

**ЭВОЛЮЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ МОЧИ В  
СОВРЕМЕННЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ.  
ОТ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО  
ЭТАПА СЕГОДНЯ – К ИННОВАЦИОННЫМ  
СКРИНИНГОВЫМ ТЕХНОЛОГИЯМ ЗАВТРА.**



Авторы доклада зав. КДЛ О.В.Синицына, врач КЛД М.В.Илюшкина  
Московская городская онкологическая больница № 62, 2014год

# Рак мочевого пузыря(РМП)

- В мире: более 200 000 новых случаев ежегодно
- В РФ :
  - Заболеваемость 9,34 на 100 000 («грубый» показатель)
  - 13260 новых случаев
  - умерло 6933 больных
  - прирост за последние 10 лет-14.85 %

В структуре онкологической заболеваемости в РФ:

- ✓ -4-ое место у мужчин, 10-ое место у женщин
- ✓ -мужчины/женщины= 3/1

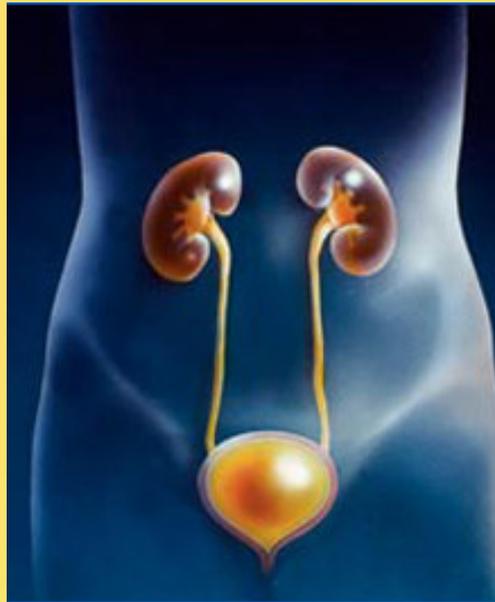
# Методы диагностики рака мочевого пузыря:

- абдоминальное и трансуретральное УЗ-сканирование
- цистоскопия
- рентгеновские исследования (экскреторные урография и радиоизотопные методы)
- КТ с контрастированием

**Желательно** :цитологическое исследование осадка мочи

# Цель исследования

Улучшить результаты ранней диагностики первичного поверхностного уротелиального рака и его рецидива.



# Задачи

- 1. Предложить к использованию стандарты преаналитического этапа, разработанные на базе КДЛ МГОб №62, основываясь на опыте международных организаций по стандартизации.
- 2. Сравнить возможности систем для сбора, хранения и транспортировки образцов разных производителей.
- 3. Снизить число ошибок на преаналитическом этапе за счет стандартизации метода
- 4. Оценить эффективность применения автоматических анализаторов для повышения воспроизводимости и правильности исследования.

# Научная новизна

Впервые **неинвазивная**  
иммунноцитохимическая  
методика определения p16ink4a  
в моче применена и апробирована  
на базе КДЛ МГОб №62

# 1 этап

## Получение образцов мочи – одно из самых важных исследований в клинической диагностике



Анализ мочи - самое часто назначаемое исследование:

- 1 млрд. тестов в России ежегодно
- Количество тестов растет на 10% каждый год

Анализ мочи- важное исследование при постановке диагноза ряда заболеваний, таких как:

- Сахарный диабет
- Заболевания почек и системы МПС
- Скрыто протекающих хронических заболеваний
- Является неотъемлимой частью перед любыми хирургическими вмешательствами
- Скрининговое исследование при диспансеризации
- Скрининговое исследование при диагностики беременности

1. BD internal data

2. William Check, PhD, Urinalysis Finally Catches Up. CAP TODAY, September 2002

3. Kelly J. Graham; Automation and Point-of-care testing continue to offer quality improvements.

# Преаналитический этап

- Более 57,3% процентов всех возможных ошибок (Gruder et al,2001)
- Форма бланка-заявки
- Подготовка пациента
- Условия и техника взятия биологического материала
- Маркировка пробирок, контейнеров и т.д.
- Транспортировка и хранение

