

Chemické a morfologické vyšetření moči klasické provedení a automatizované postupy

URINALYSIS

ANYWHERE BY MAIL

Every man and woman should have a scientific health test made each year.

The Robinson chemical and microscopical test is more complete than the tests demanded by Life Insurance Co.'s. It will enable you to

PROLONG YOUR LIFE

TRY ONE URINALYSIS AT OUR RISK

Send no money. Make no promises. We trust you. We even send container fully stamped for return postage. Complete report of 25 divisions—food chart, advice—all for only \$2.50—Client No. 6901, West Chicago, Ill., says, "Food chart alone worth the money."

LOUIS G. ROBINSON LABORATORIES
219 F McFarland St. Cincinnati, Ohio

MUDr. Petr Kubáč
Vítkovická nemocnice a.s.

Fn Brno
18. listopadu 2009

Chemické vyšetření moči

Mokrý chemie

- Ehrlichovo činidlo, Benediktovo činidlo, kyselina sulfosalicylová
- Riziko pro laboranty, zápach, vaření moči
- Domácí výroba reagensů, žádná standardizace
- Srovnatelnost, přesnost, správnost ?
- Cena

Chemické vyšetření moči

Močové proužky

PH, Glukosa, Ketony

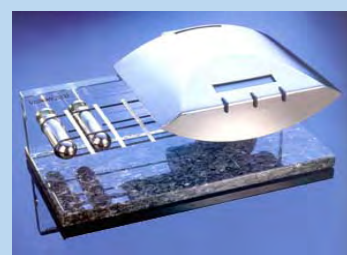
- Bezpečná suchá chemie
- Standardní vlastnosti
- Praktické použití v laboratoři
- Subjektivní odečet
- Kalibrace ?
- Manuální zpracování
- Akreditovatelnost ?



Chemické vyšetření moči

Močové proužky odečítané readerem

- Stejně výhody jako předchozí
- Objektivní odečet, Kalibrovatelnost
- Komunikace s PC, Archiv výsledků
- Dohledatelné měření
- Kalibrace ?
- Polomanuální zpracování
- Práce s čarovými kódy ?
- Walk away time ?



Chemické vyšetření moči

Roboticky namáčené močové proužky



Chemické vyšetření moči

Roboticky namáčené močové proužky

- Veškeré výhody readerů
- Práce se zkumavkami s čarovými kódy
- Práce se zkumavkami v racích

- Robotická ruka není stejně šikovná jako lidská
- Velký pracovní objem (6-10 ml minimum)
- Reprodukovatelnost namáčení
- Nespolehlivé namáčení (1 z 20 vzorků nezměřen ?!)

- Slepá větev vývoje ?

Chemické vyšetřené močí

Pipetující analyzátořy



Chemické vyšetřené močí

Pipetující analyzátořy

- Veškeré výhody předchozí skupiny
- Odstraněn problém robotické ruky
- Doposud nevídaná reprodukovatelnost (srovnatelná s kvantitativně měřícími analyzátořy)
- Vysoká spolehlivost provozu

- Problém podávání proužků
- Složitost konstrukce - cena
- Speciální proužky nevhodné pro ruční analýzu
- Kalibrace ?
- Správnost ?

Chemické vyšetřené moči

Pipetující analyzátory – kazeta s proužky



Chemické vyšetřené moči

Budoucnost – Návrat mokré chemie ?

- Pipetující readery téměř stejně složité stolní fotometrické analyzátory
- Propracovaná metodika kvantitativního měření v moči za pomoci enzymových souprav
- Propracovaná metodika kalibrací, kontroly kvality a návaznosti
- **Močová laboratoř bez močového analyzátoru ?**

Chemické vyšetření moči

Návrat mokré chemie - Jsou table-top biochemické analyzátoři močovými analyzátoři budoucnosti ?



Močové sedimenty

- Proč neexistuje externí kontrola na kvantitativní močové sedimenty ?
- Jaká je návaznost (standardizace) vyšetření močových sedimentů ?
- Počty elementů v zorném poli !
- Objem zorného pole !
- Barvení – Nebarvení !

