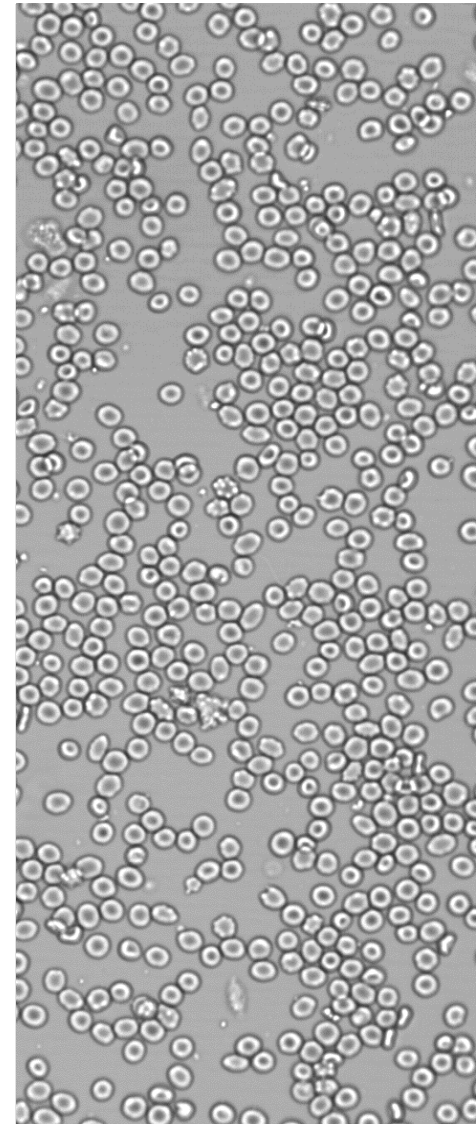


# CAT

## Automatische versus manuele microscopie van urine

ASO Helena Claerhout  
Promotor: Dr. J. Billen

11 maart 2014



CAT  
Automatische  
versus manuele  
microscopie van  
urine

- Inleiding
- Vraagstelling / appraisal
  - 1. Welke indicaties zijn er voor het uitvoeren van een microscopisch onderzoek van urine?
  - 2. Hoe betrouwbaar is manueel microscopisch onderzoek?
  - 3. Is automatische urinemicroscopie een volwaardig alternatief voor manuele microscopie?
  - 4. Is de combinatie van teststrookscreening en automatische urinemicroscopie nuttig?
- Besluit
- To do/action

# Inleiding

- Urine analyse
- Microscopisch onderzoek
- Variabiliteit
- Automatisatie



# Welke indicaties zijn er voor het uitvoeren van een microscopisch onderzoek van urine?

CAT  
Automatische versus  
manuele microscopie  
van urine

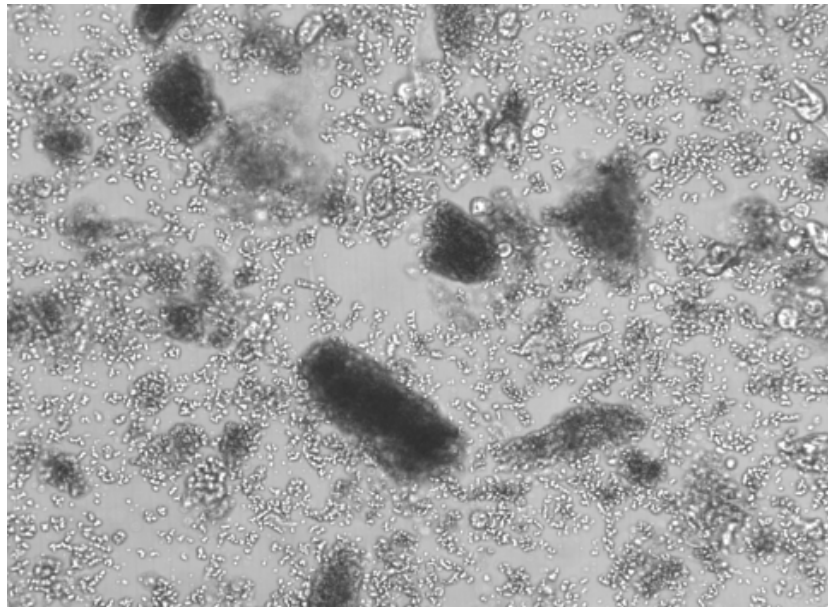


Welke indicaties zijn er voor het uitvoeren van een microscopisch onderzoek van urine?

- Algemeen
- Ziektebeelden
  - Acut nierfalen
  - Nefrotisch syndroom
  - Urineweginfecties
  - Glomerulonefritis
  - Diabetische nefropathie
  - Medicatie toxiciteit

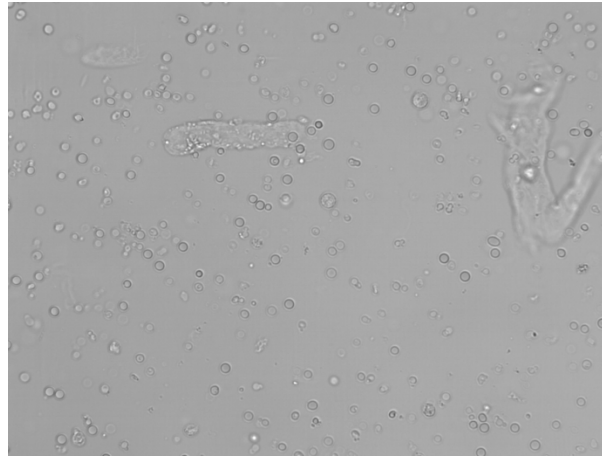
## Ziektebeelden

- Acuut nierfalen

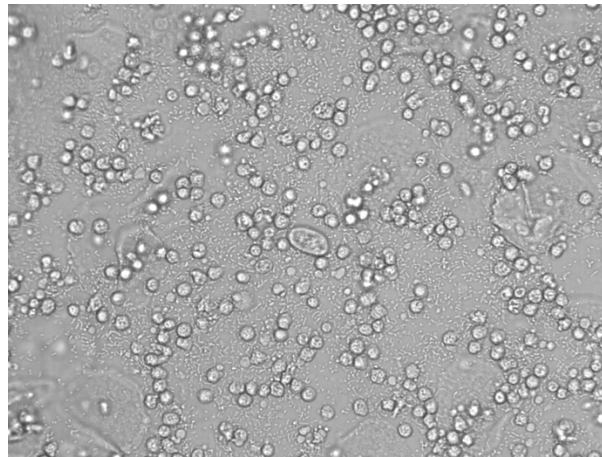


## Ziektebeelden

- Nefrotisch syndroom

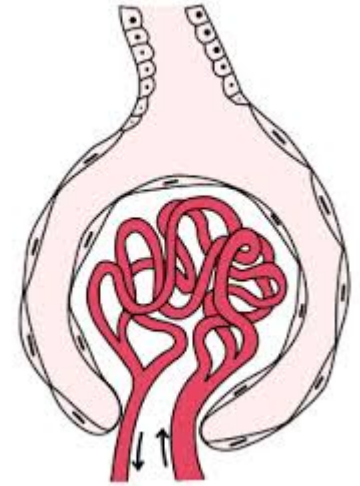


- Urineweginfectie



- Glomerulonefritis

- IgA nefropathie
- Membranoproliferatieve glomerulonefritis
- Acute post-streptokokken glomerulonefritis
- Extracapillaire glomerulonefritis
- Lupus nefritis
- Henoch-Schönlein purpura nefritis



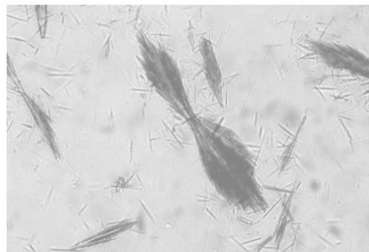


## Ziektebeelden

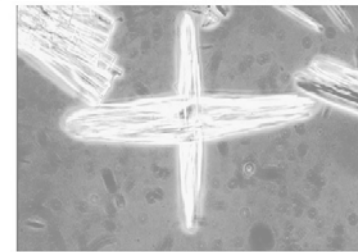
- Diabetische nefropathie
- Medicatie toxiciteit



ACYCLOVIR



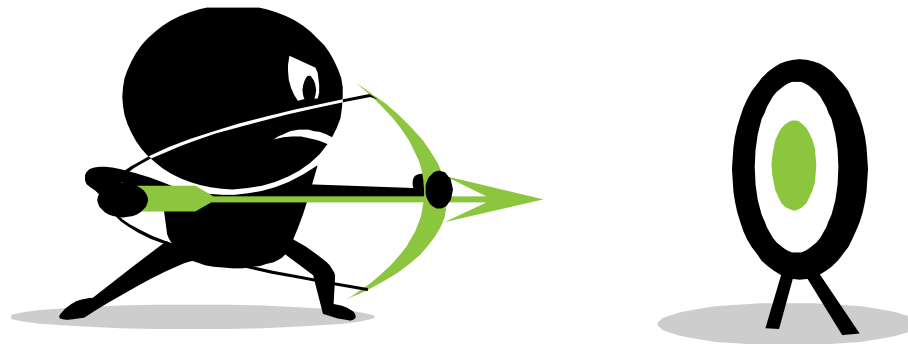
AMOXYCILLIN (BF)



INDINAVIR

CAT  
Automatische versus  
manuele microscopie  
van urine

## Hoe betrouwbaar is manueel microscopisch onderzoek?





Hoe betrouwbaar is  
manueel  
microscopisch  
onderzoek?