# Несмотря на тот факт, что стандарты выполнения исследований мочи существуют...



- For specimens not analyzed within **2 hours of collection**, preserve the urine specimen using refrigeration (2 °C to 8 °C), or a specifically designed chemical preservative.
- For Microbiological Exam, when specimen cannot be processed immediately, refrigerate specimen at 2 °C to 8 °C for up to 24 hours, or preserve specimen in a tube containing **bacteriostatic preservative**
- The specimen should be submitted for microbiological studies **before** urinalysis
- If refrigerated, **bring the specimen back to room temperature** before proceeding with the analysis
- Laboratories should **ensure specimen integrity** during transport (e.g., pneumatic tube systems)
- CLSI does not encourage nor endorse cutting testing strips, as patient results may not be accurate due to technical reasons.



## **Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology**

- All specimens should be processed by the laboratory **within 2 hours of collection**, or be kept refrigerated at 4°C until delivery to the laboratory and processed no longer than 18 hours after collection
- If more than two species of bacteria are present in the urine samples..., report as “Probably contaminated; please submit a fresh, clean-catch specimen”.

## **Guidelines on Standard Operating Procedures for Microbiology**

- If immediate processing is not possible, refrigerate the sample at 4 °C, up to a maximum of 48 hours.
- Specimen transport and storage should be done in sterile leak-proof containers.



## **CAP Check List**

- GEN.40108: Are instructions provided for **proper collection** of timed urine specimens?
- GEN.40116: Are documented instructions provided for **proper preservation and storage** of urine when specimens are collected for special tests?
- GEN.40125: For specimens sent to reference laboratories, does the referring laboratory properly follow all **requisition, collection and handling specifications** of the reference laboratory?

# Готового единого стандарта В России по проведению преаналитической фазы **нет\***

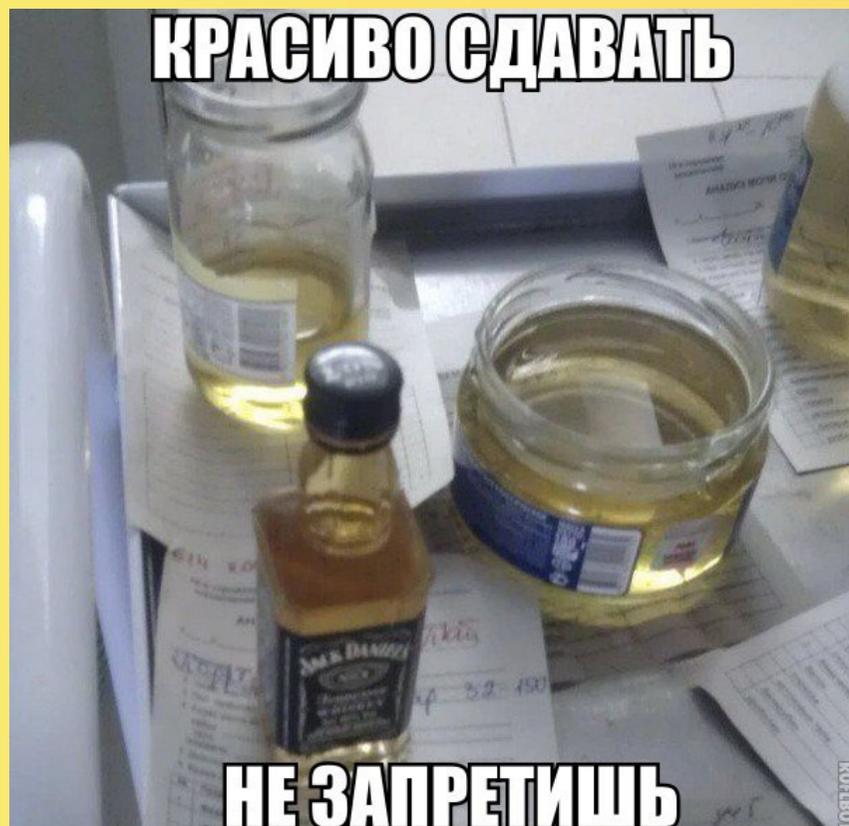
- Различие в специфике ЛПУ делает необходимым разработать и утвердить собственный стандарт проведения всех этапов лабораторных исследований придерживаясь международных и отечественных рекомендаций.