Močové sedimenty

Objem zorného pole – Plocha

- Zeiss Fluoval = 200 μm = 31 000 μm^2
- Olympus BX40 = 515 μm = 208 000 μm^2
- Poměr plochy 1 : 7 při stejném zvětšení 400x

Močové sedimenty

Objem zorného pole = tloušťka vrstvy x plocha

- Tloušťka vrstvy dle European urianalysis guidelines = 33 μm
- Tloušťka vrstvy Fastread = 100 μm
- Poměr tlouštěk 1 : 3 x Poměr plochy 1 : 7
- Poměr objemů 1 : 20 v nejhorším případě

Močové sedimenty

Stanovisko ČSKB z roku 2003

Výsledky semikvantitativního morfologického vyšetření (nekvantitativního vzorku, tj. nesbírané moče) se vydávají v arbitrárních jednotkách, které jsou odvozeny od pásma početní koncentrace příslušných elementů. Je možné vydávání výsledků jako počtu elementů na litr nebo mikrolitr vyšetřované moče. **Vydávání výsledků na „zorné pole“ se zásadně nedoporučuje.**

Močové sedimenty

Hodnocení močového sedimentu (definice arbitrárních jednotek 0 až 4)

analyt	0	1	2	3	4
Erytrocyty (počet elementů/1 μ l)	0 - 10	11 - 50	51 - 100	101 - 500	> 500
Leukocyty (počet elementů/1 μ l)	0 - 10	11 - 50	51 - 100	101 - 250	> 250
Válce hyalinní	0	1 - 4	5 - 10	11 - 20	> 20
Válce ostatní	1	2 - 4	6 - 10	12 - 20	> 20
Epitele ploché (počet elementů/1 μ l)	0 - 15	16 - 50	51 - 100	101 - 200	> 200
Epitele kulovité (počet elementů/1 μ l)	0 - 15	16 - 50	51 - 100	101 - 200	> 200
Krystaly oxalátu	0	přítomny	četné	velmi četné	záplava

Močové sedimenty

Stanovisko ČSKB z roku 2003

Arbitrární jednotky – další non SI systém v močové analytice.

Vnesou arbitrární jednotky do kvantitativního močového sedimentu něco jiného než zmatek ?

Není přechod zorné pole – mikrolitry snazší než přechod zorné pole – arbitrární jednotky.

Močové sedimenty

Příklad z hematologie - Diferenciální krevní rozpočet

- Počítá se v komůrce - dokonalá standardizace objemu
- Leukomat - (počítá se zcela přesně)
- Znamená to přesný výsledek ?**

- Statistická chyba výběru = $1 / \sqrt{N}$

100 buněk = 10%

1000 buněk = 3.3%

10 000 buněk = 1%

- Hematologické analyzátory počítají většinou 8192 buněk (1% přesnost)

TV, >>> = cílová hodnota (konsenzus SEP)
 SEP = skupina expertních pracovišť
 Nejistota TV = rozpětí výsledků SEP
 AM = aritmetický průměr všech výsledků

>= možný výsledek (nalezen SEP, avšak bez konsenzu)
 VV = váš vlastní výsledek
 ✓ = váš výsledek shodný se SEP
 ✗ = váš výsledek odlišný od SEP

	Vzorek A				Vzorek B				
	VV	TV	Nejistota TV	AM	VV	TV	Nejistota TV	AM	
eukocytů - morfologie									
Blasty	✓ 0	0	0 - 0	0,002	✓ 0	0	0 - 0	0,001	
Promyelocyty	✓ 0	0	0 - 0	0,000	✓ 0	0	0,000 - 0,010	0,000	
Neutrofilní myelocyty	✓ 0	0	0 - 0	0,000	✓ 0,010	0,005	0,000 - 0,020	0,005	
Neutrofilní metamyelocyty	✓ 0	0	0,000 - 0,005	0,000	✗ 0	0,011	0,005 - 0,020	0,006	
Neutrofilní tyče	✓ 0,010	0,013	0,005 - 0,030	0,008	✓ 0,020	0,033	0,010 - 0,050	0,025	
Neutrofilní segmenty	✓ 0,100	0,098	0,060 - 0,120	0,099	✓ 0,480	0,486	0,460 - 0,520	0,484	
Eozinofily - mladší formy	✓ 0	0	0 - 0	0,002	✗ 0,010	0	0 - 0	0,000	
Eozinofilní segmenty	✓ 0,030	0,019	0,010 - 0,030	0,024	✓ 0,020	0,021	0,010 - 0,050	0,024	
Bazofilní granulocyty	✓ 0	0,003	0,000 - 0,010	0,003	✓ 0,010	0,005	0,000 - 0,020	0,006	
Monocyty	✓ 0,030	0,034	0,020 - 0,050	0,031	✗ 0,080	0,050	0,020 - 0,060	0,048	
Lymfocyty	✓ 0,830	0,833	0,800 - 0,865	0,817	✓ 0,370	0,381	0,350 - 0,460	0,394	
Plazmatické buňky	✓ 0	0	0 - 0	0,000	✓ 0	0	0 - 0	0,000	
Jiné buňky	✓ 0	0	0 - 0	0,009	✓ 0	0	0 - 0	0,001	
Erytroblasty (počet)	✓ 1,000	1,000	0,000 - 1,000	0,355	✓ 1,000	1,000	0,000 - 1,000	0,373	