- Algemeen
  - Urinesediment
  - Niet-gecentrifugeerde urine
- Pre-analyse



Hoe betrouwbaar is  
manueel  
microscopisch  
onderzoek?

- Inter-observer variabiliteit
  - N=51

Vergelijking Manuele microscopie 1 - 2 PAT			
Manuele microscopie 1	Manuele microscopie 2		
	MM0	MM1	Totaal
M0	39	3	42
M1	5	4	9
Totaal	44	7	51

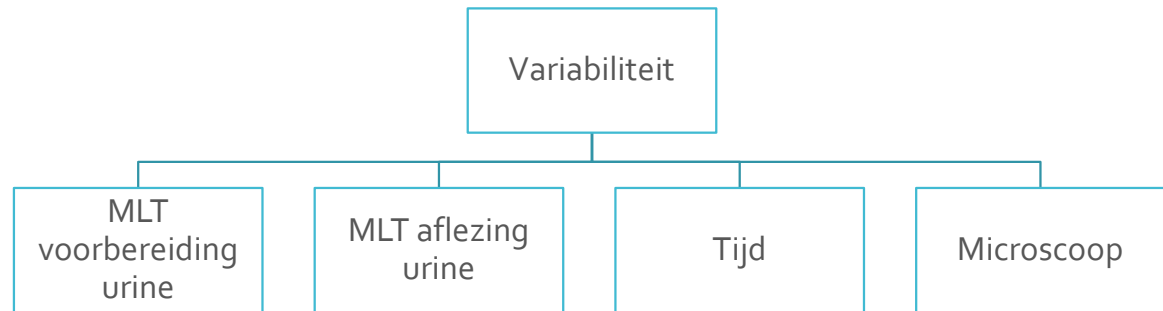
Vergelijking Manuele microscopie 1 - 2 RBC						
Manuele microscopie 1	Manuele microscopie 2					Totaal
	MM0-10	MM10-25	MM25-50	MM50-200	MM>200	
M0-10	18	5	2	0	0	25
M10-25	3	2	1	1	0	7
M25-50	0	1	4	1	1	7
M50-200	0	0	1	4	0	5
M>200	0	0	0	1	6	7
Totaal	21	8	8	7	7	51

Vergelijking Manuele microscopie 1 - 2 WBC						
Manuele microscopie 1	Manuele microscopie 2					Totaal
	MM0-10	MM10-25	MM25-50	MM50-200	MM>200	
M0-10	14	11	1	0	0	26
M10-25	0	3	2	2	0	7
M25-50	1	0	1	1	0	3
M50-200	0	0	0	5	0	5
M>200	0	0	0	3	7	10
Totaal	15	14	4	11	7	51

Hoe betrouwbaar is  
manueel  
microscopisch  
onderzoek?



Hoe betrouwbaar is  
manueel  
microscopisch  
onderzoek?



Experiment 1:  
Significante variatie < voorbereiding/aflezen door technologen

Experiment 2:  
Significante variatie onder technologen < voorbereidingstechnieken

Experiment 3:  
Significante variatie onder technologen < afgieten en opmengen van het staal

## Overzicht variabelen

- Pre-analytische variabelen:
  - Collectiemethode
  - Transport
  - Bewaring
- Voorbereiden van urinestaal:
  - Opmengen van het staal
- Subjectieve interpretatie
- Sampling error

CAT  
Automatische versus  
manuele microscopie  
van urine

## Is automatische urinemicroscopie een volwaardig alternatief voor manuele microscopie?



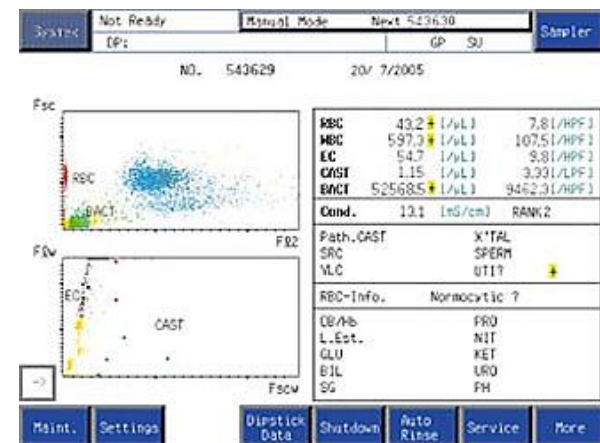


Is automatische  
urinemicroscopie  
een volwaardig  
alternatief voor  
manuele  
microscopie?

- Algemeen
- Flowcytometrie
- Geautomatiseerde urinemicroscopie
- Methodevergelijking

# Flowcytometrie

- UF-100
  - Niet-gecentrifugeerde urine
  - Flowcytometrie – fluoroforen
  - Classificatie
- Scattergram





## Geautomatiseerde urinemicroscopie

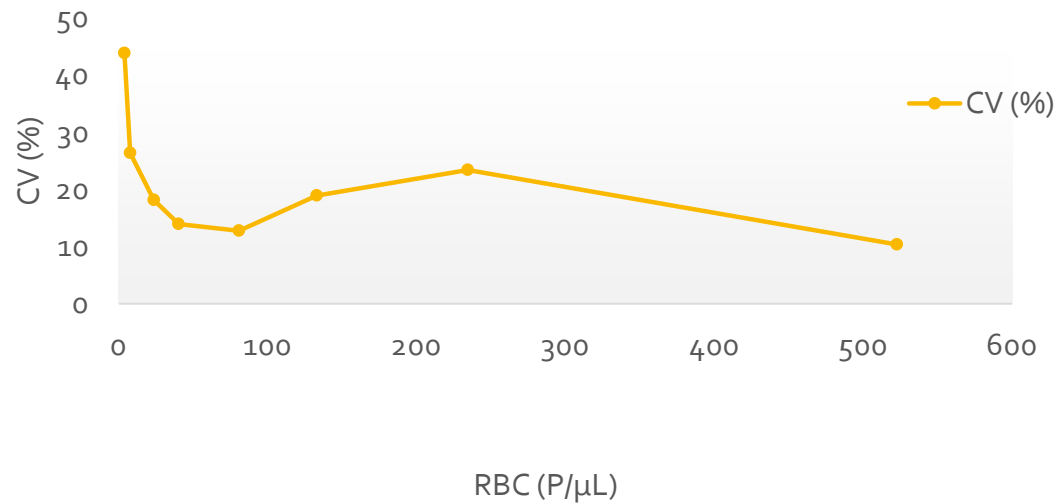
- SediMAX
  - 2mL urine
  - Cuvette
  - Aanrijking door korte centrifugatie
  - Lichtmicroscop
  - 15 beelden  $\sim 2,2$  à  $2,4 \mu\text{L}$
  - Classificatie

## Precisie sediMAX

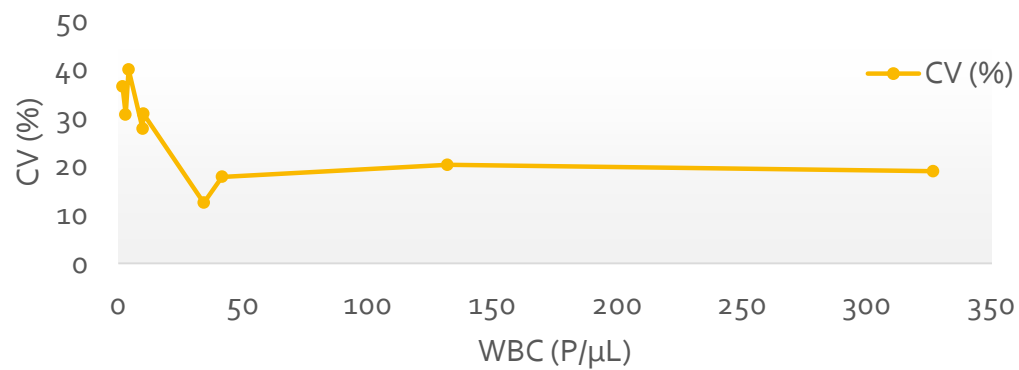
- Precisiestudie LAG
  - Between-run imprecisie
    - RBC: CV +/-15% bij gemiddeld +/-150 RBC/ $\mu$ L
    - WBC: CV +/-20% bij gemiddeld +/-75 WBC/ $\mu$ L
  - Within-run imprecisie
- Lineariteitsstudie LAG
- Carry-over

