

MANUEL YÖNTEM İLE İDRAR SEDİMENT ANALİZİNİN OTOMATİK İDRAR ANALİZÖRÜ İLE KIYASLANMASI

THE COMPARISON OF SEDIMENT COUNT BY MICROSCOPY AND BY AUTOMATED URINARY ANALYSER

Tülay KÖKEN, Mustafa SERTESER, Ahmet KAHRAMAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Afyon

ÖZET: UF-100 analizörü eritrosit, lökosit, skuamöz ve transitional epitelial hücreleri, renal tubuler hücreleri, bakteri, hiyalen ve inklizyonel silendirleri, maya hücrelerini, kristalleri ve spermatozoaları argon lazer flow cytometry tekniği kullanarak ayırt eder. Biz bu çalışmada yaptığımız mikroskopik idrar sediment analizi ile UF-100'ün sonuçlarını karşılaştırdık. Karşılaştırmanın sonucunda lineer bir korelasyon saptandı. Eritrosit için korelasyon katsayısı $r = 0.88$ iken lökosit için $r = 0.91$, epitel hücresi için ise $r = 0.85$ bulundu. Kristaller incelendiğinde ise duyarlılık %71.4, özgüllük %88.8 bulundu. Sonuç olarak UF-100 analizörü mikroskopiye incelenmesi gereken numune sayısını azaltarak, idrar analizi sonuçlarının çıkışını hızlandırıp iş akışına kolaylık getirebilir.

[Anahtar Kelimeler: İdrar Sedimenti, Mikroskopi, Otomatik İdrar Sediment Analizörü]

ABSTRACT: The UF-100 analyser identifies erythrocyte, leukocyte, squamous epithelial cells, transitional epithelial and renal tubuler cell, bacteria, hyaline and inclusional casts, yeast-like cells, crystals and spermatozoa, by using argon laser flow cytometry technique. In this study we compared UF-100 analyser with visual microscopy for sediment counts. Comparison of results obtained by visual microscopy and by the UF-100 analyser showed a linear correlation with $r = 0.88$ for erythrocyte, $r = 0.91$ for leukocytes and $r = 0.85$ for epithelial cells. The analyser detected crystals with a sensitivity of 71.4 % and a specificity of 88.8 %. In conclusion, the UF-100 analyser can improve the work flow, increasing the output of urinalysis by reducing the number of specimens submitted for microscopy.

[Key words: Urinary sediment, Microscopy, Automated Urinary Sediment Analyser]

GİRİŞ

İdrar sedimentinin mikroskopik incelemesi, idrar analizinin önemli bir parçasıdır. Çok yakın bir zamana kadar biyokimya laboratuvarlarında tamamen manuel yapılan tek test olarak kalmıştır. İdrar sedimentinin NCCLS (National Committee for Clinical and Laboratory Standards) tarafından belirlenen standart prosedürü olmasına rağmen (1), santrifüjün devri ve süresi, dekant işlemi, çalışılan idrar miktarı, lamel ebatları gibi

mekanik ve hücre sayım gibi kişisel etkiler laboratuvarlar arası farklılıklara yol açmaktadır(2). İdrar sediment analizinin standardizasyonu uzun zamanlar klinik biyokimya laboratuvarlarının sorunu olarak kalmıştır. Halen de standardizasyon sorunu devam etmektedir. Standardizasyonun yanı sıra kapasitesi yüksek laboratuvarlarda manuel işlemin zaman alması da otomatize sistemlerin laboratuvarlara girmesine neden olmuştur.

Biz bu çalışmamızda idrar sedimentinin değerlendirilmesinde otomatize bir sistem olan

UF-100 (Sysmex Corporation, Japan) ile manuel yöntemi karşılaştırdık.

