

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИИ И ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ В КОЛИЧЕСТВЕННОМ ИССЛЕДОВАНИИ ЭЛЕМЕНТОВ МОЧИ

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», обособленное подразделение Медицинский научно-образовательный центр, 119192, Москва, Россия

Проведено сравнение методов проточной цитофлюориметрии и оптической микроскопии в исследовании элементов мочи с целью определения необходимости верификации врачом КЛД результатов, полученных на анализаторе. Представлены итоговые данные по сопоставлению результатов, полученных двумя методиками для различных групп патологии. В группах с нормальным и превышающим значения нормы содержанием форменных элементов мочи можно избежать участия врача в валидации результатов. В подгруппах с наличием патологических элементов мочи (переходный и почечный эпителий, патологические цилиндры, кристаллы) рекомендуется проведение исследования цитофлюориметрическим методом с последующей верификацией методом оптической микроскопии.

Ключевые слова: цитофлюориметрический метод исследования; элементы мочи; взаимосвязь показателей элементов мочи; оптический метод исследования.

Для цитирования: Черников А.В., Самоходская Л.М., Дзитиев В.К., Камалов А.А. Сравнительная характеристика методов проточной цитофлюориметрии и оптической микроскопии в количественном исследовании элементов мочи. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (4): 220-223. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-220-223>
Chernikov A.V., Samokhodskaya L.M., Dzitiev V.K., Kamalov A.A.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF METHODS OF FLOW CYTOFLUOROMETRY AND OPTICAL MICROSCOPY IN QUALITATIVE STUDY OF URINE ELEMENTS

The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The M.V. Lomonosov Moscow State University", the Separate Sub-Division Medical Scientific Educational Center, 119192, Moscow, Russia

The comparative study was carried out concerning methods of flow cytofluorometry and optical microscopy in analysis of urine elements with the purpose of establishing the necessity of verification by physician the results of clinical diagnostic laboratory obtained by the analyzer. The final data concerning comparison of results obtained by two methodologies for various groups of pathology. The participation of physician in validation of results can be avoided in the groups with normal and exceeding standard values of content of corpuscular elements of urine. In the subgroups with pathological elements of urine (transitional and renal epithelium, pathological cylinders, crystals) it is recommended to implement analysis using cytofluorometric technique with subsequent verification by optical microscopy.

Key words: cytofluorometric technique; elements of urine; indices of elements of urine; optical technique of analysis.

For citation: Chernikov A.V., Samokhodskaya L.M., Dzitiev V.K., Kamalov A.A. The comparative characteristic of methods of flow cytofluorometry and optical microscopy in qualitative study of urine elements. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63(4): 220-223. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-220-223>

For correspondence: Chernikov A.V., physician of clinical laboratory diagnostic of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The M.V. Lomonosov Moscow State University", the Separate Sub-Division Medical Scientific Educational Center, e-mail: chav23@mail.ru

Information about authors:

Chernikov A.V., orcid.org/0000-0001-9468-720X

Samokhodskaya L.M., <http://orcid.org/0000-0001-6734-3989>

Dzitiev V.K. <http://orcid.org/0000-0001-7558-589X>

Kamalov A.A., <http://orcid.org/0000-0003-4251-7545>

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Funding. The work was carried out within the framework of scientific research approbation (Contract No. 0076 / A / MiK / 08-16 of 10 August 2016).

Received 29.11.2017
Accepted 16.01.2018

Введение. Общепринятым стандартом обследования пациентов является выполнение клинического анализа мочи, который включает исследование физико-химических свойств

Для корреспонденции: Черников Антон Владимирович, врач клин. лаб. диагностики; e-mail: chav23@mail.ru

и количественного состава осадка мочи. Такой диагностический подход позволяет с высокой точностью диагностировать воспалительный процесс в мочевыводящих путях, оценить функцию почек и ряд метаболических нарушений различного характера. Традиционное исследование осадка мочи методом световой микроскопии имеет ряд существенных недочё-

тов: высокая погрешность, невозможность стандартизации, сниженное количество субстрата исследования вследствие разрушения клеток при центрифугировании [1, 2].

Устранение перечисленных недостатков стало возможно с появлением новых технологий, что позволило работать с образцами малого объема, избегать центрифугирования в пробоподготовке и выполнять количественный подсчет форменных элементов в стандартном объеме [3, 4].

