

# Otomatik İdrar Analizörleri: Mikroskopik Bakı

## *Automated Urine Analysers: Microscopic Examination*

Kağan Huysal\*

Yasemin Üstündağ\*\*

\* Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Bursa, Türkiye

\*\* Şevket Yılmaz Eğitim Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Bursa, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 18 Mayıs 2015

**Kabul Tarihi:** ,02 Eylül 2015

### ÖZET

İdrar analizi hastane laboratuvarlarındaki istemlerin içinde oldukça büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Artan iş yükünü hafifletme, hızlı ve günlük sonuç verme gibi hedeflerin karşılanabilmesi için günümüzde, idrarda bulunan hücre ve partiküllerinin incelenmesi için dışarıda santrifüj edilmemiş idrar örneklerini üreticiler tarafından farklı yöntemlerle çalışan otomatik idrar analizörleri geliştirilmiştir. Bu derlemede, özellikle idrar mikroskobisi için otomatik idrar analizi ölçüm yöntemlerine ilişkin bilgiler özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** idrar tahlili; mikroskopi.

### ABSTRACT

Urinalysis is one of the most requested tests performed in hospital laboratories. Recently, to ease the increased work load, to be able report daily and in a short time automated urinalysis instruments that can examine urine for cells and particles in unspun urine samples have been introduced by different manufacturers. In this review, information regarding automated urinalysis measurement methods for urine microscopy are summarized.

**Key words:** Urine; urinalysis; microscopy.

İdrar analizi örneğin verilme kolaylığının yanı sıra, genel metabolizma, böbrek ve/veya üriner sistem hastalıklarının tanı ve tedavisi için son derece yararlı bilgiler sunmaktadır (1,2). Bu nedenle rutin uygulamalarda sıklıkla istenmekte ve tanı laboratuvarlarındaki istemlerin çoğunluğunu oluşturmaktadır (2, 3). Tam idrar analizi idrarın fiziksel incelenmesi, kimyasal incelenmesi (pH, kan, glukoz, lökosit esteraz (LE), keton, bilirubin, urobili-

nojen, protein) ve mikroskopik incelenmesi (RBC, WBC, bakteri, epitel hücresi, kristal ve silendir) olmak üzere 3 ana bölümde gerçekleştirilir (1, 2, 3).

Kimyasal inceleme içinde yer alan parametreler için genellikle idrar reaktif stripleri kullanılır ve bu stripler standardize edilmiştir. Strip üzerinde meydana gelen renk değişiklikleri reflektans fotometre yöntemi ile ölçülmektedir (1,2,3). Günümüzde, rutin idrar

analizlerinin zaman alıcı ve emek yoğun kısmı olan mikroskobik inceleme için tam otomatik idrar analizörleri geliştirilmiştir (1,2,3). Üreticiler otomatik strip okuyucu ile mikroskobik analizörleri birleştirerek idrar analizinin tek bir tüpten yapılabilmesini sağlamışlardır.

İdrarın mikroskobik incelemesi santrifüjün hızı ve süresi, tüpte kalan idrar miktarı, boya kullanımı, analizi yapan kişinin deneyimi, eğitimi gibi bir dizi faktörden etkilenmektedir (3). Bu etkilerin asgariye indirilmesi ve mikroskobik analiz standardizasyonu için tam otomatik idrar analizörlerinin (TOİA) kurulması Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (NCCLS-ABD) ve Avrupa Laboratuvar Tıbbı Konfederasyonu (European Urinalysis Guidelines-EU) gibi bir çok uluslararası kuruluş tarafından tavsiye edilmektedir (2-6). Santrifüj edilmiş idrar örneğinin gözle incelenmesi zaman alıcıdır. Ayrıca santrifüj sırasında yapılabilecek hatalardan ve mikroskobik analizi yapan kişinin tecrübesine bağlı olarak da sonuçlar etkilenebilmektedir (7). TOİA uygulaması, zaman ve iş gücü tasarrufu sağlar ve iş yoğunluğu fazla olan laboratuvarlar için daha uygundur. Tam otomatik idrar analizörleri özellikle hasta sayısının yüksek olduğu büyük hastanelerin laboratuvarlarında kullanılmaktadır (7). Bir çok üretici tarafından farklı yöntemlerle çalışan TOİA'leri geliştirilmiştir (7). Bu cihazlar laboratuvar bilgi sistemi (LİS)'e bağlanarak hastane otomasyonu ile tam entegrasyon sağlayıp hızlı ve doğru sonuç aktarımına katkıda bulunmaktadırlar.