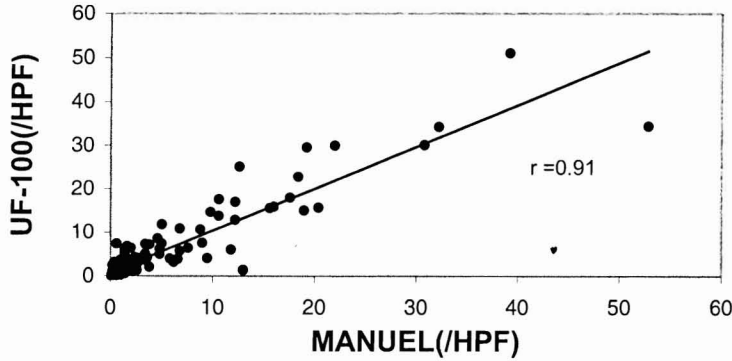
MATERYAL VE METOD

Manuel prosedür: Çalışmaya biyokimya laboratuvarına gelen 150 idrar numunesi alındı. İdrar santrifüj tüplerine 10 ml. numune alınıp 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Dekant işlemi tüp dibinde 0.5 ml. kalacak şekilde yapıldı. Sediment 22x22 mm'lik lamel kullanılarak aynı kişi tarafından mikroskopta (x400) değerlendirildi. Mikroskopta 5 saha değerlendirilip ortalaması alındı. Sonuçlar /HPF (high power field) olarak verildi.

Aynı numuneler UF-100 sisteminde de çalışıldı. Sistem 0,8 ml. idrar numunesi ile çalışmaktadır. Numune, istenen ozmotik basıncın sağlanması için dilüent tamponu ile 4 kat dilüe edilmektedir. Dilüent, K₃ EDTA (tripotasyum etilen diamin tetra asetik asit) içermekte olup amorf fosfatlarla şelat oluşumunu sağlar. Numuneler sistemde 37 °C ye getirilerek amorf üratların erimesi sağlandıktan sonra carbocyanine ve

phenanthridine ile boyanarak flow cell'e girer. Burada flow cytometer, hücrenin büyüklüğü ile orantılı olarak karşı tarafa geçen lazer ışınlarını ve yayılan flouresansı ölçer. Karşı bölgeye saçılımın şiddeti hücrenin büyüklüğünü yansıtırken, ışına atımlarının genişliği de hücrenin uzunluğunu yansıtmaktadır. Ölçülen fluoresansın şiddeti, boyanan membranöz proteinlerin ve nükleer DNA ve RNA miktarını yansıtırken, fluoresans atımların genişliği de hücrenin boyanan kısmının uzunluğunu yansıtmaktadır. Sistem, hücrelerin farklı boyutlara sahip olmaları ve farklı fluoresan boya tutma özelliklerine dayanarak lökosit, eritrosit, skuamöz ve transitional epitelial hücreleri, renal tubuler hücreleri, bakteri, mantar, silendir, spermatozoa ve kristal yapıları ayırt edebilmektedir.

Çalışmanın istatistiksel analizi Pearson'ın korelasyon testi ile yapıldı.



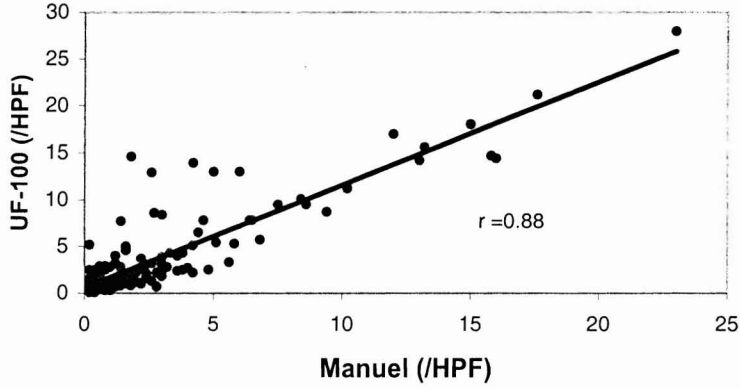
Şekil 1: Lökosit sayımının her iki yöntem arasındaki korelasyonu

BULGULAR

Manuel yöntem ile UF-100 sonuçları karşılaştırıldığında korelasyon katsayısı lökosit için $r = 0.91$ (Şekil I),

eritrosit için $r = 0.88$ (Şekil II), epitelial hücre için $r = 0.85$ (Şekil III) bulundu.

Kristal yapıların varlığı değerlendirildiğinde ise duyarlılık ≈ 71.4 , özgüllük ≈ 88.8 bulundu.