Within-run  
imprecisie  
sediMAX

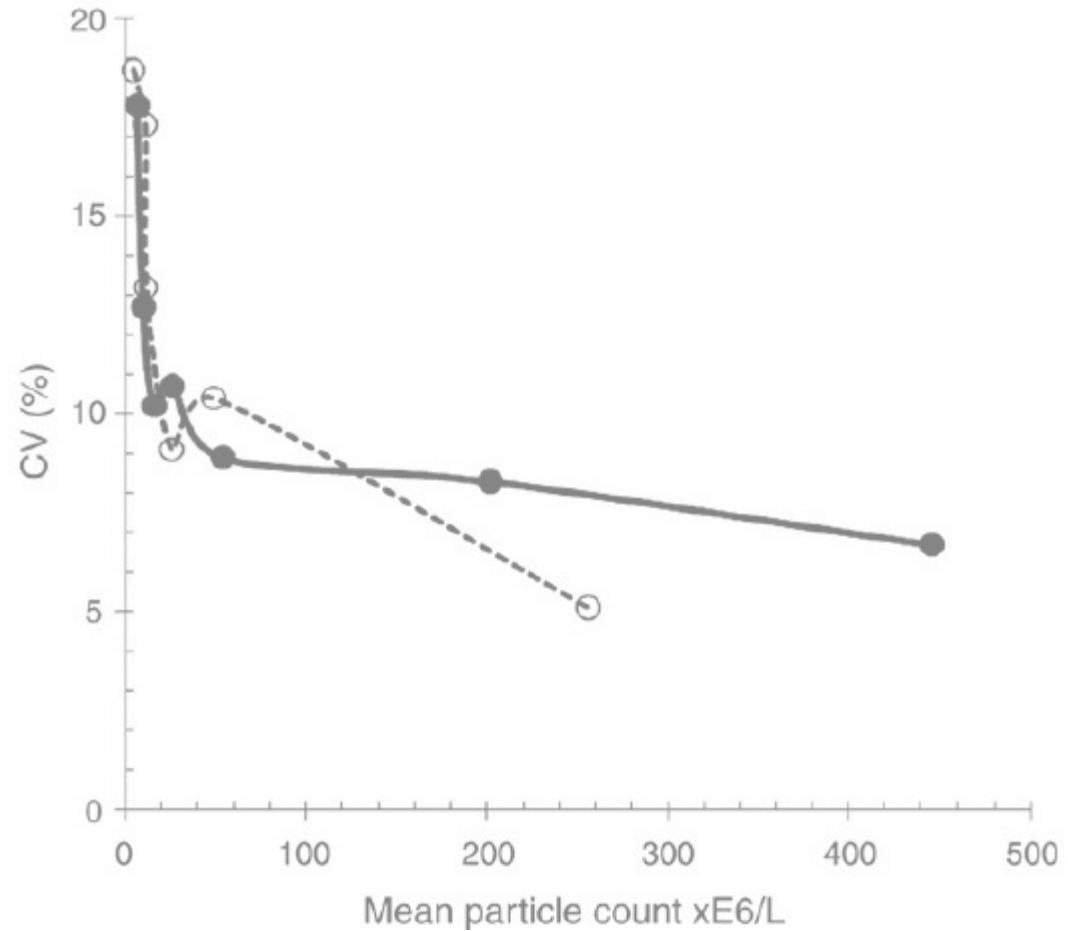
Within-run CV



Within- run CV



Within-run  
imprecisie  
sediMAX



Within-run precisie profiel voor RBC (●) en WBC (○)

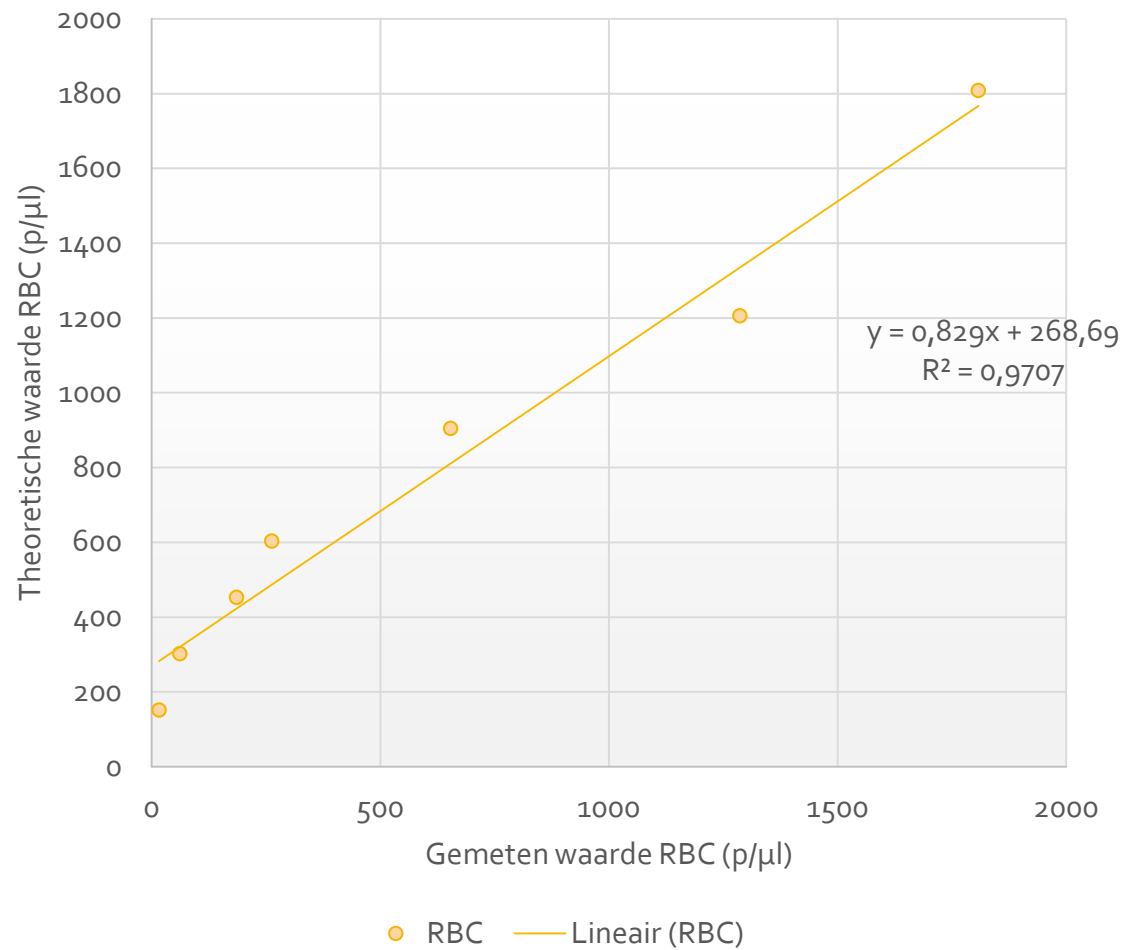
Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G, Croci MD, Bayer G, Kranicz T. Urine sediment analysis: analytical and diagnostic performance of sediMAX – A new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clinica Chimica Acta 2010;411:147-54.

## Lineariteit sediMAX

- Precisiestudie LAG
  - Between-run imprecisie
  - Within-run imprecisie
- Lineariteitsstudie LAG
- Carry-over

