

ОБЩЕКЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.63-074

Волкова И.А.¹, Талан А.Е.², Бучнева Е.А.², Щербо С.Н.¹

ПОДСЧЕТ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ МОЧИ ПРИ ПОМОЩИ АВТОМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА IRIS IQ 200 TM

¹ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва; ²ООО «Клиника ЛМС», Москва

Объем мочи в большом поле анализатора Iris IQ 200 TM был определен по стандарту стабилизированных эритроцитов и составил 0,18 мкл. Количество форменных элементов анализатором в этом объеме соответствует количеству форменных элементов при микроскопии осадка концентрированной в 10 раз мочи, при толщине препарата 0,1 мм, под микроскопом с объективом ×40 и окуляром 10/18. Подсчет форменных элементов анализатором в 1 мкл мочи является наиболее объективным и удобным методом для количественной оценки форменных элементов мочи.

Ключевые слова: *форменные элементы; моча.*

Volkova I.A., Talan A.E., Buchneva E.A., Scherbo S.N.

THE COUNT OF URINE CORPUSCLES USING AUTOMATED ANALYZER IRIS IQ 200 TM

The volume of urine of high power field of analyzer Iris IQ 200 TM was identified according standard of stabilizing erythrocytes and amounted up to 0.18 mkl. The amount of urine corpuscles detected by analyzer in this volume corresponds to amount of urine corpuscles under microscopy of sediment of ten times concentrated urine at thickness of preparation in 0.1 mm, under microscope with objective x40 and ocular 10/18. The count of corpuscles by analyzer in 1 mkl of urine is the most objective and convenient technique for quantitative evaluation of urine corpuscles.

Key words: *corpuscles; urine*

Общий анализ мочи (ОАМ) является обязательным исследованием практически при всех видах заболеваний, но особенно актуален при заболеваниях почек и мочевыводящих путей. ОАМ традиционно включает ориентировочную полуколичественную оценку форменных элементов осадка мочи в поле зрения микроскопа при большом увеличении (объектив ×40) [1]. Количество форменных элементов в поле зрения микроскопа при ОАМ зависит от объема капли мочи, помещенной на предметное стекло, площади покровного стекла, степени концентрирования мочи, которые при микроскопии осадка в ОАМ не измеряются и в конечном результате не учитываются, а также величины поля зрения микроскопа, которое определяется характеристиками объектива и окуляра. Для уточнения количества элементов осадка мочи традиционно используется метод количественного подсчета форменных элементов по Нечипоренко [2], который проводится в камере Горяева или слайд-планшетах со стандартной толщиной препарата 0,1 мм, в определенном объеме мочи и при известной степени концентрирования форменных элементов.

В последние годы лаборатории все чаще оснащаются автоматическими анализаторами мочи, в частности анализаторами Iris IQ 200 TM, которые дифференцируют различные форменные элементы и автоматически проводят их подсчет. Появление автоматических анализаторов мочи, с одной стороны, ускорило и упростило процесс подсчета форменных элементов, с другой стороны, вызвало ряд вопросов в связи с неоднозначной оценкой результатов, в частности, при сопоставлении традиционного и

автоматизированного анализа. Анализатор мочи производит подсчет форменных элементов в 1 мкл мочи, и в полях высокого увеличения (далее в большом поле) и низкого увеличения. В настоящее время одни пользователи оценивают результаты подсчета в 1 мкл, а другие в большом поле, однако соответствие большого поля анализатора полю зрения микроскопа не установлено.

Целью настоящей работы является установление соответствия большого поля мочевого анализатора Iris IQ 200 полю зрения микроскопа при микроскопии осадка мочи. В задачи исследования входило определение объема мочи, соответствующее большому полю анализатора, и сравнение объемов мочи в большом поле анализатора и при микроскопии образцов с известной толщиной препарата и степенью концентрирования.