Тем не менее использование новых технологий не избавляет врача клинико-диагностической лаборатории от необходимости в верификации неопределенных результатов с помощью световой микроскопии. Целью нашего исследования было определить необходимость пересмотра результатов с помощью оптической микроскопии, полученных на анализаторе SysmexUX-2000, для различных групп пациентов с различной патологией.

Материал и методы. В исследование последовательно были включены больные поликлинического и стационарного звена Медицинского научно-образовательного центра МГУ, всего участвовало 600 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет. Всем пациентам был выполнен общий анализ мочи, на основании результатов которого были сформированы группы: группа 1 – результаты количественного исследования состава мочи не выходят за пределы референсных интервалов (табл. 1); группа 2 – содержание форменных элементов превышает верхние пределы значений нормы; группа 3.1 – наличие в исследуемом материале патологических элементов, характерных для заболеваний, в патогенезе которых отсутствует поражение юкстагломерулярного аппарата (цистит, мочекаменная болезнь, кристаллурия) и группа 3.2 – в исследуемом материале присутствуют патологические элементы, характерные для заболеваний, в патогенезе которых ведущим звеном является поражение юкстагломерулярного аппарата (гипертоническая болезнь, сахарный диабет, гломерулонефрит) с последующим подтверждением принадлежности к группе на основании диагноза и дополнительной информации из медицинской карты пациента.

Исследования образцов выполнялись не позднее 4 ч с мо-

мента сбора мочи в одноразовую стерильную ёмкость. Полученный материал в лаборатории переносился в пластиковую пробирку без консервантов (Литопласт-Мед, Россия) [5].

Исследование элементов мочи выполняли методом проточной цитофлюориметрии на анализаторе SysmexUX-2000 (Sysmex Corporation, Япония). Аналитические способности анализатора позволяют дифференцировать до $65 \cdot 10^3$ частиц в 1 мкл мочи, что обеспечивает избыточную чувствительность при подсчете элементов в материале на единицу объема. Используемые технологии позволяют в 800 мкл материала дифференцировать и определять в единице объема количество таких элементов, как лейкоциты, эритроциты (с информацией об источнике их появления во вторичной моче), клеток плоского эпителия, цилиндров (с дифференцировкой на нормальные и патологические), бактерий, дрожжеподобных клеток, кристаллов, малых круглых клеток (переходный и почечный эпителий), слизи, сперматозоидов, а также проводимости мочи. Для корректного сравнения результатов, полученных различными методиками, они были приведены в одну систему исчисления (клеток/мкл), с помощью коэффициентов, предложенных производителем программного обеспечения Sysmex Corporation, Япония [3].

Количественный подсчет элементов мочевого осадка методом оптической микроскопии проводился по общепринятой методике: образец объемом 10 мл центрифугировали при 1500 оборотов/мин в течение 5 мин, отбирали надосадочную жидкость в количестве 9 мл, и в осадке объемом 1 мл ресуспендировали частицы и проводили подсчет в мочевом слайде при стандартном увеличении [2].

Статистический анализ. Статистическую обработку осуществляли с помощью программы Statistica 10.0 (TIBCO Software Inc, США). Для вычисления параметров рассчитывали среднее и стандартную ошибку среднего ($S \pm m$). Количественное сравнение зависимости выявления форменных элементов при разных методиках подсчета проводили с помощью расчета коэффициентов корреляции Пирсона (R), достоверными (значимыми) считались различия при $p < 0,05$. Значимость определялась методом Стьюдента с преобразова-

Таблица 1

Референсные интервалы элементов мочи

Методика исследования	Пол	WBC	RBC	EC	CAST	P.CAST	X'TAIL	SRC
Оптическая микроскопия, количество элементов в поле зрения [6]	М	0–5	0–3	0–5	0–2	-	-	-
	Ж	0–5	0–3	0–5	0–2	-	-	-
Проточная цитофлюориметрия, референсные значения, кл/мкл [7]	М	0–9,2	0–13,1	0–5,7	0–2,3	0–0,5	0–0,3	0–4,1
	Ж	0–39,0	0–30,7	0–45,2	0–2,4	0–0,7	0–0,3	0–6,0

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3, 4 WBC – лейкоциты, RBC – эритроциты, EC – клетки плоского эпителия, CAST – гиалиновые цилиндры, P.CAST – патологические цилиндры, X'TAIL – кристаллы, SRC – переходный и почечный эпителий.