Farklı üreticilerin mikroskobik incelemede kullandığı sistemler farklı teknolojileri kullanmakla beraber yorumlama sırasında tenkisenler arasındaki değişkenliği ortadan kaldıracak standardizasyon sağlanmıştır. Örneklerin bekleme süresi azaldığından hücre parçalanması, mikrobiyal kirlenme ya da hücrelerin çökme olasılığı azalır. Buna bağlı olarak sonuçların kalitesi yükselir ve mikroskobik incelemelerin tekrarlanabilirliğini artırır.

Piyasalarda temel olarak üç farklı yöntem kullanan otomatik idrar sediment analiz sistemi mevcuttur (8). Bu yöntemler floresan akış sitometrisi (FAS), dijital görüntüleme ile

otomatik parçacık tanımlama ve otomatik mikroskopi ile dijital görüntüleme olarak sınıflandırılabilir. Floresan akış sitometrisi basit bir şekilde akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir (9). Sistem, hidrodinamik olarak yönlendirilen ve bir parçadan geçirilen floresan boya ile işaretlenmiş idrar şekilli elemanların tanımlamakta ve sayımını yapabilmektedir. Analitik kanallar, örneklerdeki nükleik asit içeren partikülleri spesifik polimerilen yapısındaki floresans boyalarla boyar. Her partikülden yayılan ışık iki farklı pozisyonda (öne ve yana saçılan ışık) ölçülürken beraberinde floresans şiddeti de ölçülerek elektrik sinyaline çevrilir. İleri saçılım partiküllerin boyutu hakkında fikir verirken yana saçılım yüzey ve iç yapı hakkında bilgi verir. Floresans şiddeti ise her partikülün nükleik asit içeriğini tanımlamaktadır (10). Örnek, akış hücresine her partikülün lazer akımından tek tek geçeceği ve boyutuna göre dizilebileceği şekilde hizalandırılır. Üç farklı sinyal değerlendirilerek raporlanır. Bu bilgiler birleştirilerek şekilli elemanlar sınıflandırılır. Cihaz her partikül için kesin sayı verir. Sysmex bu teknolojiye sahip UF serisi TOİA'lerini 1998 yılından beri üretmektedir. Firma benzer teknolojiyi kan sayım cihazlarında da kullanmaktadır. Eski modelleri UF 100i, UF100, UF-50 iken daha yeni modeli UF 1000i'dir. UF1000i cihazında vücut sıvıları analizi için ek bir modül vardır (10). Bu modül ile vücut sıvılarında lökosit ve eritrosit ölçülebilmekle birlikte maya ve bakteri hücrelerinin lökositlerde yalancı pozitifliğe yol açtığı görülmüştür (11,12). UX-2000 ise Sysmex'in kimyasal analiz ve flow sitometrenin entegre edildiği modelidir (13).

İdrarda patolojik örneklerin, silendir, kristaller, maya, sperm, mukus ve anormal hücrelerin duyarlılığı iyi olmakla birlikte, özgünlüğü düşük olduğu için FAS ile elde edilen TOİA sonuçlarının manuel mikroskobu ile teyit edilmesi gerekebilmektedir (7, 8, 13).

Santrifüjlenmemiş idrarda bulunan tüm şekilli elemanların FAS teknolojisinde olduğu gibi büyüklüklerine ve dış yapılarına göre değil de, otomatik partikül tanımlama (yapay zeka- auto-particle recognition =APR) teknolojisi kullanılarak gerçek mikroskobik görün-

tülerine göre analiz edilmesi dijital görüntüleme ile otomatik parçacık tanımlama olarak tanımlanmaktadır. Örnekteki partiküller düzensel bir akış hücrelerinde görüntülenebilir ve partiküller hidrodinamik olarak olarak mikroskop objektifinde sınırlanır (14). Elementlerin dijital görüntülerinde numune başına yaklaşık 500 görüntü elde edilir ve APR yazılım teknolojisi ile idrar partikülleri doku, kontrast, şekil ve boyuna göre ayrılarak sınıflandırılır. Eritrosit, lökosit, lökosit kümesi, yassı epitel, yassı olmayan epitel, bakteri, genel kristal, hyalin slendir, genel slendir, maya, sperm, mukus olmak üzere 12 ana partikül sınıfına ve ilaveten bunları da 26 alt gruba ayırabilmektedir (14, 15).