Материалы и методы. Для решения поставленных задач были использованы автоматический анализатор мочи Iris IQ 200 TM, калибратор, содержащий стабилизированные эритроциты, микроскоп Olympus BX 43 (объектив ×40, окуляр ×10/22).

Для определения объема мочи в большом поле анализатора было проведено 10-кратное измерение клеток калибратора в 1 мкл и в большом поле анализатора (табл. 1).

Расчет объема образца в большом поле анализатора по количеству клеток показал, что большое поле соответствует 0,18 мкл (уравнение линейной аппроксимации $y = 0,1799$ при $R^2 = 0,09967$).

Расчет объема мочи в поле зрения микроскопа на предметном стекле невозможен, так как толщина препарата колеблется в широких пределах и зависит как от объема и вязкости капли мочи, помещенной на предметное стекло, так и размеров покровного стекла. Объем мочи в поле зрения микроскопа, и, соответственно, количество форменных элементов, соответствующих объему, могут быть определены только для тех образцов, для которых стандартизирована толщина препарата. Условие соблюдается для камеры Горяева

Для корреспонденции:

Волкова Ирина Александровна, канд. мед. наук, доц. каф. клин. лаб. диагностики

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

E-mail: iavolkova@yandex.ru

Таблица 1

Подсчет клеток калибратора в анализаторе мочи

Образец №	Количество клеток калибратора	
	в 1 мкл	в большом поле
1	1231	222
2	1195	215
3	1183	213
4	1156	208
5	1146	206
6	1180	212
7	1172	211
8	1175	211
9	1195	215
10	1162	209
	$X_{cp} = 1176,9 \pm 7,6$	$X_{cp} = 212,2 \pm 1,4$

ва и слайд-планшетов, имеющих толщину препарата 0,1 мм. На основании характеристик объектива, окуляра [3] и толщины препарата был рассчитан объем мочи в одном поле зрения микроскопа Olympus BX 43 (объектив $\times 40$, окуляр 10/22), который составил 0,027 мкл.

Таким образом, объем образца в большом поле анализатора мочи Iris IQ 200 ТМ соответствует 0,18 мкл, а в поле зрения микроскопа Olympus BX43 (объектив $\times 40$, окуляр 10/22) 0,027 мкл.

Результаты и обсуждение. В соответствии с полученными данными объем образца в большом поле анализатора Iris IQ 200 ТМ в 6,7 раза больше, чем в поле зрения микроскопа Olympus BX 43 (объектив $\times 40$, окуляр 10/22). Указанное соотношение справедливо только для микроскопов, имеющих аналогичные характеристики. Объем биологического материала в поле зрения микроскопа зависит от величины линейного поля зрения в пространстве изображений (далее – линейного поля). Линейное поле определяется диаметром круга (мм) в плоскости предмета, изображение которого заполняет диафрагму поля зрения микроскопа. Так, маркировка окуляра Olympus 10/22 обозначает, что увеличение в 10 раз, а линейное поле 22 мм.

Объем образца в поле зрения микроскопа, равный 0,027 мкл при толщине препарата 0,1 мм, справедлив для окуляра с линейным полем 22 мм. При использовании микроскопа с другим линейным полем объем образца в поле зрения изменится (табл. 2), так как площадь поля зрения зависит от характеристик объектива и окуляра. Площадь поля зрения микроскопа в мм² можно рассчитать на основании характеристик объектива и окуляра [3], а объем образца – путем умножения площади на толщину препарата.