Таблица 2

Показатели количественного исследования элементов мочи ($S \pm m$, кл/мкл), полученные с помощью разных методик подсчета

Группы и подгруппы	Методика исследования	WBC	RBC	EC	CAST
Группа 1, $n = 200$	Оптическая микроскопия	$7,4 \pm 0,3$	$13,6 \pm 2,6$	$9,0 \pm 0,6$	-
	Проточная цитофлюориметрия	$3,5 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,8$	-
Группа 2, $n = 200$	Оптическая микроскопия	$95,2 \pm 10,0$	$96,5 \pm 12,8$	$38,5 \pm 2,7$	-
	Проточная цитофлюориметрия	$132,1 \pm 10,5$	$70,1 \pm 5,1$	$20,9 \pm 2,0$	-
Группа 3.1, $n = 100$	Оптическая микроскопия	$81,5 \pm 7,1$	$80,1 \pm 5,2$	$27,1 \pm 1,8$	$21,0 \pm 1,4$
	Проточная цитофлюориметрия	$69,9 \pm 5,7$	$117,7 \pm 8,3$	$24,0 \pm 1,4$	$19,4 \pm 1,4$
Группа 3.2, $n = 100$	Оптическая микроскопия	$64,7 \pm 4,9$	$63,3 \pm 5,2$	$31,4 \pm 2,2$	$31,4 \pm 2,5$
	Проточная цитофлюориметрия	$40,5 \pm 3,2$	$83,0 \pm 6,3$	$19,9 \pm 1,7$	$19,0 \pm 1,2$

Корреляционная взаимосвязь количества элементов мочи в разных методиках исследования

Группа	Методика исследования	WBC	RBC	EC	CAST	P'CAST	X'TAIL
1, n = 200	Оптическая микроскопия	0,1	0,7*	0,6*			
	Проточная цитофлюориметрия						
2, n = 200	Оптическая микроскопия	0,8*	0,4*	0,8*			0,3
	Проточная цитофлюориметрия						
3.1, n = 100	Оптическая микроскопия	0,8*	0,7*	0,5*	0,7*	0,6	0,9*
	Проточная цитофлюориметрия						
3.2, n = 100	Оптическая микроскопия	0,7*	0,6*	0,8*	0,5	0,6	0,7
	Проточная цитофлюориметрия						

Примечание. * – статистически достоверная линейная взаимосвязь ($p < 0,05$).

нием Фишера. Статистически достоверные различия средних значений выявлялись U-методом Манна–Уитни и считались значимыми при $p < 0,05$ [8].

Результаты и обсуждение. Результаты настоящего исследования демонстрируют сопоставимые величины по количеству лейкоцитов, эритроцитов, клеток плоского эпителия, кристаллов и малых клеток, внутри групп сравнения (см. табл. 2).

Для подтверждения были рассчитаны ранговые коэффициенты корреляции (R) для количественного содержания лейкоцитов, эритроцитов, клеток плоского эпителия, гиалиновых цилиндров, патологических цилиндров, кристаллов и малых клеток внутри сравниваемых групп (см. табл. 3).

При анализе результатов, полученных в группе здоровых индивидов, установлена статистически достоверная связь высокой и средней силы между содержанием эритроцитов, клеток плоского эпителия. Выявилось отсутствие достоверной линейной взаимосвязи между содержанием лейкоцитов, что обусловлено потерей клеток на этапе центрифугирования, при идеальных условиях составляет до 10% [1]. Также полученный результат может быть связан с тем, что зависимость имеет не линейную природу и распределена по иному закону.

В группе 2 установлена корреляционная взаимосвязь высокой и средней силы между исследуемыми методиками подсчёта по количественному содержанию лейкоцитов, эритроцитов и клеток плоского эпителия. Такой результат свидетельствует о достаточной диагностической ценности результатов, полученных на анализаторе SysmexUX-2000.