	Vzorek A		Vzorek B
Beze změn		24	Beze změn
✓ Hypergranulace/toxické granulace		7	Hypergranulace/toxické granulace
Hypersegmentace granulocytů		1	Obrovské tyče a metamyelocyty
Hyposegmentace nebo pseudo Pelgerova anomálie		> 33	Hypogranulace/agranulace
Döhleho inkluze		>>> 98	Hypersegmentace granulocytů
Mladší formy monocytů		1	Hyposegmentace nebo pseudo Pelgerova anomálie
Holá jádra		1	Auerovy tyčky

Močové sedimenty

Statistická chyba výběru – chyba malých čísel

Ideální způsob zpracování močového sedimentu

- V komůrce
- Na 10 000 buněk
- Je to reálné ?

Močové sedimenty

Příklad z hematologie

- Analyzátor** počítá základní diferenciál na 10 000 buněk
- Laborantka počítá rozšířený diferenciál na 100 buněk
- Cesta ke správnosti i pro moče ?

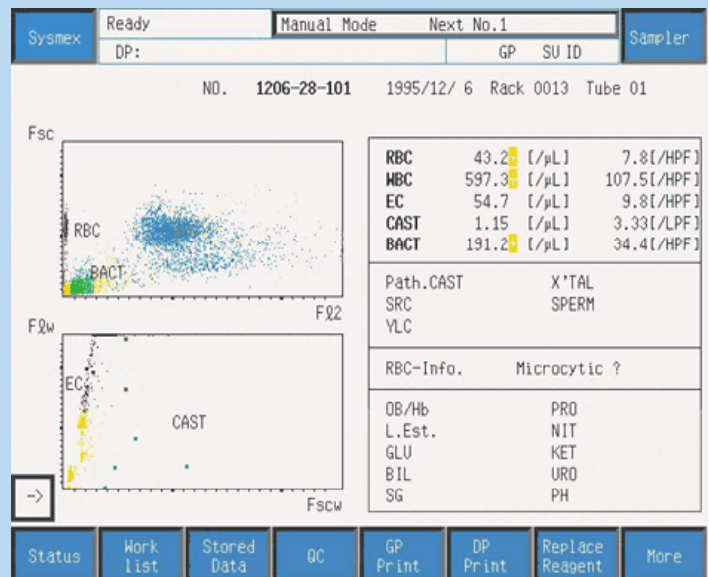
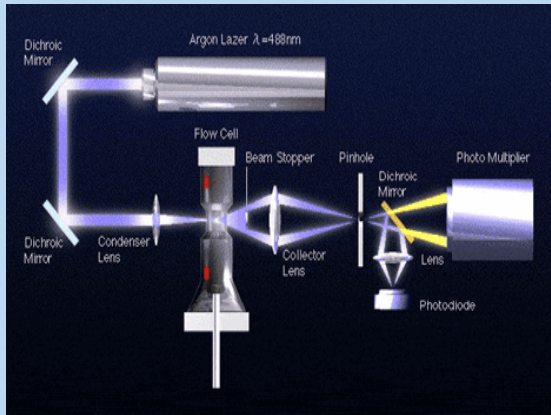
Močové sedimenty