Из табл. 2 видно, что объем образца в поле зрения микроскопа существенно зависит от линейного поля окуляра: чем больше линейное поле, тем больше объем образца в поле зрения микроскопа при одинаковом увеличении и стандартной толщине препарата. Анализатор считает форменные элементы в нативной, неконцентрированной моче, а микроскопия осадка мочи проводится после концентрирования элементов мочи методом центрифугирования. При микроскопии концентрированной мочи и соблюдении условия стандартной толщины препарата (0,1 мм) объем нативной мочи, в которой производился подсчет форменных элементов, увеличивается в соответствии со степенью концентрирования. Объем нативной мочи в поле зрения микроскопа может быть рассчитан путем умножения объема концентрированной мочи в поле зрения микроскопа на степень концентрирования. Так, при концентрировании мочи в 10 раз объем нативной мочи также увеличится в 10 раз и составит 0,12 мкл для узкопольного, 0,17 мкл для стандартного

Таблица 2

Зависимость объема образца в поле зрения микроскопа от линейного поля окуляра (толщина препарата 0,1 мм, степень увеличения 400 – окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$)

Тип окуляра	Линейное поле, мм	Объем образца в поле зрения, мкл	K
Узкопольный	15	0,012	15
Стандартный	18	0,017	10,6
Широкопольный	22	0,027	6,7

Примечание. K – отношение объема образца в большом поле анализатора (0,18 мкл) к объему образца в поле зрения микроскопа.

и 0,27 мкл для широкопольного микроскопа. Объем мочи в большом поле анализатора, как указывалось ранее, соответствует 0,18 мкл.

Таким образом, количество форменных элементов в большом поле анализатора близко количеству форменных элементов в поле зрения микроскопа, только для микроскопа с линейным полем окуляра 18 мм при концентрировании мочи в 10 раз, толщине препарата 0,1 мм, окуляре $\times 10$ и объективе $\times 40$. При другом значении линейного поля количество форменных элементов в поле зрения микроскопа увеличится или уменьшится в соответствии с объемом образца мочи.

Объем мочи в большом поле анализатора не указывается в инструкции к прибору и может отличаться в анализаторах разных производителей. Для одного и того же анализатора объем остается постоянным и может использоваться как объективный и воспроизводимый метод оценки количества форменных элементов мочи. Определение соответствия количества форменных элементов в не стандартизованных препаратах мочи на предметном стекле и результатами анализатора мочи невозможно. Традиционная микроскопия осадка в общем анализе мочи может рассматриваться как скрининговый метод, предназначенный в большей степени для выявления форменных элементов мочи, чем для подсчета их количества. Подсчет форменных элементов анализатором мочи в 1 мкл нативной мочи является количественным методом, универсальным для всех анализаторов. Подсчет и идентификация анализатором форменных элементов мочи снижает статистическую погрешность за счет увеличения количества объектов идентификации. Возможные сомнения в дифференцировке анализатором форменных элементов могут быть исправлены оператором на экране монитора.

Таким образом, анализатор мочи Iris IQ 200 ТМ позволяет идентифицировать и определять количество форменных элементов в 1 мкл нативной мочи без дополнительных манипуляций по концентрированию мочи и без использования других лабораторных тестов. Оценка количества форменных элементов в 1 мкл мочи методом планарной цитометрии в современных анализаторах может быть рекомендована в качестве основного метода подсчета и идентификации форменных элементов мочи. Количество форменных элементов в большом поле анализатора Iris IQ 200 ТМ может расцениваться как показатель, сравнимый с количеством элементов в поле зрения микроскопа только в моче, подготовленной к микроскопии в стандартных условиях. Условия включают концентрирование мочи в 10 раз, толщину препарата 0,1 мм, объектив $\times 40$ и окуляр 10/18, где 18 – линейное поле окуляра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меньшиков В.В., Пименова Л.М., Сухачева Н.И., Волкова И.А., Миронова И.И., Зубрихина Г.Н. Стандартизованная технология клинического лабораторного анализа мочи. Анализ мочи общий. В кн.: *Стандартизация аналитических технологий лабораторной медицины. вып. 1.* М.; 2012: 68–108.