Bu sınıflandırma daha sonra operatör tarafından görüntülenebilir. Ancak numune boyanmadığından bileşenlerin görünümünü, faz kontrast mikroskobu ile teknisyen tarafından görülenden farklıdır (14). Kullanıcı tarafından tanımlanmış ayarlar örneklerin yazılım tarafından değerlendirilebilirken aynı zamanda kullanıcıya da gerekli ise düzensel ve tekrar sınıflandırma olanağı sağlar. Bu teknoloji Iris iQ200 (Iris Diagnostics, Chatsworth, CA) cihazlarında kullanılmaktadır. IQ200 serisi saatlik test sayısına göre IQ Sprint™ (101 test/saat), IQ Elite™ (70 test/saat) ve IQ Select™ (40 test/saat) olarak tasarlanmıştır.

Iris Diagnostics iQ200 TOİA ile vücut sıvılarındaki partikülleri eritrosit ve çekirdekli hücreler olmak üzere ikiye ayıran yazılım modülü geliştirilmiştir (16).

Otomatik mikroskopi ile dijital görüntüleme teknolojisinde örnekler, özel olarak tasarlanmış küvetin tabanında cihaz tarafından sediment oluşturmak üzere santrifüjlenir. Sediment ışık mikroskobunda dijital kamera tarafından yakalanarak; kullanıcı tarafından seçilebilen sayıda dijital görüntü çeker. İdrar partiküllerini sınıflandırmak ve raporlamak amacı ile dijital görüntüleme ve otomatik partikül tanımlama yazılımı bu çekilen görüntüleri kullanılır. Sistem aynı zamanda kullanıcı tarafından düzeltilme ve yorumlama imkanı sağlamaktadır. Cihaz manuel incelemelerde kullanılan mikroskobu kullanmakta ve görüntüyü 400 kez büyütmektedir (17). Bu teknolojiyi UriSed (77

Electronica, Budapest, Hungary) cihazı kullanılmaktadır ve bazı ülkelerde sediMAX adı ile pazarlanmaktadır (18).

Partikül görüntüleri büyüklüğüne dayalı 15 gruba ayrılır ve görüntü işleme yazılımı kullanılarak analiz edilir. Manuel mikroskopi ile karşılaştırıldığında cihaz eritrositler ve lökositleri (>% 80 duyarlılık) saptamada iyi bir performans göstermekle birlikte, patolojik silenderleri ve skuamöz olmayan epitel hücreleri (~% 50 duyarlılık) tanımlamada başarılı değildir (18-22).

FUS-100 (Dirui Industrial Co. Ltd., China) yatay akımlı dijital görüntü tabanlı otomatik parçacık tanıma sistemidir. FUS-100 santrifüjlenmemiş idrarı kullanarak dijital görüntüleme ile her örnekten toplamda 820 fotoğrafı inceleyerek analiz eder ve idrar sediment örneklerini sınıflandırarak kantitatif olarak raporlar (23). Cihaz 0.95 mL idrar aspire ederek hidrodinamik odaklama ve ortostatik parçacık yönlendirme teknolojisi ile CCD (charged coupling device) video kamera önünde tek bir tabaka oluşturur. Dijital kamera saniyede 40 flaş oluşturan ışık kaynağı tarafından aydınlatılan her örnekten 820 çerçeve yakalar. Yapay zeka ile tanımlama yazılımı tüm görüntülenebilecek bileşenleri ve parçacık görüntülerini yakalar ve tüm görüntüdeki partikülleri yapı, kontrast, doku ve frekansa göre ayırır (23).

