниями почек и мочевыводящих путей.

Два уровня дифференцирования

В соответствии с рекомендациями Европейской Группы по Анализу Мочи анализ осадка мочи можно разделить на "базовый" и "развернутый" (табл. 1) (3).

Таблица 1. Уровни микроскопической дифференциации при клиническом анализе мочи

Базовый анализ	Развернутый анализ
Эритроциты	Оценка морфологических характеристик эритроцитов
Лейкоциты/Гранулоциты	Лимфоциты, макрофаги, эозинофилы
Клетки плоского эпителия	
Цилиндры (есть/нет) Гиалиновые Негиалиновые	Эритроциты, гранулоциты, цилиндры из канальцев почек Гиалиновые, зернистые, воскообразные, жировые цилиндры Бактерии и цилиндры, содержащие грибы Гемоглобин и цилиндры, содержащие миоглобин Смешанные цилиндры
Бактерии (есть/нет)	Характеристики после окрашивания по Грамму
Грибы (есть/нет)	Schistosoma haematobium
Неплоскоклеточные эпителиальные клетки Сперматозоиды	Эпителиальные клетки почечных канальцев Клетки переходного эпителия (поверхностного и глубокого) Клетки кишечного эпителия (для исключения ошибок после операциях на мочевом пузыре)
Артефакты (волосы, волокна бумаги, крахмал, стекло)	
Основные кристаллы (ураты, оксалаты, фосфаты)	Редкие кристаллы (лекарства, цистин, лейцин, тирозин)
Слизь	

При "базовом" анализе достаточно, чтобы количество различных элементов почки было небольшим, это позволяет не проводить более подробный анализ. Этот метод можно использовать в амбулаториях или небольших лабораториях и лабораториях госпиталей в первые часы после госпитализации. Развернутый микроскопический анализ осадка мочи проводят у больных с нарушением функции почек (чаще всего, в химических лабораториях в дневное время и нефрологических отделениях). В микробиологических лабораториях можно более детально охарактеризовать микроорганизмы, например при окрашивании по Грамму.

Клиническое значение различных элементов мочи.

Лейкоциты: Несмотря на то, что разработаны тест-полоски, которые можно использовать для экспресс-диагностики, у больных с инфекцией мочевыводящих путей микроскопическое исследование осадка мочи является одним из главных методов обследования. Гранулоциты - основной вид лейкоцитов, который выявляется у больных с инфекцией мочевых путей. Гранулоциты также определяются у пациентов с гломерулонефритом, интерстициальным нефритом и асептическим циститом. Если в культуре не высеваются основные патогенные микроорганизмы, инфицирующие мочевыводящие пути, необходимо оценить возможность инфицирования микроорганизмами со специфическими требованиями к условиям роста (*Mycobacterium tuberculosis*). В этом случае, осадок мочи позволит выявить инфицирование и восприимчивость пациента к лечению. Выявление лимфоцитов в моче свидетельствует о наличии хронического воспаления, вирусной инфекции, отторжения почечного трансплантата. Макрофаги (мононуклеарные фагоциты, гистиоциты) часто выявляются у пациентов с инфекцией мочевыводящих путей, но их значение остается не изученным. Эозинофильные гранулоциты не рассматриваются в качестве маркера острого интерстициального нефрита. Поэтому их значение ограничено, но при необходимости, эозинофилы можно выявить с помощью специфического окрашивания (4).

Эритроциты

Гематурия - является основным признаком заболеваний мочевых путей или почек. Она может быть отражением общего кровотечения. Несмотря на то, что разработаны точные методы определения эритроцитов с помощью тест-полосок, очень важным является микроскопический анализ эритроцитов. Кроме того, в рутинной лабораторной практике определение гематурии при микроскопическом исследовании является основным скрининговым методом для выявления рака мочеполовых органов, так как определение специфических раковых антигенов только начинают входить в клиническую практику.