2. Меньшиков В.В., Пименова Л.М., Волкова И.А., Миронова И.И., Зубрихина Г.Н. Стандартизованная аналитическая технология клинического лабораторного анализа мочи: определение количества форменных элементов в моче. В кн.: Стандартизация аналитических технологий лабораторной медицины. вып. 1. М.; 2012: 109-28.
3. Заказнов Н.П. и др. *Теория оптических систем. Учебник для студентов приборостроительных специальностей вузов.* М.: Машиностроение; 1992.

laboratory analysis of urine. Urine analysis. In: "Standardization of analytical technologies of laboratory medicine". Vol. 1, Moscow; Labora. 2012: 68–108. (in Russian)

2. Menshikov V.V., Pimenova L.M., Volkova I.A., Mironova I.I., Zubrichina G.N. Standardised analytical technology clinical laboratory urine analysis: definition of cell counts in urine. In: «Standardization of analytical technologies of laboratory medicine». Vol. 1, Moscow; Labora. 2012: 109-28. (in Russian)
3. Zakaznov N.P. et al. *Theory of optical systems. Tutorial for students of the instrument-making professions high schools.* Moscow: Mashinostroenie; 1992. (in Russian)

Поступила 11.02.14

Received 11.02.14

REFERENCES

1. Menshikov V.V., Pimenova L.M., Suhacheva N.I., Volkova I.A., Mironova I.I., Zubrichina G.N. Standardized technology clinical

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.42-006.441-092:612.017.1-078.33

Назарова Е.Л., Шардаков В.И., Демьянова В.Т., Загоскина Т.П., Зотина Е.Н.

ДИАГНОСТИКА ДЕФЕКТОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ В-КЛЕТОЧНЫХ ОПУХОЛЯХ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

ФГБУН "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства", 610027, г. Киров

Генетические особенности становятся ключевыми факторами риска развития многих новообразований у человека, включая В-клеточные опухоли лимфатической системы. Изучена связь полиморфных вариантов генов FCGR2A (His166Arg), CD14 (C-159T), IL1β(T-31C), IL2 (T-330G) и TLR2 (Arg753Gln) с развитием различных форм В-клеточных опухолей лимфатической системы у 80 пациентов. Выявлены статистически значимые отличия в частоте отдельных генотипов однонуклеотидных полиморфизмов генов FCGR2A, CD14, IL1β, IL2 и TLR2 у больных с индолентными и агрессивными типами течения неходжкинских лимфом, а также множественной миеломы. Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что генетические варианты генов врожденного иммунного ответа влияют на происхождение и характер течения различных типов лимфопролиферативных заболеваний и маркеры могут стать дополнительными прогностическими характеристиками доброкачественного и агрессивного течения опухолей.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы; множественная миелома; полиморфизм генов; цитокины; толл-подобные рецепторы.

E.L. Nazarova, V.I. Shardakov, V.T. Demyanova, T.P. Zagoskina, E.N. Zotina

THE DIAGNOSTIC OF DEFECTS OF INBORN IMMUNITY UNDER B-CELL TUMORS OF LYMPHATIC SYSTEM

The genetic characteristics are key risk factors of development of many human neoplasms including B-cell tumors of lymphatic system. The relationship between polymorphic variants of genes FCGR2A (His 166Agr), CD14 (C-159T), IL1β (T-31C), IL2 (T-330G) and TLR2 (Arg753Gln) and development of various forms of B-cell tumors of lymphatic system in 80 patients was investigated. The statistically significant differences of rates of particular genotypes of single nucleotid polymorphisms of genes FCGR2A, CD14, IL1β, IL2 and TLR2 in patients with indolent and aggressive types of course of non-Hodgkin lymphoma and also multiple myeloma. The results prove hypothesis that genetic variants of genes of inborn immune response effect the origin and character of course of different types of lymphoproliferative diseases. The markers can become additional prognostic characteristics of benign and aggressive course of tumors.

Key words: non-Hodgkin lymphoma; multiple myeloma; polymorphism of gene; cytokine; toll-similar receptors

Для корреспонденции:

Назарова Елена Львовна, науч. сотр.

Адрес: 610027, Киров, ул. Красноармейская, 72

E-mail: nazarova.yelena@mail.ru