# Lineariteit sediMAX

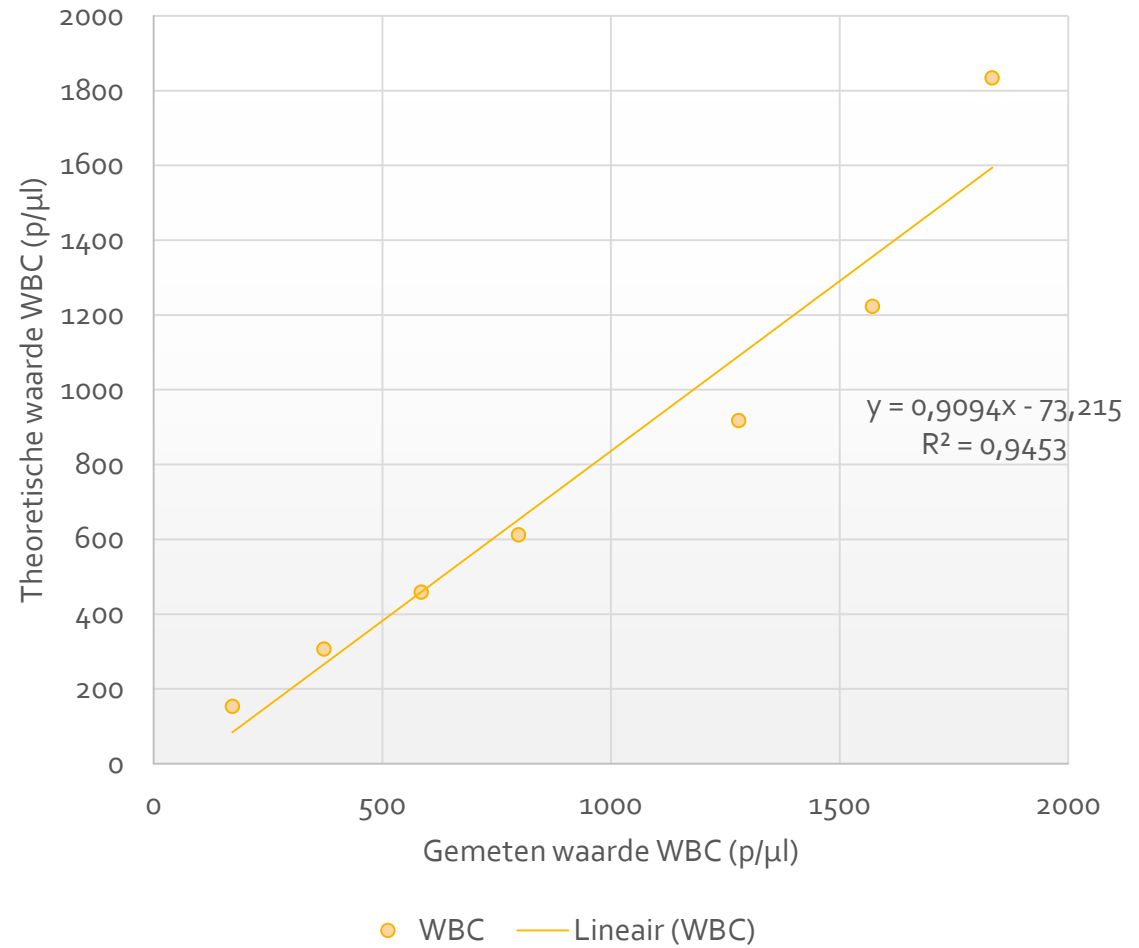
## Lineariteit RBC



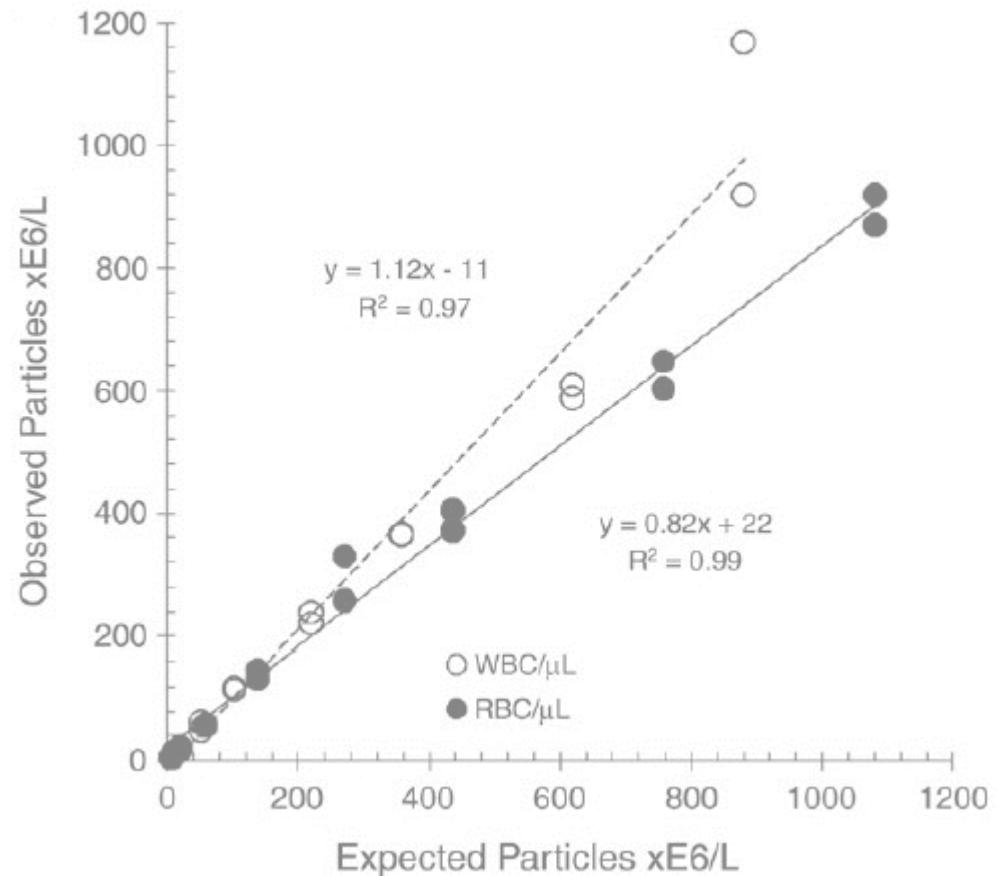


# Lineariteit sediMAX

## Lineariteit WBC



## Lineariteit sediMAX



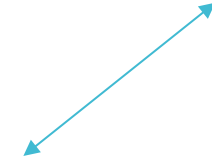
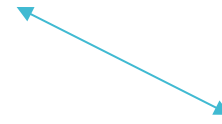
Lineariteit voor voor RBC (●) en WBC (○)

Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G, Croci MD, Bayer G, Kranicz T. Urine sediment analysis: analytical and diagnostic performance of sediMAX – A new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clinica Chimica Acta 2010;411:147-54.

## Carry-over sediMAX

- Precisiestudie LAG
  - Between-run imprecisie
  - Within-run imprecisie
- Lineariteitsstudie LAG
- Carry-over

# Methode vergelijking



# UF-100i vs fasecontrast microscopie

- UF-100i

Vergelijking manuele microscopie-UF-100 RBC							
Manuele Microscopie	UF-100						Totaal
		U0-10	U10-25	U25-50	U50-200	U>200	
	M0-10	53	10	5	0	0	68
	M10-25	7	11	5	2	0	25
	M25-50	0	5	4	1	0	10
	M50-200	0	0	0	4	1	5
	M>200	0	0	0	0	7	7
	Totaal	60	26	14	7	8	115

Vergelijking manuele microscopie - UF-100 WBC							
Manuele microscopie	UF-100						Totaal
		U0-10	U10-25	U25-50	U50-200	U>200	
	M0-10	58	10	2	0	0	70
	M10-25	7	8	3	0	0	18
	M25-50	1	3	2	3	0	9
	M50-200	0	0	5	4	1	10
	M>200	2	0	0	1	5	8
	Totaal	68	21	12	8	6	115

## UF-100i vs fasecontrast microscopie

		<b>Kappa</b>	<b>Conclusie</b>
<b>UF-100 zonder review/nt betr (n=115)</b>	RBC	0,50	Moderate
	WBC	0,44	Moderate
	Hya	0,10	slight
	Epi	0,43	Moderate
<b>UF-Microscopie met reviewstalen (n=174)</b>	RBC	0,72	Substantial
	WBC	0,69	Substantial
	Path	0,65	Substantial
	NEC	0,58	Moderate
	Hya	0,69	Substantial
	Epi	0,57	Moderate

<b>Interobserver Microscopie (n=51)</b>	RBC	0,54	Moderate
	WBC	0,46	Moderate
	Path	0,41	Moderate



## UF-100i vs fasecontrast microscopie

	PAT		NEC	
	Zonder review (n=115)	Met review* (n=174)	Zonder review (n=115)	Met review* (n=174)
<b>Se</b>	-	56%	-	63%
<b>Sp</b>	-	100%	-	100%

Prevalentie PAT 14% - NEC 38%

\* Reviewstalen nagekeken d.m.v. manuele microscopie

# sediMAX vs fasecontrast microscopie

- sediMAX

1: ghostcellen

5: weinig RBC op beelden

1: ghostcellen  
1: weinig RBC op beelden

Vergelijking manuele microscopie-sediMAX RBC						
Manuele Microscopie	SediMAX					Totaal
	S0-10	S10-25	S25-50	S50-200	S>200	
M0-10	79	3	0	0	0	82
M10-25	24	4	1	0	0	29
M25-50	5	12	1	0	0	18
M50-200	1	2	3	7	0	13
M>200	0	0	0	2	11	13
Totaal	109	21	5	9	11	155

Vergelijking manuele microscopie - sediMAX WBC						
Manuele microscopie	SediMAX					Totaal
	S0-10	S10-25	S25-50	S50-200	S>200	
M0-10	74	5	0	0	0	79
M10-25	22	8	1	0	0	31
M25-50	5	4	5	0	0	14
M50-200	1	4	6	8	0	19
M>200	0	1	1	5	5	12
Totaal	102	22	13	13	5	155

1: onderscheid RBC-WBC moeilijk  
4: onverklaard

2: onverklaard

2: onderschatting  
1: wazige beelden  
1: onverklaard

1: onderscheid RBC-WBC moeilijk



sediMAX vs  
fasecontrast  
microscopie

Vergelijking manuele microscopie - sediMAX WBC							
Manuele microscopie	SediMAX						
	S0-10	S10-25	S25-50	S50-200	S>200	Totaal	
	M0-10	19	2	0	1	0	22
	M10-25	3	3	0	0	0	6
	M25-50	1	2	1	1	0	5
	M50-200	0	1	0	3	0	4
	M>200	0	0	0	0	3	3
Totaal	23	8	1	5	3	40	

Mucus

Dysmorfe RBC

Review

## sediMAX vs fasecontrast microscopie

		<b>Kappa</b>	<b>Conclusie</b>
<b>SediMAX zonder review (n=155)</b>	RBC	0,42	Moderate
	WBC	0,42	Moderate
	Path	0,34	Fair
	NEC	0,21	Fair
	Hya	0,23	Fair
	Epi	0,62	Substantial
<b>SediMAX-Microscopie met review (n=174)</b>	RBC	0,56	Moderate
	WBC	0,56	Moderate
	Path	0,55	Moderate
	NEC	0,44	Moderate
	Hya	0,69	Substantial
	Epi	0,71	Substantial

<b>Interobserver Microscopie (n=51)</b>	RBC	0,54	Moderate
	WBC	0,46	Moderate
	Path	0,41	Moderate