Вид эритроцитов в моче позволяет определить вероятное место кровотечения: эритроциты с нарушенной морфологией (эритроциты с ненормальными размером и формой) свидетельствует о нарушении гломерул, тогда как эритроциты с нормальной морфологией обычно происходят из нижнего отдела мочевого тракта (5,6). Оценка морфологии эритроцитов в моче является очень важной для выявления пациентов с изолированной гематурией, так как это позволяет провести последующую диагностику - урологическое или нефрологическое заболевание (7). Если гематурия связана с протеинурией, или другими почечными маркерами в моче, такими как цилиндры или почечный эпителий, морфология эритроцитов не просто показатель вовлечения ткани почек в патологический процесс. Оценка морфологии эритроцитов, безусловно, требует специальных навыков и ее лучше всего проводить при фазово-контрастной микроскопии. Поэтому ее относят к уровню развернутого анализа. Если 80% или более эритроцитов имеют измененную форму (т.н. дисморфные), это свидетельствует о наличии кровотечения из ткани почек. Если 80% и более эритроцитов имеют нормальную форму (т.н. изоморфные), это свидетельствует о наличии постренального кровотечения. При смешанном кровотечении - выявляют как изоморфные, так и дисморфные эритроциты. Рекомендуется также оценивать и количество акантоцитов, так как наличие акантоцитов (5% и более) является характерным признаком ренального кровотечения.

Эпителиальные клетки

Отделившиеся эпителиальные клетки можно использовать для оценки локализации патологического процесса - почки или мочевые пути.

Плоские эпителиальные клетки с внешних половых органов или дистальной уретры свидетельствует о неправильной методике сбора, за исключением сбора образцов у беременных женщин с сильно пролиферирующим эпителием.

Переходный эпителий из многослойного эпителия, который выстилает мочевые пути от почечных лоханок до мочевого пузыря. Эти клетки часто выявляют у пациентов с инфекцией мочевых путей и неинфекционными урологическими заболеваниями. Иногда, в рутинных лабораториях можно выявить атипичный переходный эпителий. Поэтому подробное цитологическое исследование мочевых путей является сложной методикой, часто получают как ложно отрицательные, так и ложно положительные результаты (9), поэтому диагностику должен проводить квалифицированный специалист-цитолог.

Эпителиальные клетки почечных канальцев в моче свидетельствует о повреждении почек (10). Клетки канальцев часто определяются у пациентов с активным пролиферативным гломерулонефритом (11), или канальцевым некрозом (12, 13). Клетки канальцев определяются при заболеваниях, влияющих на паренхиму почек, таких как злокачественная гипертензия или вторично при других заболеваниях, таких как острый аппендицит. Клетки канальцев не должны определяться в моче здоровых лиц, необходимо

оценить всю клиническую картину.

Так как клетки почечных канальцев трудно отличить от переходного эпителия, традиционно не окрашиваемые при световой микроскопии, в лабораторную практику был введен термин "малые округлые эпителиальные клетки". Чаще всего, при соответствующей подготовке и оценке достаточного количества патологических элементов, эти клетки можно очень хорошо дифференцировать. Хотя, базовая характеристика "малые эпителиальные клетки" является приемлемой при проведении скринингового исследования.

Цилиндры:

Цилиндры образуются в дистальных канальцах и собирающих трубочках (14), при этом нити гликопротеина Tamm-Horsfall агрегируют и превращаются в гель (уромукоид). Эти белки синтезируются клетками толстого восходящего участка петли Генле и формируют гиалиновый матрикс многих цилиндров (15). Преципитат, то есть цилиндр, формируется, если концентрация растворенных органических и неорганических соединений превышает уровень насыщения нормального коллоидного раствора. Внутри цилиндра можно обнаружить белки или жиры плазмы крови, а также различные клетки, микроорганизмы (бактерии или дрожжи) или кристаллы, в зависимости от патологического процесса. Некоторое количество цилиндров может быть обнаружено в концентрированной утренней моче у практически здоровых лиц. Наличие цилиндров очень часто связано с заболеваниями почек.

Липиды (жиры):

Липиды присутствуют в моче, когда липопротеины плазмы просачиваются через основную мембрану гломерул. Так как молекулы липопротеинов больше, чем молекулы белка, липидурия характерна для пациентов с тяжелой протеинурией, и поэтому свидетельствует о тяжелом поражении почек. Липиды представлены различными формами, которые не имеют специфического значения, например, каплями жиров, липидами, импрегнирующими эпителий канальцев почек ("овальные жировые тельца"), кристаллами холестерина или липид-содержащими цилиндрами.