Анализ результатов в группе 3 представлял большую сложность, так как материал не является однородным по своей структуре и свойствам. Однако данные образцы достаточно часто встречаются в практике работы врача КЛД. Поэтому данную группу разделили на отдельные подгруппы. В группе 3.1 была установлена взаимосвязь высокой и средней силы по таким показателям, как лейкоциты, эритроциты, клетки плоского эпителия, гиалиновые цилиндры, кристаллы, переходный и почечный эпителий. Сопоставимые результаты

получены и при исследовании в группе 3.2, за исключением значений количественного подсчёта гиалиновых цилиндров и кристаллов. Не удалось доказать линейную статистически достоверную корреляционную взаимосвязь между содержанием патологических цилиндров, этот факт, возможно, связан со сложностью морфологии этих элементов и соответственно затруднением идентификации при цитофлюориметрическом методе.

Также в этих подгруппах наблюдались достоверные различия средних значений такого показателя, как содержание патологических цилиндров, кристаллов, клеток переходного и почечного эпителия, полученные средние величины могут использоваться как пороговые значения для разделения пациентов по природе патологий почек на этапе скрининга (см. табл. 4) [9].

Выводы

1. В группе пациентов с нормальными показателями нет необходимости в контроле результатов, полученных цитофлюориметрическим методом.

2. В группе пациентов с повышенным содержанием форменных элементов результаты полностью согласуются в исследуемых методиках, соответственно не требуют участия врача в верификации результатов.

3. В группах пациентов с патологическими элементами в моче требуется выполнение исследования методами цитофлюориметрии и оптической микроскопии для получения наиболее достоверных данных.

Финансирование. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской апробации (договор №0076/А/МИК/08-16 от 10.08.2016).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Семкина Е.Л., Ходунова Т.В., Каманова Т.С. Оценка потерь лейкоцитов и эритроцитов в моче при центрифугировании с помощью метода проточной урочитометрии. *Справочник заведующего КДЛ*. 2015; 9: 25-7.
- Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник.* Меньшиков В.В., ред. Москва: Медицина; 1987.
- Станкевич Л. И. Опыт применения анализатора мочи UF-1000i Sysmex с технологией проточной цитофлюориметрии: быстрое получение результата, повышение клинической значимости анализа и существенный экономический эффект. *Медицинский алфавит*. 2014; 15 (231): 25-30.
- Morimoto N., Yanai H., Shukuya K., Hitoshi C., Kobayashi K., Matsuno K. Effects of midstream collection and the menstrual cycle on urine particles and dipstick urinalysis among healthy females. *Clin. Chem.* 2003; 49: 188-90.
- Coppens A., Speeckaert M., Delenghe J. The pre-analytical challenges of routine urinalysis. *Acta Clin. Belg.* 2010; 65:182-8.

Таблица 4

Пороговые значения ($S \pm m$, кл/мкл) для разделения пациентов по этиологии патологий почек.

Группа	Методика исследования	CAST	P'CAST
3.1, n = 100	Метод оптической микроскопии	19,4±1,4	4,6±0,4*
3.2, n = 100	Метод проточной цитофлюориметрии	19,0±1,2	24,7±2,7*

Примечание. * – статистически достоверные различия ($p < 0,05$).

6. Кишкун А.А. *Руководство по лабораторным методам диагностики*. М.: ГЕОТАР-Медиа; 2007.
7. Terajima S., Yokomizo H., Yagi A., Miura M., Amano C. Evaluation study for reference intervals of urine sediments using UF-1000i in medical check-up population. *Sysmex J Int*. 2009; 19: 82-6.
8. Елисеева И.И. *Статистика*. М.: Проспект; 2011.
9. Manoni F., Gessoni G., Alessio M.G. Gender's equality in evaluation of urine particles: Results of a multicenter study of the Italian Urinalysis Group. *Clin.Chim.Acta*. 2014; 427: 1-5.