\*А.В.Мошкин, В.В.Долгов Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике, М.2004

# Инструкция по забору мочи

Мужчины	Женщины
Вымойте руки с мылом	Вымойте руки с мылом
Отведите назад крайнюю плоть и выпустите небольшое количество мочи. Приостановите мочеиспускание.	Пальцами одной руки разведите половые губы и удерживайте их. Вымойте область наружных половых органов, последовательно ватными шариками, смоченных в мыльном растворе. Промойте намыленный участок теплой кипяченой водой. Каждым шариком необходимо провести по направлению от лобка к заднему проходу только один раз, стараясь проникать во все складки.
Удерживая крайнюю плоть в отведенном положении, направьте струю мочи в контейнер и наполните его до указанного уровня (около 50 мл).	Удерживая половые губы разведенными, выпустите немного мочи, приостановите мочеиспускание, а затем, подставив под струю мочи контейнер, наполните его до указанного уровня (около 50 мл).
Тщательно закройте контейнер крышкой и немедленно передайте в лабораторию. При невозможности быстрой (в течение 30 мин) доставки мочи в лабораторию, поместите ее в холодильник при температуре 4°C и передайте в лабораторию не позднее 24 ч с момента забора.	Тщательно закройте контейнер крышкой и немедленно передайте в лабораторию. При невозможности быстрой (в течение 30 мин) доставки мочи в лабораторию, поместите её в холодильник при температуре 4°C и передайте в лабораторию не позднее 24 ч с момента забора.

# Примеры сбора мочи



# Транспортировка и хранение

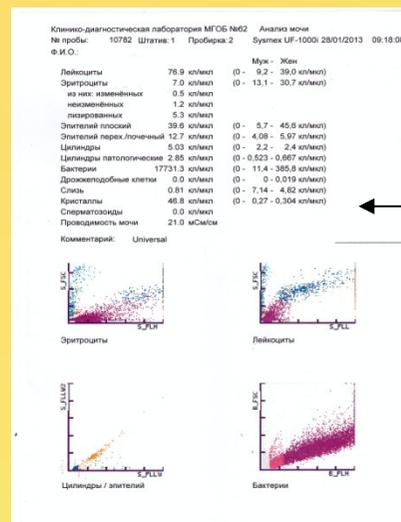
- 90 минут с момента взятия материала нативная моча для микроскопии
- Температура 20-25С, избегать воздействия прямого солнечного света
- Герметичность контейнера – отсутствие контаминации



ARUP Laboratories, 2002

# Опыт МГОБ №62

- Стерильные банки с возможностью отбора образца без вскрытия
- Одноразовые пробирки с вакуумом
- Штрих-кодирование
- Высоко технологичные автоматические анализаторы
- ЛИС



# Широкие возможности для сбора материала

- На российском рынке представлены контейнеры и пробирки компаний:
- **Greiner и Sarstedt**
- Консервант может убивать некоторые штаммы бактерий (*E. Coli*) и может содержать ртуть. Борная кислота в пробирках для проведения микробиологических исследований также может влиять на качество микробиологических исследований.
- **BD Vacutainer®**
- Отсутствие ртути в составе консервантов. Реагент, в составе которого присутствует борная кислота, формиат натрия и борат натрия не влияет на качество микробиологических тестов



# Системы консервации мочи

## Пробирки для общего анализа мочи BD Vacutainer®

- Консервант содержит 0.4% Хлоргексидина, 5.6% Этилпарабена и 94% Пропионата натрия.
- Обеспечивают сохранность пробы в течении 72 часов

## Пробирки для микробиологического анализа мочи BD Vacutainer®

- Консервант содержит 2,3 мг/мл борной кислоты, 1,65 мг/мл формиата натрия, 2,08 мг/мл бората натрия.
- Обеспечивают сохранность пробы в течении 48 ч