Микроорганизмы:

Микроскопический метод не является чувствительным для выявления бактерий при их концентрации ниже 10⁸/л (10³/л), хотя наличие бактерий ниже этой концентрации очень важно у некоторых пациентов (16, 17). Микроскопия мочевого осадка, конечно очень важна у пациентов с инфекцией мочевого тракта, когда можно выявить большое количество микроорганизмов. Окрашивание по Грамму рекомендовано проводить только в микробиологических лабораториях, так как результаты исследования трудно интерпретировать. Другие микроорганизмы, такие как дрожжи и *Trichomonas vaginalis*, обычно выявляются в моче пациенток с вагинитом. У пациентов из тропических стран с помощью микроскопии мочевого осадка может быть обнаружена *Shistosma*.

Кристаллы:

Обнаружение кристаллов не является клинически значимым, если образцы мочи были заморожены, так как они могут преципитировать вследствие повторного концентрирования. Конечно, определение кристаллов обладает некоторым клиническим значением у больных с рекуррентным формированием камней почек для оценки эффективности лечения (18, 19), они обладают клиническим значением у пациентов с острой почечной недостаточностью (20). Специфические патологические кристаллы выявляются редко. Они включают лекарственные препараты, которые могут кристаллизоваться в моче, такие как сульфадiazин (кристаллы которые появляются при "шоковом нагревании"), ацикловир (иглообразные кристаллы), и нафтигидрофурил оксалат (вазодилатирующий препарат, кристаллы моногидрата оксалата кальция). Цистинурия также может быть выявлена по патологическим шестиугольным кристаллам в моче. Для выявления кристаллов цистина с помощью микроскопии, образцы необходимо закислить с помощью уксусной кислоты (pH 4-5) и заморозить на ночь, для того, чтобы произошла кристаллизация. При редком генетическом дефиците аденин фосфорибозилтрансферазы в моче определяются кристаллы 2,8 гидроксиаденина (21). У больных с тяжелой печеночной недостаточностью в моче выявляют кристаллы тирозина и лейцина.

Артефакты могут ввести в заблуждение исследователя. Волосы могут быть расценены как волокнистая структура. Частицы туалетной бумаги могут быть расценены как цилиндры, что обусловлено технологическим процессом ее производства. Для обеспечения качества проводимых исследований необходимо предотвращать попадание посторонних частиц в исследуемые образцы, их окрашивание и изучение под микроскопом.

Таблица 2. Суммарная таблица по стандартизации исследования осадка мочи.

Задача	Стандарт	Метод проверки
Доставка	Для получения точных результатов, исследование мочи необходимо проводить в течение 4 часов после сбора образцов (если хранятся при +4 ⁰ С), в течение 30 минут при комнатной температуре, в иных случаях необходимо добавить консерванты.	Записывать время сбора образцов
Объем образца	10 или 12 мл, центрифугирование	Использование градуированных пробирок
Центрифугирование	400 g в течение 5 минут, лучше всего при +4 ⁰ С	Проверить параметры, указанные в инструкции для пользователя
Отделение супернатанта	Отбор строго определенного количества супернатанта, с определенным фактором концентрации	Калибровка общего объема образца при помощи взвешивания объединенной мочи (буферный раствор имеет разное поверхностное натяжение)
Методы окрашивания и микроскопии	Фазовоконтрастная микроскопия, окрашивание или поляризационная микроскопия являются дополнительными методами исследования, использование объективов на малое и большое увеличение.	Консультация с поставщиками
Объем образца, исследуемого при микроскопии	Оценка и подсчет	Использование слайд-планшетов с измерительными линиями
Список исследуемых элементов	Проверка с данным руководством	Сравнить с местными протоколами
Представляемые количества,	Частицы/мкл, мл или л (частиц при большом увеличении 400x)	Единообразии подсчетов
Воспроизводимость получаемых результатов	Записывание проводимых процедур	Обучение персонала, двойной слепой контроль
Внутренний контроль качества	Обучающие курсы, двойной еженедельный контроль качества	Два независимых исследователя исследуют один и тот же образец
Внешний контроль качества	Участие в международных и европейских программах	Доступ к документам и результатам
Калибровка	Объективный контроль качества получаемых результатов	Оценка