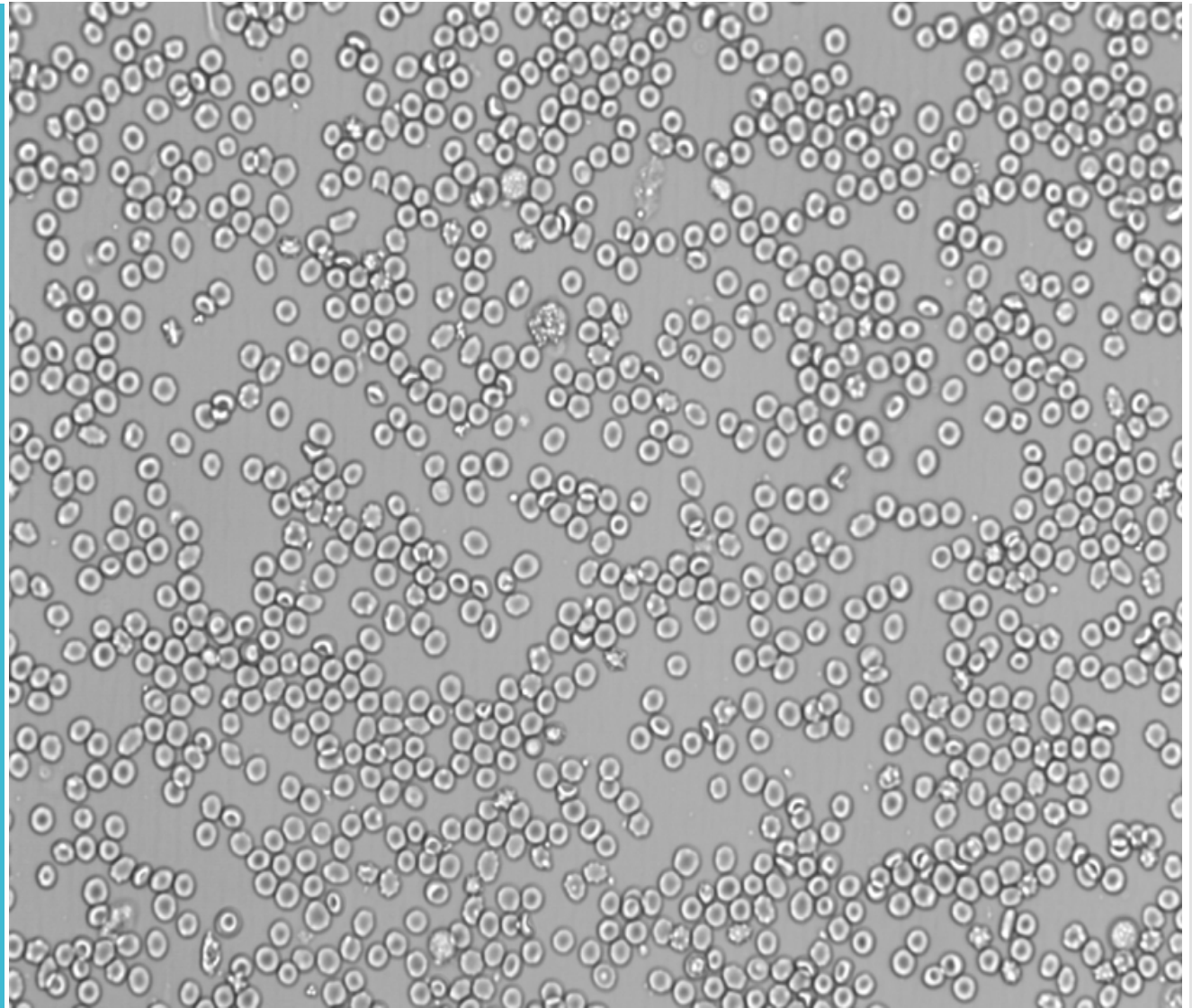
Diagnostische  
performantie  
sediMAX

	PAT		NEC	
	Zonder review (n=155)	Met review* (n=184)	Zonder review (n=155)	Met review* (n=184)
Se	28%	50%	27%	48%
Sp	98%	98%	91%	92%