Günümüzde istenen, TOİA ile yapılacak hızlı incelemede cihazın duyarlılığının (sensitivite) yüksek olmasıdır (24). Ancak tüm gelişmelerine rağmen bu cihazlarda bazı partiküllerin tanımlanması için örneğin dismorfik eritrositler, mayalar, *trikomona vaginalis*, oval yağ cisimleri, spermatozoa, silendir ve bazı kristaller gibi eğitimli kullanıcılara ihtiyaç vardır (15, 18- 23). Otomatik idrar analizörleri mikroskopi, lökosit, eritrosit ve bakteri sınıflandırmada doğru kestirim noktaları kullanıldığı takdirde kabul edilebilir bir duyarlılığa ulaşarak negatif numunelerin ayırt edilmesini kolaylaştırır (25-29). Ancak literatürde hala tam otomatik idrar analizörleri için ideal tanısal karar noktaları belli değildir (25-29).

Literatürde yapılan birçok çalışmada manuel mikroskobik incelemeler ile TOİA sonuçları

karşılaştırılmış ve otomatik yöntemlerin hatasız olmadığı bulunmuştur. TOİA sonuçlarının strip analizi ve diğer laboratuvar testleri ile karşılaştırılarak gerekiyorsa manuel inceleme yapılmasının klinik olarak önemli hata yapılmasını engelleyeceği öngörülmüştür (3, 8, 15, 18, 19, 20, 21, 22). Bu yüzden günlük pratikte otomatize idrar cihazlarında idrar ölçümlerinin doğruluğunun artırılması ve manuel mikroskopi yapılacak örnek sayısının azaltılması için idrarın kimyasal analizi ile otomatik mikroskopi sonuçları arasında karşılaştırma yapılmalı ve uyumsuz örnekler manuel mikroskopi ile yeniden incelenmelidir.

Otomatik sediment analizi cihazları iş akışının standardizasyonunda çok faydalı olmasına ve rutin klinik laboratuvarında numunelerin manuel incelenmesi ihtiyacını azaltmasına rağmen henüz arzu edilen performansı yakalayamamıştır. Ancak, gelişen teknolojiye bağlı olarak yeni donanım ve yazılımlar umut vericidir.

#### KAYNAKLAR

1. Memişoğulları R, Ak YH, Orhan N, Yavuz Ö. Böbrek Biyopsisi Kadar Bilgi Veren Tetkik: Rutin İdrar Analizi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2008;3:77-84.
2. Perazella MA. The urine sediment as a biomarker of kidney disease. Am J Kidney Dis 2015;(2):272.
3. Akgün A, Sağır F, Alataş Ö, Çolak Ö. İdrarın Mikroskopik İncelenmesi: Otomatik analizör ve manuel sonuçların karşılaştırılması. T Klin Tıp Bilimleri 2000;20(3):154-9.
4. European urinalysis guidelines. Summary. Scand J Clin Lab Invest 2000;60(Suppl 231):1-96.
5. 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;297:305-11.
6. Aspevall O, Hallander H, Gantand V, Kouri T. European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. Clin Microbiol Infect 2001;(7)4: 175-8.
7. McPherson, Richard A; Ben-Ezra, Jonathan. Basic Examination of Urine. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 2011pp. 445-79.
8. Budak YU, Huysal K. Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. Clin Lab. 2011;57(1-2):47-52.
9. Taneli F. Flow<sup>®</sup> Sitometri Tekniği ve Klinik Laboratuvarlarda Kullanımı. Türk Klinik Biyokimya Derg 2007;5(2):75-82.
10. Ben-Ezra J Bork L, McPherson RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. Clin Chem 1998;44(1):92-5.
11. Fleming C, Brouwer R, van Alphen A. UF1000i validation of the body fluid mode for counting cells in body fluids. Clin Chem Lab Med. 2014; 52 (12):1781-90.
12. Özcan O, Bitiğiç M, Yücel D. Urisys 2400/Sysmex UF 100 ile Yapılan İdrar Analizlerinde Olası Hata Kaynaklarının Araştırılması. Turk J Biochem 2010; 35(3):230-5.
13. Khejonnit V, Pratumvinit B, Reesukumal K, Meepanya S, Pattanavin C, Wongkrajang P. Optimal criteria for microscopic review of urinalysis following use of automated urine analyzer. Clin Chim Acta. 2015;15:439:1-4.
14. Linko S, Kouri TT, Toivonen E, Ranta PH, Chapoulaud E, Lalla M. Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. Clin Chim Acta 2006;372(1-2):54-64.
15. Noyan T, Gözlükaya Ö, Ayyıldız SN, Çetinkol Y, Çakır FÖ, Çankaya S. Are All Small Particles Parameters in the iQ200 Auto Particle Recognition Software Have Any Benefit on Reduce the Urine Culture Number? Journal of Chemistry and Biochemistry 2014; 2: 169-77.
16. Butch AW, Wisen PK, Wah DT, Gornet TG, Fritsche AH. A Multicenter Evaluation of the Iris iQ200 Automated Urine Microscopy Analyzer Body Fluids Module and Comparison With Hemacytometer Cell Counts. Am J Clin Pathol 2008;(129):445-50.
17. Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G, Croci MD, Bayer G, Kráncz T. Urine sediment analysis: Analytical and diagnostic performance of sediMAX – a new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clin Chim Acta 2010; 411(3-4): 147-54.
18. Aydın OJ, Ellidag Eren Yılmaz High false positives and false negatives in yeast parameter in an automated urine sediment analyzer. Med Biochem 34: 1-5, 2015
19. Akin OK, SerdarMA, Cizmeci Z, Genc O, Aydın S. Comparison of LabUMat-with-UriSed and iQ200 fully automatic urine sediment analysers with manual urine analysis. Biotechnol Appl Biochem 2009; 53:139-44.
20. Huysal K, Budak YU, Karaca AU, Aydos M, Kahvecioğlu S, Bulut M, Polat M. Diagnostic accuracy of UriSed automated urine microscopic sediment analyzer and dipstick parameters in predicting urine culture test results Biochem Med . 2013;23(2):211-7.
21. Karakukcu C, Kayman T, Oztürk A., Torun Y.A. Analytic Performance of Bacteriuria and Leukocyturia Obtained by UriSed in Culture Positive Urinary Tract Infections. Clin. Lab. 2012;58:107-11.
21. Sterry-Blunt RE, Randall K, Doughton M, Aliyu S, Enoch D. Screening urine samples for the absence of urinary tract infection using the SediMax automated microscopy analyser. J Med Microbiol 2015;8.