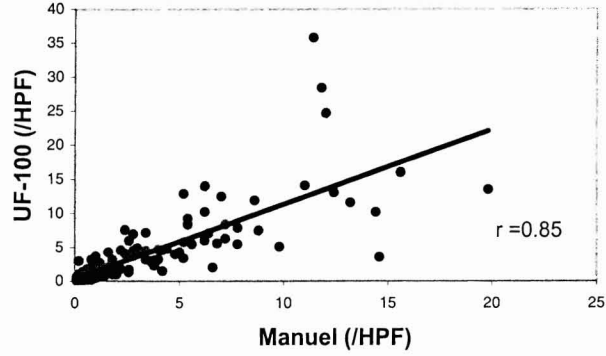
Şekil 2: Eritrosit sayımının her iki yöntem arasındaki korelasyonu

TARTIŞMA

Laboratuvarlarda standardizasyonu sağlama çabası ve artan iş yüküne hızlı cevap verme isteği otomatize sistemlerin kullanılabilirliğini arttırmıştır. Otomatize idrar sediment analizi yapan sistemlerde bu sebeplerden dolayı hızla kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan biri olan UF-100 ile manuel yöntemi karşılaştırdığımızda lökosit, eritrosit ve epitelial hücre sayımı için kabul edilebilir korelasyon katsayıları (sırası ile $r=0.91$, $r=0.88$, $r=0.85$) bulunmuştur. Fenill ve arkadaşları da benzer sonuçlar bulmakla birlikte (sırası ile $r=0.93$, $r=0.83$, $r=0.88$) flow cytometry ile tekrarlanabilirliğin ve linearitenin manuel mikroskopiden anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermişlerdir (3). Delanghe ve arkadaşları da çalışmalarında manuel yöntemi hem strip yöntemi hem de flow cytometry ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmalarında flow cytometry ile manuel yöntem arasındaki korelasyonu daha yüksek bulmuşlardır (4). Yasui ve arkadaşları ise flow cytometry ile yaptıkları çalışmalarında duyarlılık ile özgüllüğü %60'ın üzerinde bulmuşlar ve özgüllüğün (%) duyarlılıktan (%)daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (5).

Manuel yöntemin kristal yapıların varlığını göstermesini değerlendirdiğimizde ise duyarlılık %71.4 özgüllük % 88.8 bulunmuştur. Yalancı negatif sonuçlara oldukça az rastlanmıştır. Bu da teşhiste kullanılacak testler için arzu edilen bir sonuçtur. Yalancı pozitif sonuçlar ise nispeten daha fazlaydı. Bu da miktarı az olan kristal yapıların mikroskopta görülmesinin daha zor olmasından kaynaklanabilir. UF-100 sistemi kristallerin varlığını göstermesine rağmen kristallerin cinsini ayırtedememektedir.

İdrar analizörleri laboratuvarlarda bazı kolaylıklar sağlamaktadır; santrifüj yapmayı ve lam-lamel arası preparat hazırlamayı gerektirmediğinden iş yükü fazla laboratuvarlarda zamandan tasarruf sağlamakta, kullandığı miktarın az olması da özellikle çocuk hastalardan alınan az miktardaki idrarın daha sağlıklı olarak değerlendirilmesine imkan sağlamakta, sediment analizini kişisel ve mekanik etkilerden uzaklaştırarak standardizasyonu ve tekrarlanabilirliği sağlamakta, klinik anlamlılığı olan idrarları normal idrarlardan ayırt edilmesine yardımcı olarak mikroskopta incelenecek numune sayısını azaltmaktadır.



Şekil 3: Epitel hücre sayımının her iki yöntem arasındaki korelasyonu

KAYNAKLAR

1. NCCLS. Urinalysis and collection, transportation and preservation of urine specimens; approved guideline, NCCLS document GP 16-A (ISBN 1-56238). NCCLS, 771 East Lancaster Avenue, Villanova, Pennsylvania 19085 USA, 1995.
2. Gadeholt H. Quantitative estimation of urinary sediment with special regard to sources of error. Br Med J 1547-9, 1964.
3. Fenill D, Pirovano B. The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100TM). Clin Chem Lab Med. 36(12):909-917, 1998.
4. Delanghe J R, Kouri T T, Huber A R et al. The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice. Clin Chim Acta. 301:1-18, 2000.

5. Yasui Y, Tatsumi N, Park K. Urinary sediment analyzed by flow cytometry. Cytometry 22:75-79, 1995.

Yazarlar:

T. KÖKEN: Yrd. Doç. Dr. Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Ve Uygulama Hastanesi, AFYON

M. SERTESER: Yrd. Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Ve Uygulama Hastanesi, AFYON

A. KAHRAMAN: Yrd. Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Ve Uygulama Hastanesi, AFYON

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Tülay KÖKEN, Afyon Kocatepe Üniversitesi Ahmet Necdet Sezer Uygulama Ve Araştırma Hastanesi Biyokimya A.B.D., AFYON

Tel: 0 (272) 217 17 53

Fax: 0 (272) 217 20 29