## Результаты исследования транспортных систем

**В рамках эксперимента были исследованы 30 проб мочи. Стабильность образцов сравнивалась по основным критериям: количество лейкоцитов, эритроцитов, эпителия и бактерий.**  
**В 100% случаев все параметры в образцах были устойчивы в течении 72 часов.**

Основные показатели	Количество проб
Все показатели без изменений (Л, Эр, бак, Эп)	10
Рост бактерий	17
Рост бактерий и лейкоцитов	1
Рост бактерий и снижение лейкоцитов	1
Повышение эритроцитов (распад)	1

# Маркировка образцов

- Возможность заготовить заранее этикетку у врача при назначении анализа
- Обязательно проверить правильность написания данных на бланке и контейнере с мочой



## 2 этап Аналитический этап

- Подготовка образца (перемешивание, согревание до комн. температуры, центрифугирование)
- Штрих-кодирование и регистрация
- Анализ: сух. химия, микроскопия (визуализация, цитометрия...)



# Автоматический анализатор UF 1000i



Определяемые параметры:

12 аналитических параметров,  
9 исследовательских параметров

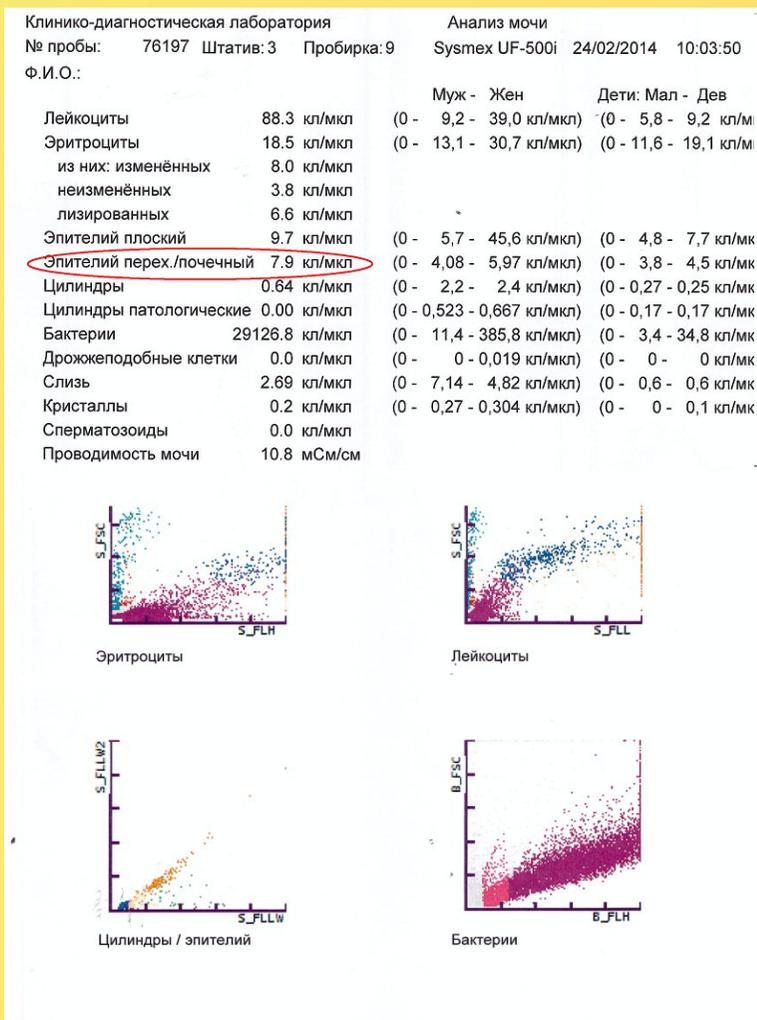
В результате анализа подсчитываются и  
идентифицируются следующие клетки:

- эритроциты (RBC),
- лейкоциты (WBC),
- эпителий (EC),
- цилиндры (CAST )
- бактерии (BACT).