22. Yüksel H, Kılıç E, Ekinci A, Evliyaoğlu O. Comparison of Fully Automated Urine Sediment Analyzers H800-FUS100 and Labumat-Urişed with Manual Microscopy. *J Clin Lab Anal.*2013;27:312-16.
  23. Shaikh SA Measures Derived from a 2 x 2 Table for an Accuracy of a Diagnostic Test. *j Biomet Biostat* 2011;2:128
  24. Akin OK, Serdar MA, Cizmeci Z, Genc O. Evaluation of specimens in which the urine sediment analysis was conducted by full-automatic systems and a manual method together with urine culture results. *African Journal of Microbiology Research* 2011; 5(15), 2145-49.
  25. D Kayalp, K Dogan, G Ceylan, M Senes, D Yucel . Can routine automated urinalysis reduce culture requests? *Clin Biochem* 2013;46:1285-89.
  26. Kocer D, Sarıgüzel FM, Karakukcu C. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine sediment analyzer FUS200 in culture-positive urinary-tract infections *Scan J Clin Lab Invest* 2014 74(5) 414-7
  27. Altekin E, Kadişesme O, Akan P, Kume T, Vupa O, Ergor G, Abacıoğlu H. New generation IQ-200 automated urine microscopy analyzer compared with KOVA cell chamber. *J Clin Lab Anal* 2010; 24:67-71.
  28. Koken T, Aktepe OC, Serteser M, Samli M, Kahraman A, Dogan N. Determination of cut-off values for leucocytes and bacteria for urine flow cytometer (UF-100) in urinary tract infections. *Int Urol Nephrol.* 2002;34(2):175-8.
  29. Manoni F, Gessoni G, Caleffi A, Alessio MG, Rosso R, Menozzi et al. Pediatric reference values for urine particle quantification by using automated flow cytometer; results of a multicenter study of Italian urinalysis group. *Clin Biochem* 2013;46(18)1820-4.
- 
- Yazışma adresi:**  
Kağan HUYSAL, Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Bursa  
E-mail: khuysal@yahoo.com
-