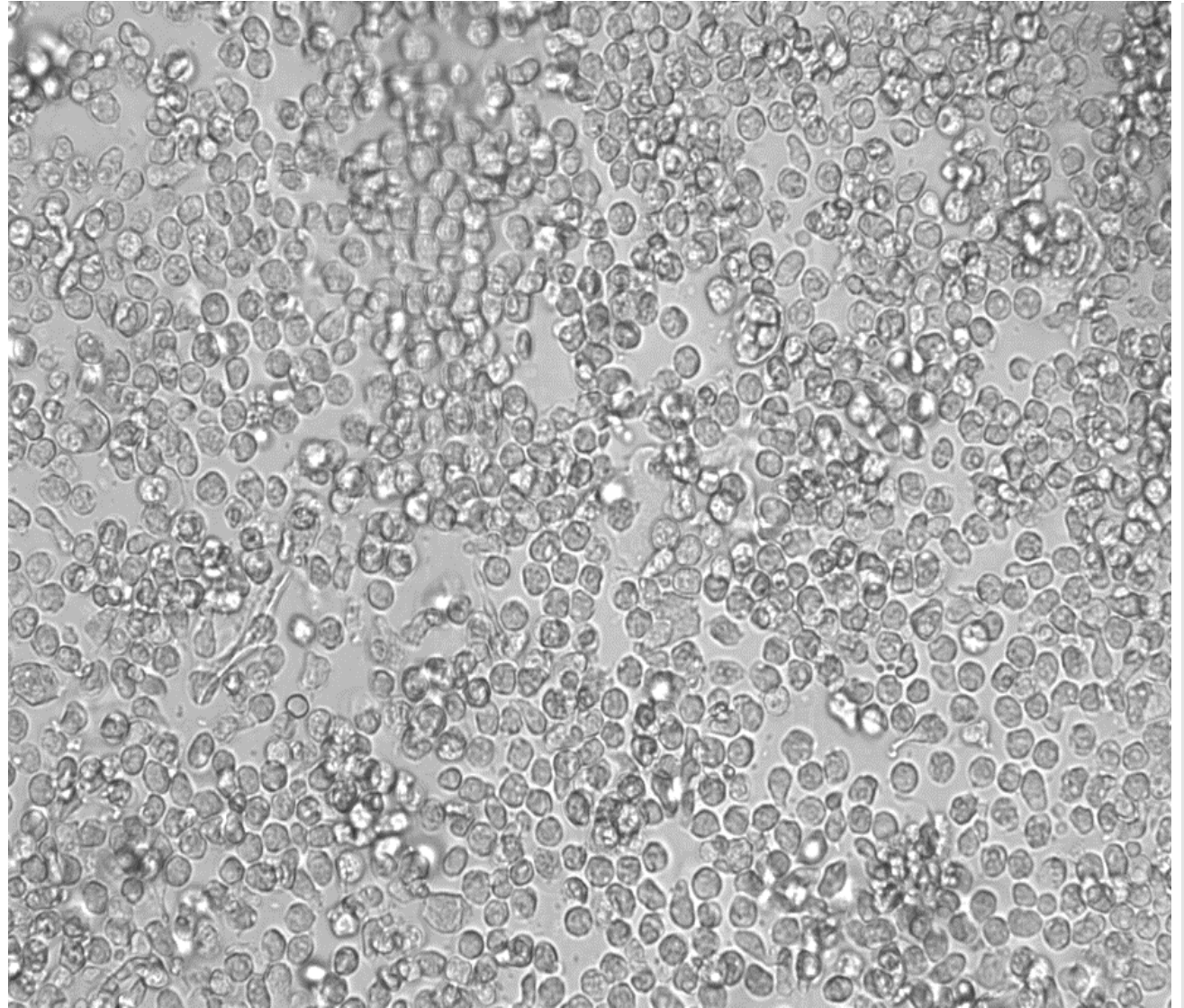
Prevalentie PAT 14% - NEC 38%

\* Reviewstalen nagekeken d.m.v. manuele microscopie

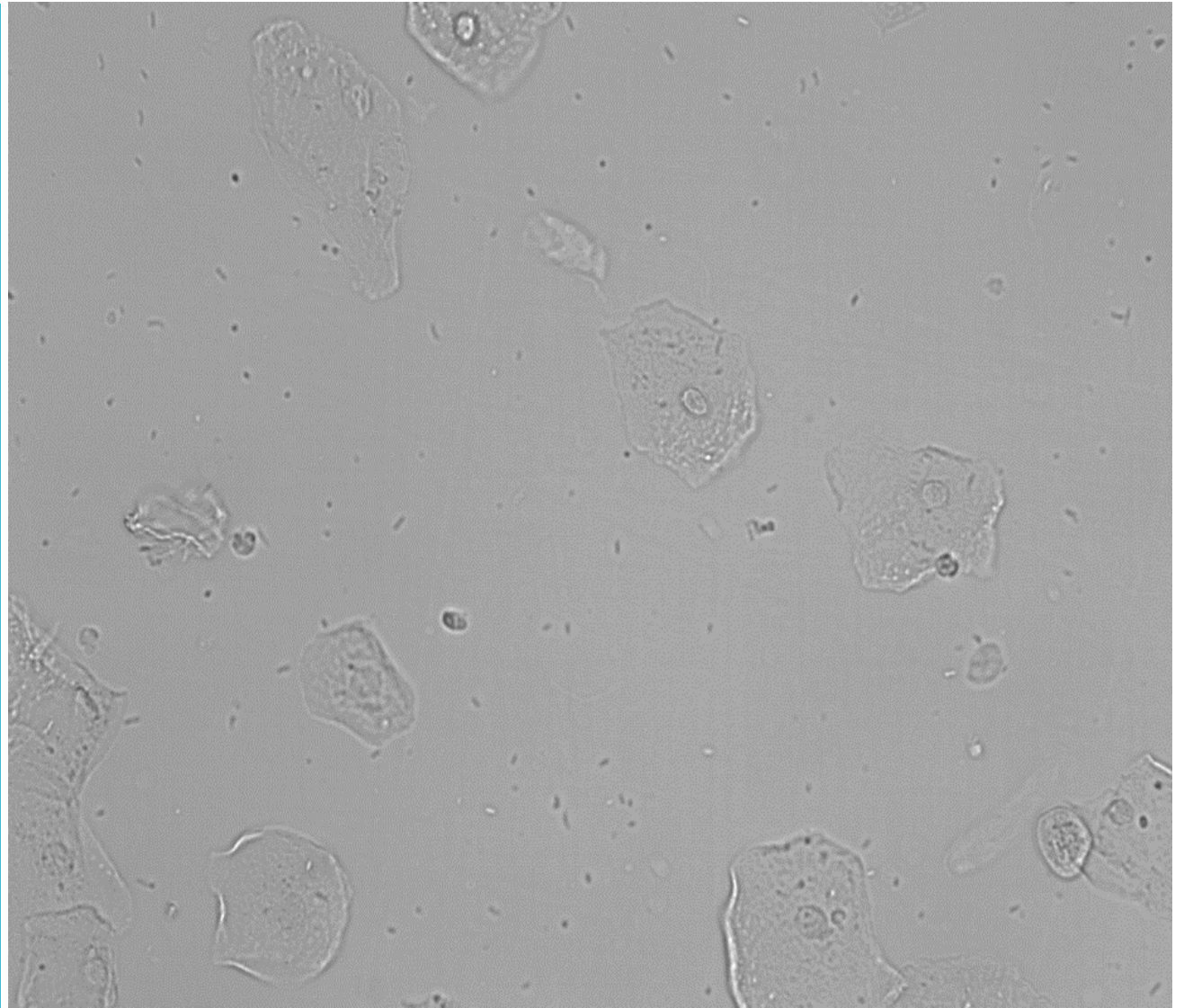
Enkele beelden



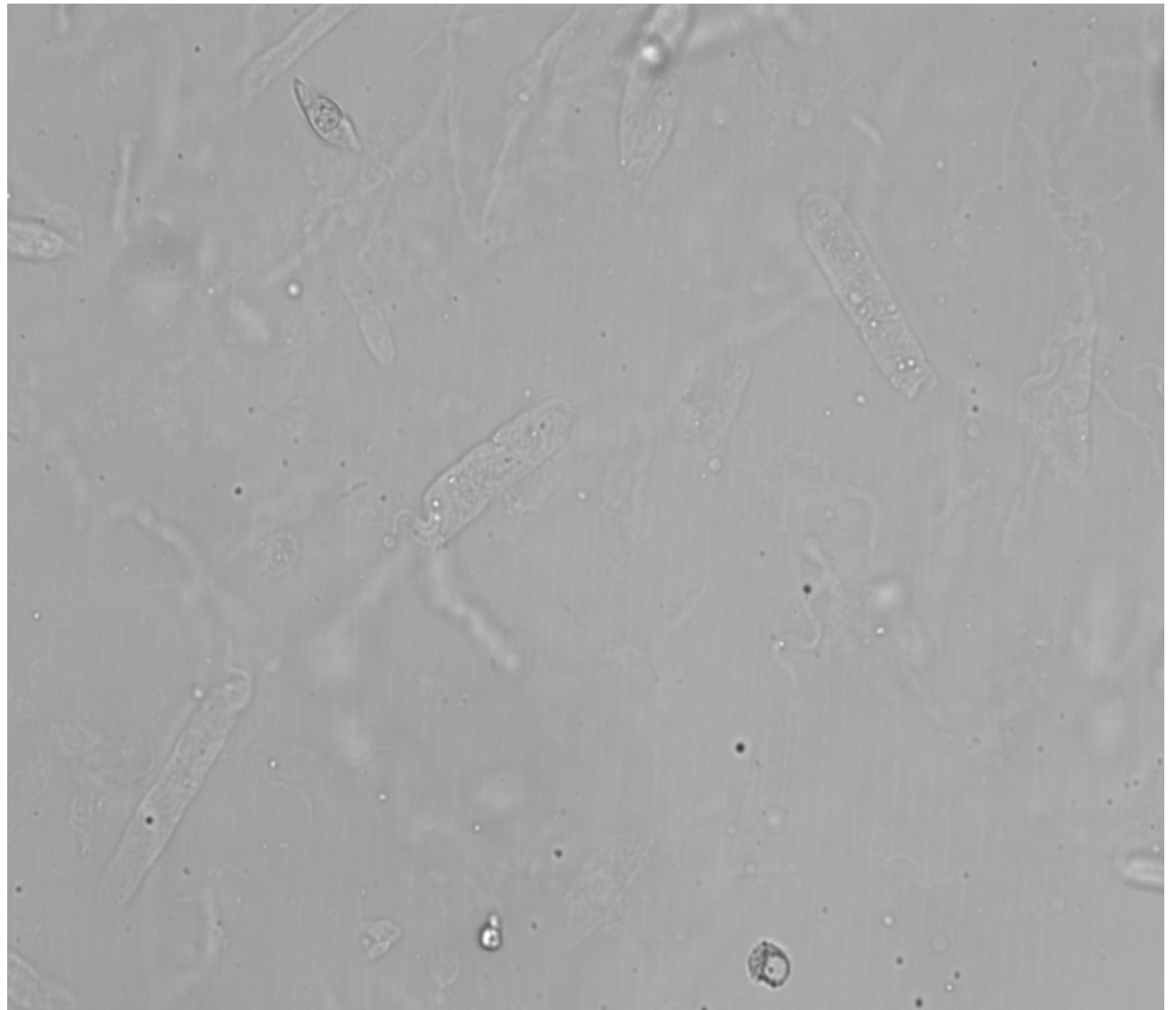
Enkele beelden



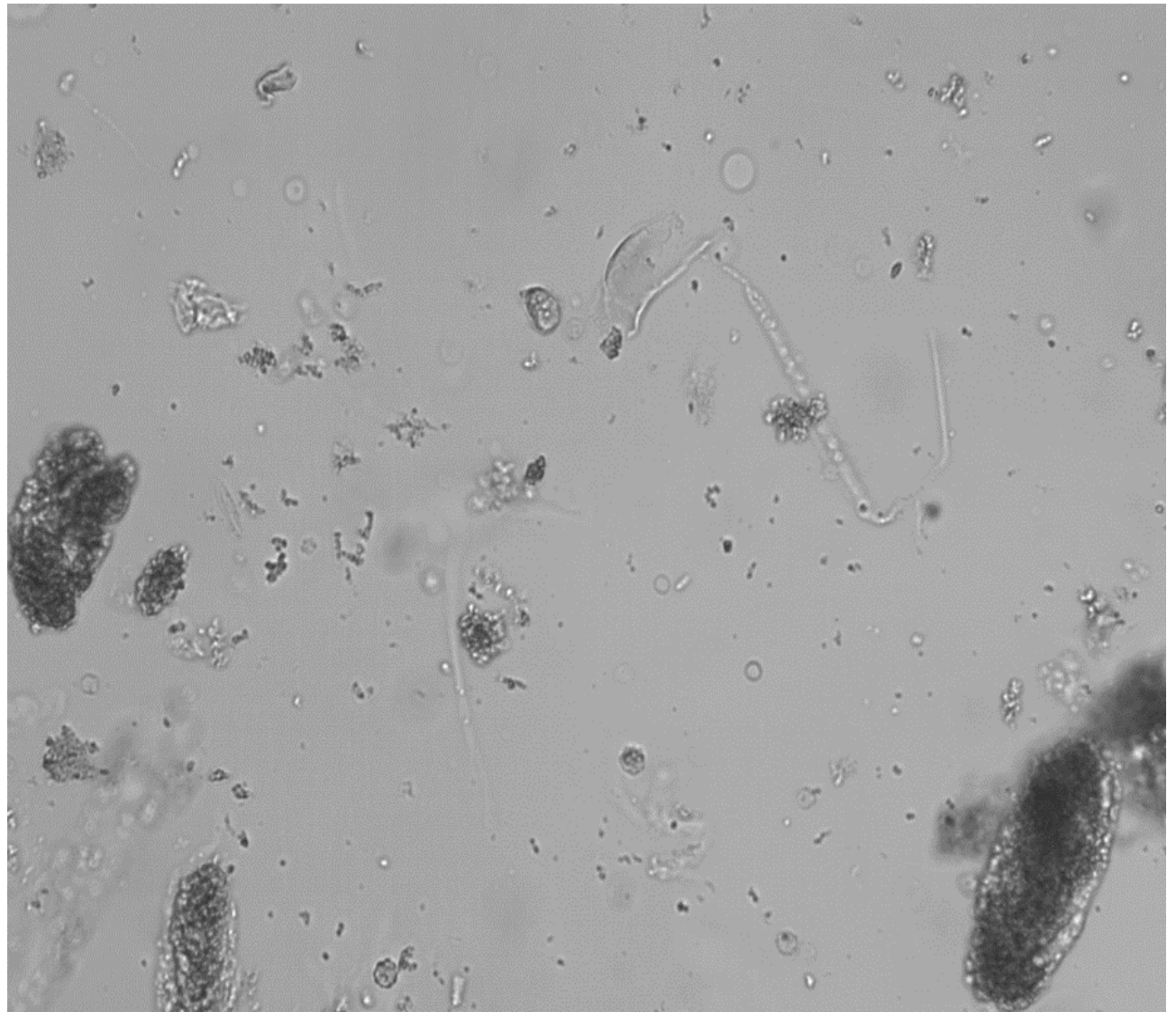
Enkele beelden



Enkele beelden

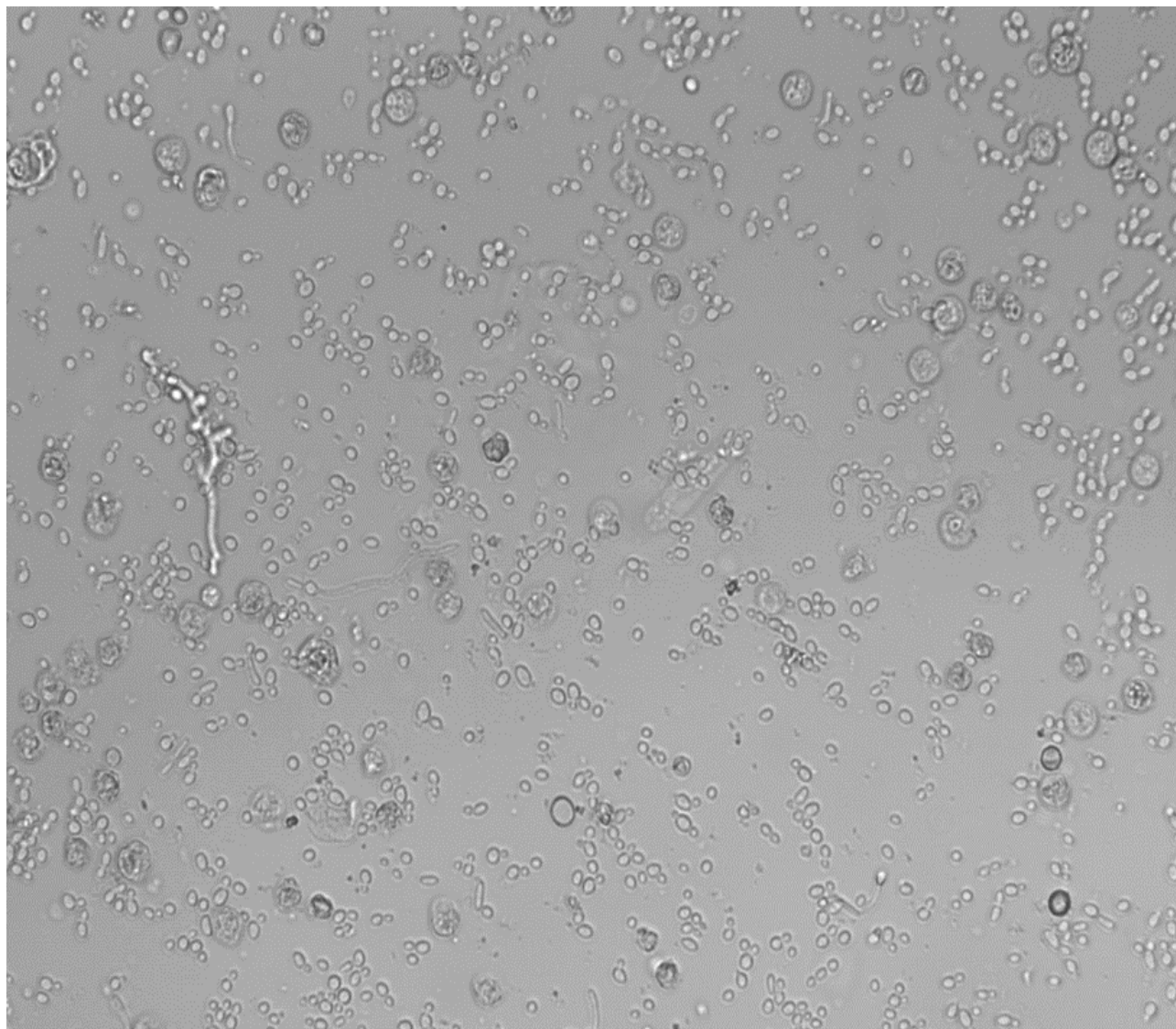


Enkele beelden

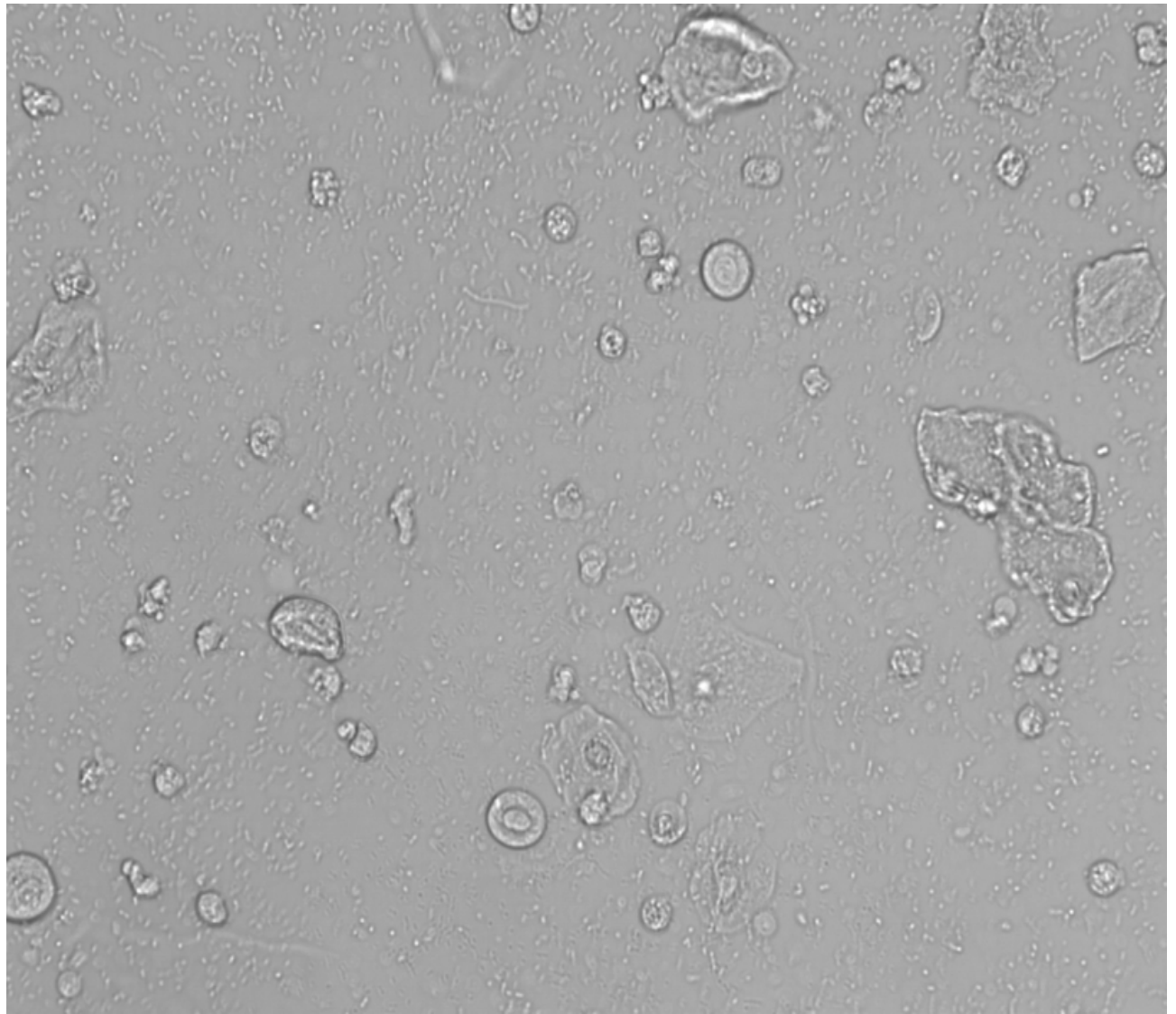




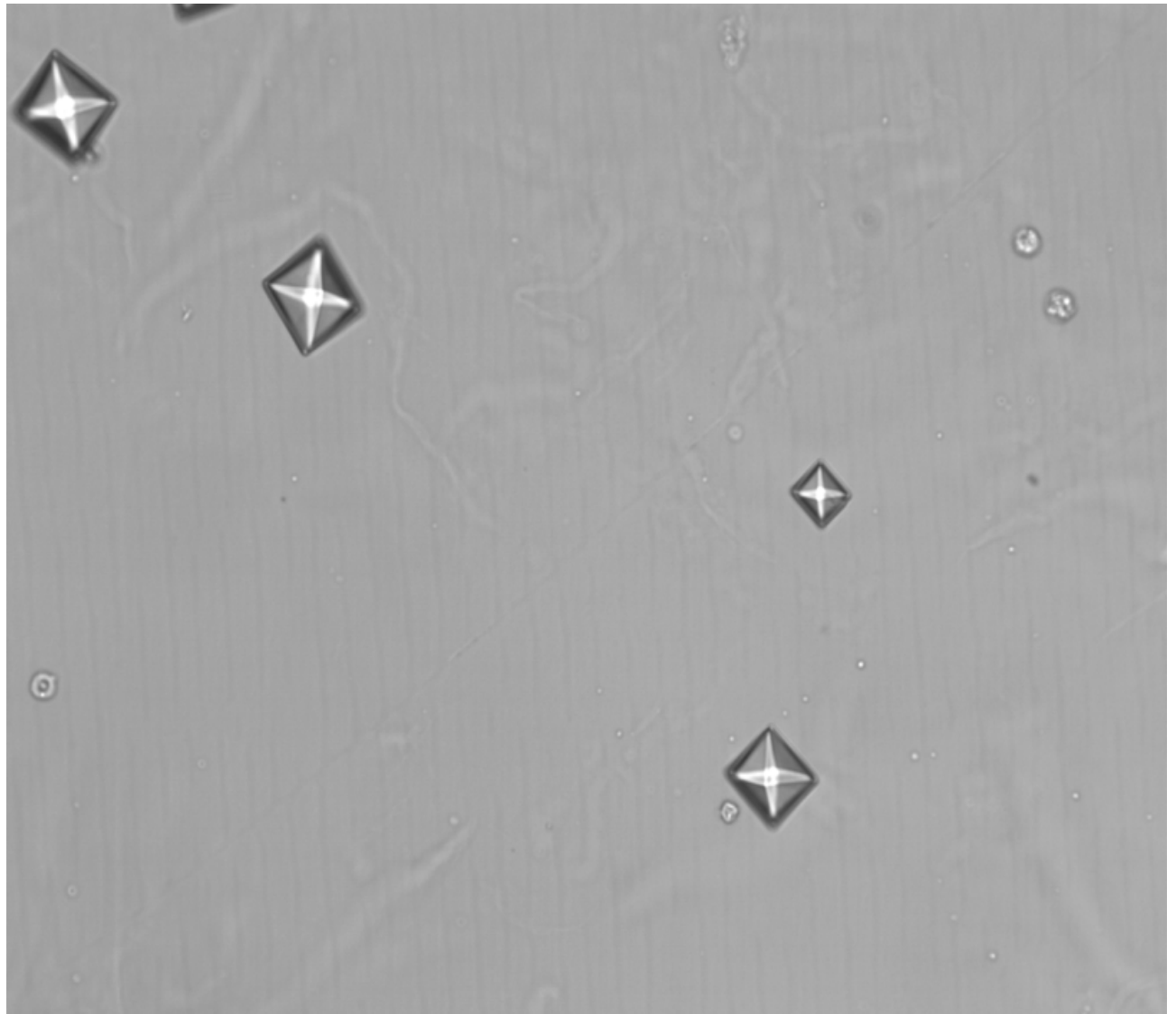
Enkele beelden



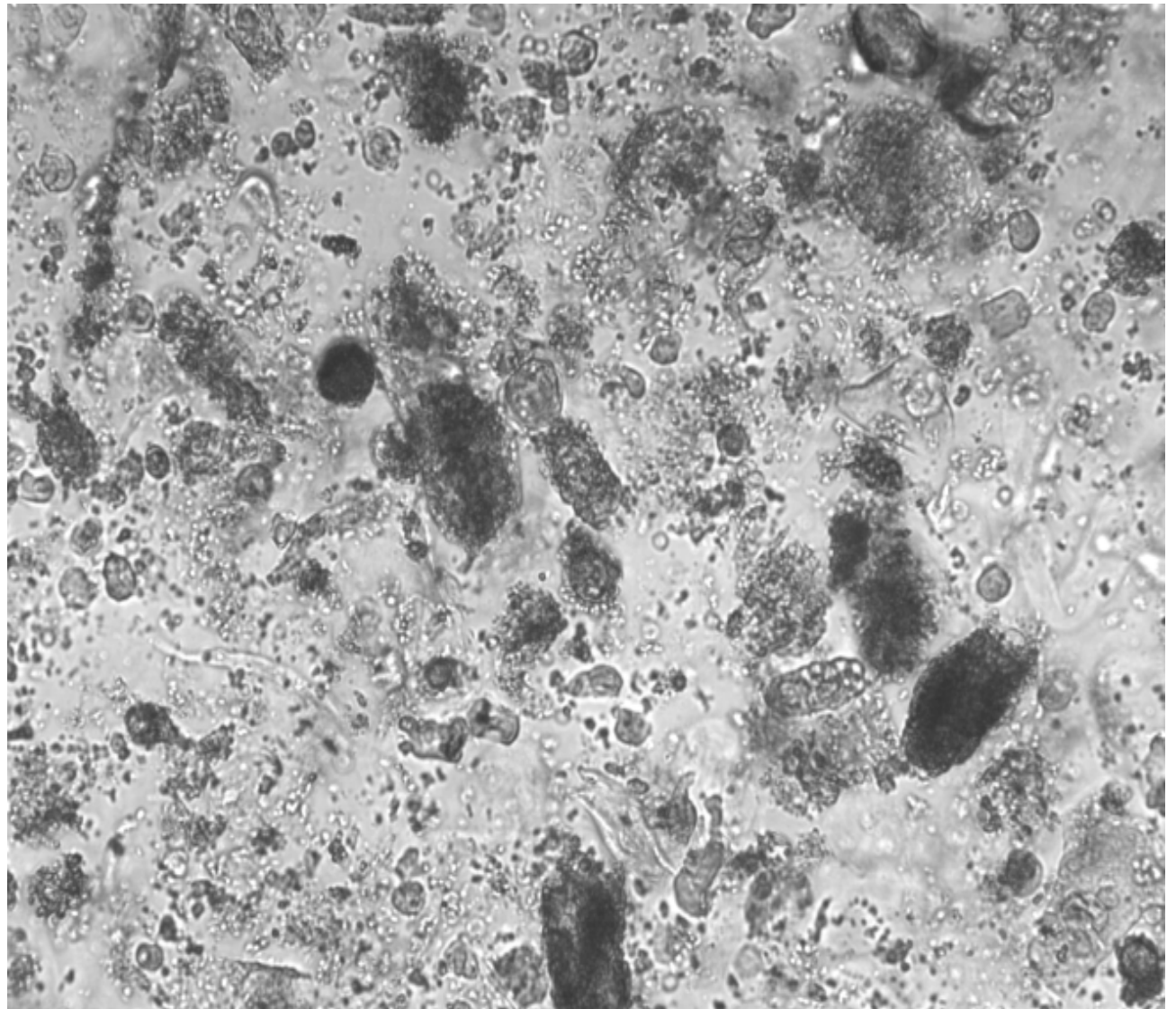
Enkele beelden



Enkele beelden



Enkele beelden



## Kosten

- UF-100:
  - Reagentia
    - Urinopack
    - Urinosearch
  - Laser
- sediMAX:
  - Cuvette
  - Water

## Voor- en nadelen

- Voordelen

<b>Fase contrast microscopie</b>	<b>UF-100i</b>	<b>sediMAX</b>
Gouden standaard	Betere precisie voor RBC en WBC	Beelden ter beschikking
	Snellere TAT	Snellere TAT
	Vereenvoudigd proces	Sterk vereenvoudigd proces
	Gestandaardiseerd	Gestandaardiseerd
	Manuele modus voor beperkte volumes en urgente stalen	

## Voor- en nadelen

- Nadelen

<b>Fase contrast microscopie</b>	<b>UF-100i</b>	<b>sediMAX</b>