В дополнение к этим главным параметрам,  
анализатор **UF-1000i** определяет объем  
других присутствующих элементов:

- цилиндры патологические (Path. Cast )
- кристаллов (X'TAL),
- малых круглых клеток (SRC),
- сперматозоидов (SPERM)
- дрожжеподобных клеток (YLC),
- слизь (MUCUS).

# Оценка результатов

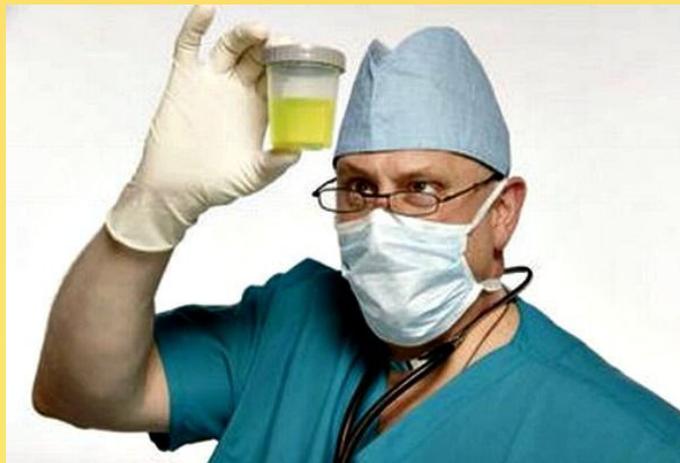


- ❖ Бланк на русском языке с различием норм у женщин и мужчин.
- ❖ Комментарий под бланком поможет в обнаружение и контроле инфекций мочевых путей (UTI) и анализе морфологии эритроцитов(RBC)
- ❖ Числовые результаты передаются в систему ЛИС и выдаются на бланке.
- ❖ Графические результаты (4 графика) разноцветные или одноцветные могут быть распечатаны на принтере. Они также показываются в цвете на мониторе компьютера **UF-1000i** для повышения достоверности данных.

# 3 этап Постаналитический этап

## Интерпретация результатов с ВОЗМОЖНОСТЬЮ дообследования!

- Определение достоверности, сопоставление результата с референсными интервалами и с предыдущими результатами пациента
- Дальнейшее исследование (иммуноцитохимия, иммунохемилюминисценция, расширенный биохимический анализ и т.д.)
- Консервирование и хранение (банк клеток, с возможностью хранения до 3 месяцев)



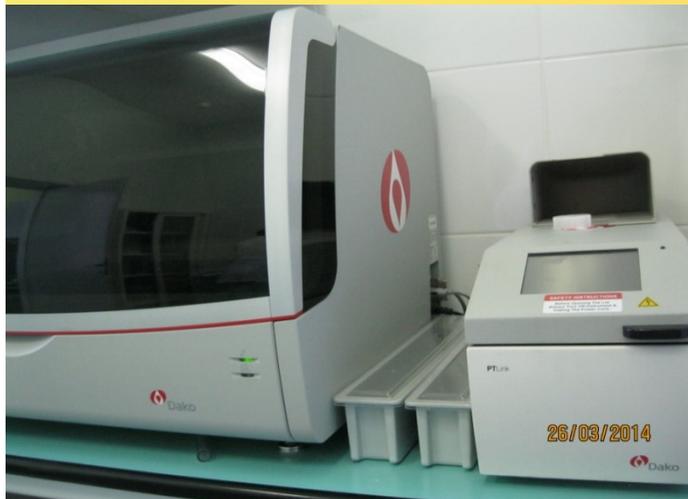
Среди обследованных 42 пациентов ,  
мужчин- 26, женщин-16,  
возраст пациентов от 38 лет до 85 лет.

- 1. Исследование проводилось при подозрении на наличие первичной опухоли или рецидива РМП, на основании жалоб больных, анамнестических данных, результатов лучевых методов исследования, анализа осадков мочи с наличием малых круглых клеток.
- 2. В плановом порядке через 4-6 недель после ТУР мочевого пузыря по поводу рака.
- 3. С наличием рецидива или подозрением на рецидив РМП.
- **Диспансерное наблюдение** после ТУР согласно стандартам лечения и обследования онкологических больных.