REFERENCES

1. Semkina E.L., Chodunova T.V., Kamanova T.S. Evaluation of leukocyte and erythrocyte loss in urine during centrifugation using flow urocytometry. *Spravochnik zaveduyuschego KDL*, 2015; 9: 25-7. (In Russian)
2. *Laboratory methods of research in the clinic [Laboratornye issledovaniya v klinike]. Spravochnik*. Men'shikov V.V., ed. Moscow: Meditsina; 1987. (in Russian)
3. Stankevich L.I. Experience of using the urine analyzer UF-1000i Sysmex with the technology of flow cytofluorometry: rapid results, increased

- clinical significance of the analysis and a significant economic effect. *Meditsinskiy alfavit*. 2014; 15 (3): 25-30. (in Russian)
4. Morimoto N., Yanai H., Shukuya K., Hitoshi C., Kobayashi K., Matsunoi K. Effects of midstream collection and the menstrual cycle on urine particles and dipstick urinalysis among healthy females. *Clin. Chem*. 2003 ; 49: 188-90.
5. Coppens A., Speckaert M., Delenghe J. The pre-analytical challenges of routine urinalysis. *Acta Clin. Belg*. 2010; 65:182-8.
6. Kishkun A.A. *Handbook on laboratory methods of diagnostic [Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. (in Russian)
7. Terajima S., Yokomizo H., Yagi A., Miura M., Amano C. Evaluation study for reference intervals of urine sediments using UF-1000i in medical check-up population. *Sysmex J Int*. 2009; 19: 82-6.
8. Eliseeva I.I. *Statistics [Statistika]*. Moscow: Prospekt.;2011. (in Russian)
9. Manoni F., Gessoni G., Alessio M.G. Gender's equality in evaluation of urine particles: Results of a multicenter study of the Italian Urinalysis Group. *Clin. Chim.Acta* 2014; 427: 1-5.

Поступила 29.11.17
Принята к печати 16.01.18

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.31-02:613.83]-07:616.316-008.8

Евстратенко В.В.¹, Севбитов А.В.¹, Платонова В.В.¹, Селифанова Е.И.², Дорофеев А.Е.¹

ОСОБЕННОСТИ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ У ПАЦИЕНТОВ, УПОТРЕБЛЯЮЩИХ ГЕРОИН И МЕТАДОН

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Москва;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А.Насоновой» РАН, 115522, Москва

По данным многих источников у наркозависимых пациентов значительно возрастают частота и тяжесть различных заболеваний полости рта. Одним из наркотических препаратов, который во многих странах используется в качестве заместительной терапии, является метадон. Однако по последним данным литературы отрицательное воздействие метадона на организм человека в целом более выражено по сравнению с таковым героина. Так, значимость приобретают исследования, результаты которых свидетельствуют о патологических изменениях в органах и системах пациентов, в том числе и о воздействии на ротовую полость. В статье опубликованы результаты исследования кристаллографии биологических жидкостей наркозависимых пациентов, употребляющих героин и метадон. По данным анализа была выявлена зависимость характера роста кристаллов от вида употребляемого наркотика.

Ключевые слова: метадон; героин; наркозависимость; стоматологический статус; кристаллография.

Для цитирования: Евстратенко В.В., Севбитов А.В., Платонова В.В., Селифанова Е.И., Дорофеев А.Е. Особенности кристаллизации смешанной слюны у пациентов, употребляющих героин и метадон. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(4): 223-227. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-223-227>

Evstratenko V.V., Sevbitov A.V., Platonova V.V., Selifanova E.I., Dorofeev A.E.

THE CHARACTERISTICS OF CRYSTALLIZATION OF MIXED SALIVA IN PATIENTS USING HEROIN AND METHADONE

¹The Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "The I.M. Sechenov First Moscow State Medical University" of Minzdrav of Russia, 119991, Moscow, Russia

²The Federal State Budget Scientific Institution "The V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology" of the Russian Academy of Sciences, 115522, Moscow, Russia

According many publications, rate and severity of various diseases of oral cavity are significantly increasing in drug-dependent patients. One of drugs using in many countries as a substitution therapy is methadone. However, last research data testifies that negative effect of methadone on human organism in general is more expressed as compared with case of heroin. So, significance is acquired by those studies that testify pathological alterations in organs and systems of patients, including effect on oral cavity. The article presents the results of analysis if crystallography of biological fluids of drug-dependent patients using heroin and methadone. Te study established dependence of character of growth of crystals from type of used drug.

Key words: methadone; heroin; drug-dependence; stomatological status; crystallography.

Для корреспонденции: Евстратенко Виктория Викторовна, соискатель учёной степени канд. мед. наук каф. пропедевтики стоматологических заболеваний; e-mail: evstr77@mail.ru