Analyzátory močových sedimentů

- Průtokové cytometry
- Automatické mikroskopy

Močové sedimenty

Průtokové cytometry



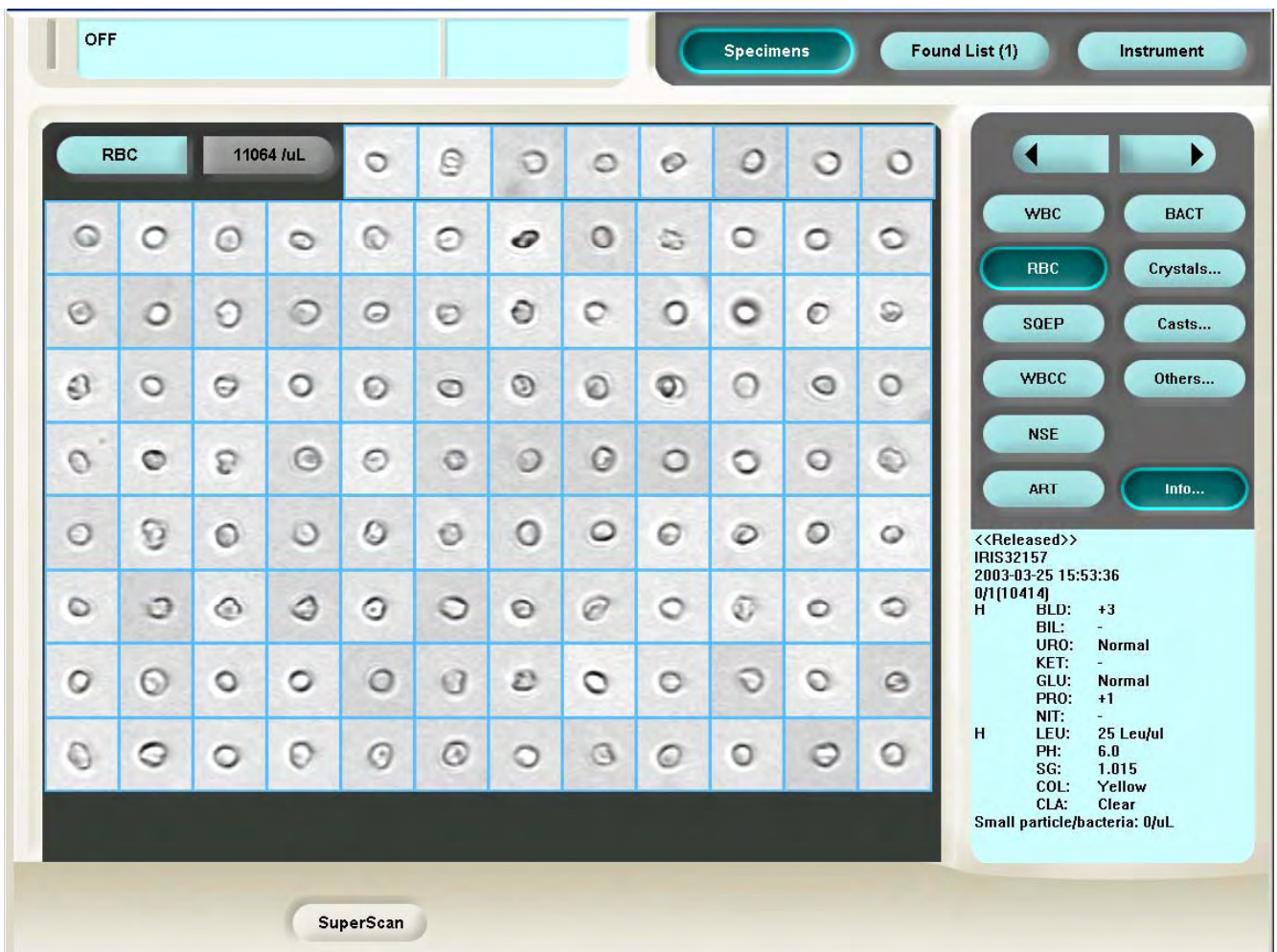
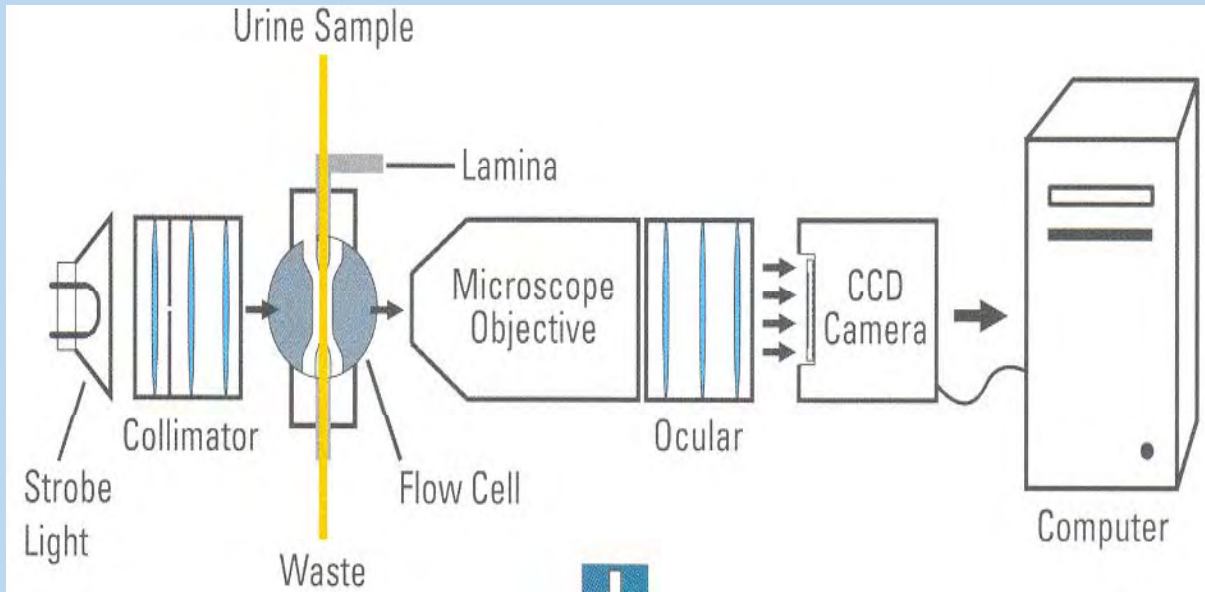
Močové sedimenty