Стандартная процедура исследования мочевого осадка

При проведении базового исследования мочевого осадка, для точной цитологической диагностики, фиксирование образцов требует большого количества времени (22). Подготовка влажных препаратов с консервантами или без них является адекватным компромиссом для рутинных лабораторий.

Центрифугирование образцов мочи всегда сопровождается потерей частиц, что приводит к получению неточных результатов (23). По другим данным, при анализе не центрифугированной мочи можно точно оценить количество частиц, но при этом могут быть пропущены редкие частицы. Поэтому центрифугирование по стандартной процедуре позволяет повысить чувствительность. Для точной оценки содержания исследуемых частиц в моче необходимо учитывать фактор концентрации. Центрифугирование необходимо проводить при 400 G в течение 5 минут. Если проводится анализ большого количества исследуемых образцов, или есть параллельные задачи лучше всего использовать центрифугу с охлаждением. Формула для перевода относительной силы центрифугирования (RCF, G) во вращения в минуту (RPM, r/min) приведена ниже:

$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$$

Где r = радиус центрифуги до центра центрифуги до центра пробирки (см)

RPM - $600 \times 1/r$, если RCF = 400 x g

Окрашивание и оптика:

Суправитальное окрашивание вместе со световой микроскопией является обязательным для выявления и дифференцирования элементов мочи. В рутинной практике, контрастное окрашивание голубым и красным (Алициан голубой-пиронин В окрашивание по Sternheimer) (24) является более предпочтительным, чем фиолетовое окрашивание (генциан фиолетовый - шафранин О по Sternheimer-Malbin) (25). Также есть сообщения об успешном опыте применения толуидинового голубого (26). Фазово-контрастная микроскопия позволяет с точно выявлять бактерии, эритроциты и гиалиновые цилиндры. Для проведения фазовоконтрастной микроскопии также рекомендовано использовать окрашивание. Фильтры для поляризованного света помогают точно выявлять кристаллы, и в некоторых случаях, также липиды.

Оценка количества:

Для исследования рекомендовано использовать качественные бинокулярные микроскопы с объективами на малое (10x до 16x) и большое увеличение (40x). Окуляры должны иметь увеличение 10x до 12,5x. Объем образца зависит от средней толщины слоя жидкости под покровным стеклом и от размера покровного стекла. Диаметр поля зрения равен числу полей зрения (обычно от 18 до 22 м, по данным производителей), разделенный на увеличение объектива. Также возможно измерение с помощью специальных приспособлений (измерительная линейка на стеклах для микроскопии). Зная фактор концентрации (обычно 20x), объем красителя, внесенного на стекло, площадь поверхности покровного стекла и диаметр поля зрения в окулярах, можно оценить количество мочи, которое находится в микроскопическом образце. .

Представление результатов:

Результаты исследования (количество элементов) лучше всего представлять в средних значениях, нежели в диапазоне значений. На практике это выражается в количестве частиц в поле зрения при большом увеличении. Кроме того, рекомендовано вычислять количество элементов в единице объема (л или мл). Обычно количество элементов не превышает 20-300 частиц в 106/л. Для подсчета количества микроорганизмов, таких как бактерии, можно использовать специальную шкалу (отсутствие, малое, умеренное, большое количество).

В таблице 2 представлены важные детали, которые необходимо учитывать при проведении анализа осадка мочи (см. работу 27).