Intra- en Inter- observer variabiliteit	Blackbox	Fouten te zien op beelden (VP/VN)
Tijdrovend en arbeidsintensief	Reagentia	Opleiding nodig voor interpretatie van de beelden
Sampling error	Hoog percentage reviews	Sampling error
Niet gestandaardiseerd	Minder geschikt voor gevormde elementen	Algoritme minder geschikt voor gevormde elementen
	Geen visualisering partikels	Geen mogelijkheid om te micrometren

CAT  
Automatische versus  
manuele microscopie  
van urine

Is de combinatie van teststrookscreening en  
automatische urinemicroscopie nuttig?





Is de combinatie van  
teststrookscreening  
en automatische  
urinemicroscopie  
nuttig?

- Experiment
  - N=336
  - sediMAX –AutionMAX AX 4030
  - Cross-checks in sedisoft
- Discussie

# Experiment

Regel	Cross-check AutionMAX - sediMAX	Frequentie	Percentage
RBC01	Heem > 0,06 mg/dL & RBC <= 5/ $\mu$ L	9	9%
RBC02	Heem < 0,03 mg/dL & RBC >= 10/ $\mu$ L	5	5%
RBC03	Heem >= 0,2 mg/dL & RBC <= 10/ $\mu$ L	6	6%
WBC01	WBC-esterase > 75/ $\mu$ L & WBC <= 9/ $\mu$ L	0	0%
WBC02	WBC-esterase < 25/ $\mu$ L & WBC >= 15/ $\mu$ L	20	19%
WBC03	WBC-esterase >= 250/ $\mu$ L & WBC <= 15/ $\mu$ L	1	1%