Průtokové cytometry

- Plně automatizované
- Ověřená hematologická technologie
- Jiný způsob měření oproti mikroskopii
- Neví co vidí – v moči převaha neidentifikovatelných elementů
- Neorientují se v patologických močích

Močové sedimenty

Automatické mikroskopy



Močové sedimenty

Automatické mikroskopy

- Přístroj analyzuje 500 fotografií z každého vzorku
- Nejasné elementy nabídne obsluze
- Obsluha vyřadí elementy, které NEJSOU zadaného typu

- Původní idea výrobce byla, že přístroj se bude na základě selekce buněk obsluhou dále učit
- **FDA však považuje učení za nebezpečné, proto jeho aktivaci zakázala**

Močové sedimenty

Automatické mikroskopy

- Díky technologiím digitálního zobrazování se analýza obrazu stává relativně lacinou technologií
- Mikroskopická metodika je blízká lidskému hodnocení
- Přístroj nejasné elementy nabídne obsluze – lze pořídit použitelnou analýzu i z patologických vzorků

- **Hodnocení nejasných elementů je na začátku časově náročné, téměř jako mikroskopování, což by bylo akceptovatelné, pokud by se přístroj učil – doba by se zkracovala**
- Zákaz “učení” je úřednické opatření, které nelze snadno zvrátit vývojem technologie

Močová laboratoř budoucnosti

Méně odvážný pohled (bližší budoucnost)

- Automatický pipetující analyzátor
- Průtokový cytometr
- Zkušená laborantka

Močová laboratoř budoucnosti

Odvážnější pohled (vzdálenější budoucnost)

- Hlavní analyzátor vyšetřuje moče chemicky paralelně se séry
- Automatický mikroskop s učením vyhodnocuje většinu sedimentů
- Zbylé procento nejzávažnějších nálezů hodnotí cytopatolog ?

Močová laboratoř budoucnosti

Smysl budoucí techniky ?

- Chemické vyšetření je kalibrované a zcela exaktní v SI jednotkách
- Kvantitu buněk počítá stroj v elementech (na uL)
- Lidská obsluha se soustředí na strojově obtížně zachytitelné elementy, které hodnotí semikvantitativně

OJEDINĚLÉ, ČETNÉ, VELMI ČETNÉ, ZÁPLAVA