Список литературы

1. Winkel P, Statland BE, Joergensen K. Urine microscopy, an ill-defined method, examined by a multi-factorial technique. *Clin Chem* 1974; 20: 436-439.
2. Koivula T, Gronroos P, Gavert J, Icen A, Irljala K, Penttila I, Siitonen A, Siukola A. Basic urinalysis and urine culture: Finnish recommendations from the working group on clean midstream specimens. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 suppl 200: 26-33. A new Finnish revision has recently been published by Labquality of Finland (Kouri T. et al. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelya varten, Moodi, Erillisjulkaisu 7, Helsinki: Bioclin, 1999).
3. Kouri T, Hallander H, Fogazzi G, Gant V, Hofmann W, Guder WG. The ECLM -European Urinalysis Guidelines. *Scand J Clin Lab Invest, Suppl*, to be published.
4. Nolan CR III, Anger MS, Kelleher SP. Eosinophiluria - a new method for detection and definition of the clinical spectrum. *N Engl J Med* 1986; 315: 1516-1518.
5. Fassett RG, Horgan BA, Mathew TH. Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. *Lancet* .1982; i: 1432-1434.
6. Fogazzi G, Ponticelli C. Microscopic haematuria diagnosis and management. *Nephron* 1996; 72: 125-134.
7. Schramek P, Schuster FX, Georgopoulos M, Porpaczy P, Maier M. Value of urinary erythrocyte morphology in assessment of symptomless microhematuria. *Lancet* 1989; ii: 1316 - 1319.
8. Fasset RG, Horgan BA, Matthew TH. Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. *Lancet I*: 1432-1434, 1982.
9. Maier U, Simak R, Neuhold N. The clinical value of urinary cytology: 12 years of experience with 615 patients. *J Clin Pathol* 1995; 48: 314-317.
10. Schumann GB. Utility of urinary cytology in renal diseases. *Semin Nephrol* 1985; 5: 158-178.
11. Fogazzi GB, Passerini P. Der nephritische Sedimentbefund. *Therapeutische Umschau* 1994; 51: 797-800 (German).
12. Schumann GB. *Semin Nephrol* 1985, the same as above.
13. Mandal AK, Sklar AH, Hudson JB. Transmission electron microscopy of urinary sediment in human acute renal failure. *Kidney Int* 1985; 28: 58-63.
14. Schumann GB, Harris S, Henry JB. An improved technic for examining urinary casts and a review of their significance. *Am J Clin Pathol* 1978; 69: 18-23.
15. Lindner LE. Ultrastructural and chemical studies of urinary casts. In: Haber MH. *Urinary sediment. A textbook atlas*. Chicago: Am Soc Clin Pathologists, 1981, pp. 94-105.
16. Stamm WE, Counts GW, Running KR, Fihn S, Turck M, Holmes KK. Diagnosis of coliform infection in acutely dysuric women. *New Engl J Med* 1982; 307:462-468.
17. Hellerstein S, Alon U, Warady BA. Urinary screening tests. *Pediatric Infectious Diseases Journal* 1 992; 1 1:56-57
18. gazzi G. Crystalluria: a neglected aspect of urinary sediment analysis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 1 1: 379-387.
19. Levy FL, Adams-Huet B, Pak CYC. Ambulatory evaluation of nephrolithiasis: An update of a 1980 protocol. *Am J Med* 1995; 98: 50-59.
20. Fogazzi G. Crystalluria, 1996, as above.
21. Arnadottir M, Laxdal T, Hardarson S, Asmundsson P. Acute renal failure in a middle-aged woman with 2,8-dihydroxyadeninuria. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1985-1987.
22. Schumann GB, Schumann JL, Marcussen N. *Cytodiagnostic urinalysis of renal and lower urinary tract disorders*. Igaku-Shoin, New York-Tokyo, 1995.
23. Gadeholt H. Quantitative estimation of urinary sediment, with special regard to sources of error. *Brit Med J* 1:1547-1549, 1964.
24. Sternheimer R. A supravital cytodagnostic stain for urinary sediments. *J Am Med Ass* 231: 826-832, 1975.
25. Sternheimer R, Malbin B. Clinical recognition of pyelonephritis, with a new stain for urinary sediments. *Am J Med* 11: 312-323, 1951.
26. Holmquist ND. Detection of urinary cancer with urinalysis sediment. *J Urol* 1979; 123: 188-189.
27. Kouri T et al., ECLM - European Urinalysis Guidelines, as above.