# Алгоритм приготовления образца



Клинико-диагностическая лаборатория		Анализ мочи	
№ пробы:	76197	Штатив:	3
Пробирка:	9	System UF-500i	24/02/2014 10:03:50
Ф.И.О.:			
		Муж - Жен	Дети: Мал - Дев
Лейкоциты	88.3 кп/млп	(0 - 9,2 - 39,0 кп/млп)	(0 - 5,8 - 9,2 кп/млп)
Эритроциты	18.5 кп/млп	(0 - 13,1 - 30,7 кп/млп)	(0 - 11,6 - 19,1 кп/млп)
из них: изменённых	8,0 кп/млп		
неизменённых	3,8 кп/млп		
лизированных	6,6 кп/млп		
Эпителий плоский	9,7 кп/млп	(0 - 5,7 - 45,6 кп/млп)	(0 - 4,8 - 7,7 кп/млп)
<b>Эпителий перех.почечный</b>	<b>7,9 кп/млп</b>	(0 - 4,08 - 5,97 кп/млп)	(0 - 3,8 - 4,5 кп/млп)
Цилиндры	0,64 кп/млп	(0 - 2,2 - 2,4 кп/млп)	(0 - 0,27 - 0,25 кп/млп)
Цилиндры патологические	0,00 кп/млп	(0 - 0,523 - 0,667 кп/млп)	(0 - 0,17 - 0,17 кп/млп)
Бактерии	29126,8 кп/млп	(0 - 11,4 - 385,8 кп/млп)	(0 - 3,4 - 34,8 кп/млп)
Дрожжеподобные клетки	0,0 кп/млп	(0 - 0 - 0,019 кп/млп)	(0 - 0 - 0 кп/млп)
Слизь	2,69 кп/млп	(0 - 7,14 - 4,82 кп/млп)	(0 - 0,6 - 0,6 кп/млп)
Кристаллы	0,2 кп/млп	(0 - 0,27 - 0,304 кп/млп)	(0 - 0 - 0,1 кп/млп)
Сперматозоиды	0,0 кп/млп		
Проводимость мочи	10,8 мСм/см		



# Выводы

1. Предложенные стандарты преаналитического этапа, разработанные на базе КДЛ МГОБ 62, сопоставимы с международными и могут быть рекомендованы к применению в лечебно-профилактических учреждениях.
2. Стандартизация метода позволяет добиться снижения числа ошибок на преаналитическом этапе (13-28%) по сравнению с 57,3% процентов всех возможных ошибок (Gruder et al,2001)
3. Системы для сбора, хранения и транспортировки образцов мочи разных производителей, отвечающих требованиям Международных стандартов могут быть предложены к обязательному использованию в ЛПУ для улучшения качества исследований.
4. Апробированная на базе нашего лечебного учреждения система для сбора, хранения и транспортировки образцов мочи производства BD Vacutainer обеспечивает сохранность образцов не менее 72 часов, что позволяет доставлять материал из регионов для углубленного исследования патологических анализов без потери качества образца.
5. Использование анализатора Sysmex UF 1000i существенно повышает воспроизводимость и правильность исследования ( специфичность 94%) за счет метода проточной цитометрии и может использоваться в скрининговых программах по ранней диагностике поверхностного рака мочевого пузыря.
6. Методика иммуноцитохимического определения p16ink4a апробирована и может быть использована как для ранней диагностики РМП так и для контроля излеченности, выявления рецидивов .
7. Данная методика определения p16ink4a и CYFRA21-1 эффективнее традиционного цитологического метода в первичной диагностики РМП, но требует дальнейшего изучения...

# Перспективы

- ❖ Применение P16/СК20 двойной метки иммуноокрашивания в цитопатологии мочи
- ❖ Определение CYFRA 21/1 в моче методом иммунохемилюминисценции
- ❖ Определение TPA и TPS (мониторинг карциномы МП мышечноинвазивной формы)

Мы всегда готовы протянуть вам  
руку помощи



Спасибо за внимание