HYA01	Eiwitten <10 mg/dL & HYA >=1/ $\mu$ L	17	16%
HYA02	Eiwitten +/- & HYA >=2/ $\mu$ L	10	10%
HYA03	Eiwitten >=100mg/dL & HYA NEG	18	17%
YEA01	Gist >10/ $\mu$ L	10	10%
PAT01	PAT >=1/ $\mu$ L	8	8%
Totaal aantal vlaggen		104	100%
Totaal aantal gevlagde stalen		128	38%
Totaal aantal gevlagde stalen (zonder HYA-regels)		95	28%
Totaal aantal gevlagde stalen (zonder HYA- en WBC02-regels)		75	22%

Is de combinatie van  
teststrookscreening  
en automatische  
urinemicroscopie  
nuttig?

- Experiment
- **Besluit:**
  - Nuttig voor Heem vs RBC telling en WBC esterase vs WBC telling
  - Voor gevormde elementen cut-off verlagen

## Besluit

- Nood aan praktijkrichtlijnen omtrent pre-analyse om manuele microscopie betrouwbaarder te maken.
- Automatische urinemicroscopie voor RBC en WBC is in orde, ook voor gevormde elementen mits aanpassen cut-off.
- Combinatie teststrook en automatische urinemicroscopie nuttig voor heem en RBC, WBC esterase en WBC.

## To do/Action

- Implementatie van sediMAX en AutionMAX in routine
- Communicatie met de clinici
- Opleiding van de MLT's
- Resultaten uitschrijven in een wetenschappelijk artikel

Bedankt voor uw  
aandacht

