

# Sédiment urinaire automatisé : l'approche « Laboratoire Central Automatisé »

Ph. Biol. Catherine Fillée

Jeudis de Fleurus – 26 mai 2016



Cliniques universitaires

**SAINT-LUC**

UCL

BRUXELLES

# Au programme...

- ✓ Introduction : European urinalysis Guidelines : Quel prélèvement pour le sédiment urinaire?
- ✓ Principes de fonctionnement :
  - UF – 1000
  - Cobas 6500
- ✓ Notre expérience du sédiment urinaire
- ✓ Intégration du sédiment urinaire dans un laboratoire central automatisé : pourquoi?
- ✓ Conclusions

## European Urinalysis Guidelines

### SUMMARY

#### Analyse du sédiment urinaire correct → prélèvement correct

- Premières urines du matin
- Prélèvement mi-jet
- Echantillon primaire transporté tel quel ou aliquoté en fonction des analyses demandées
- Contenant standardisé : tube 5 – 12 ml à fond conique ou rond

#### Transport et conservation :

- Tigette urinaire : max 24 heures à 4°C, sans conservateur (interférence avec les réactions enzymatiques)
- Sédiment urinaire : max 1h à température ambiante , 4h à 4°C → précipitations des cristaux amorphes

**TABLE 1A.** Influence of temperature on stability of particle analysis (adapted from reference 21).

Particle	-20 °C	4-8 °C	20-25 °C
Red blood cell	NA	1-4 h	1 h - 24 h (> 300 mOsmol/kg)
White blood cell	NA	1-4 h	1 h (pH > 7.5) - 24 h (pH < 6.5)
Acanthocytes	NA	2 days	1 day (> 300 mOsmol/kg)
Casts	Not allowed	NA	2 days
Bacteria	NA	24 h	1-2 h
Epithelial cells	NA	NA	3 h

NA - data not available.

*Biochemia Medica 2014;24(1):89–104*

**TABLE 1B.** Influence of temperature on test strip analysis (adapted from reference 21).

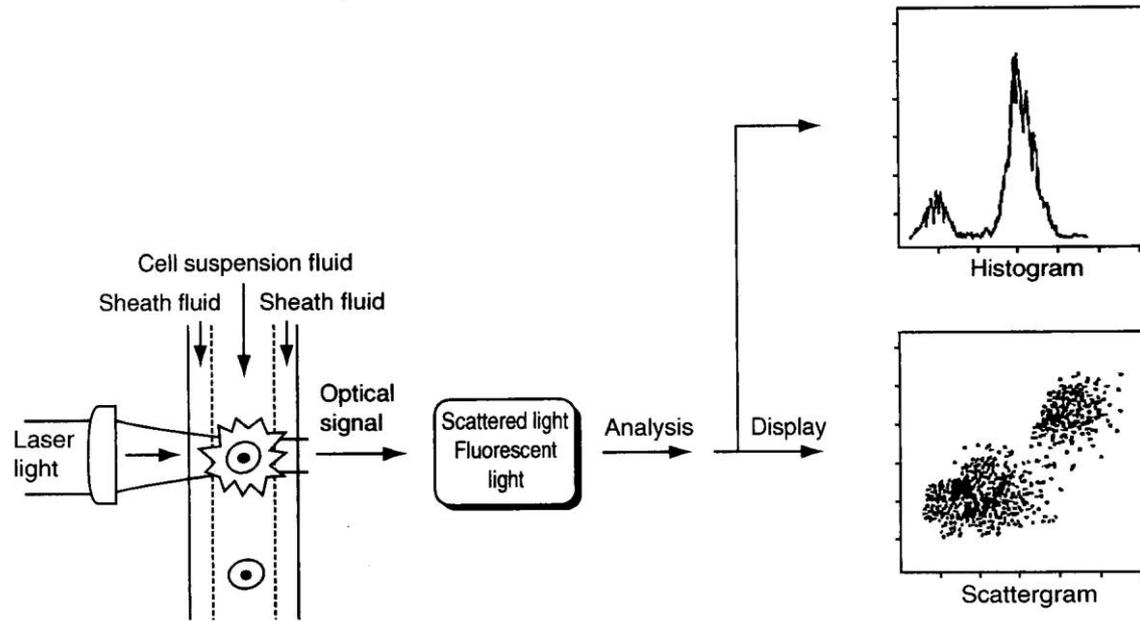
Analyte	4-8 °C	20-25 °C
Red blood cells	1-3 h	4-8 h
White blood cells	1 day	1 day
Proteins	NA	> 2 h (unstable at pH > 7.5)
Glucose	2 h	< 2 h
Nitrites	8 h	4 days

NA - data not available.



# UF-1000 : Principes de fonctionnement

- Cytométrie en flux permettant l'analyse des éléments cellulaires



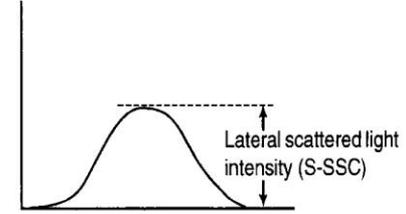
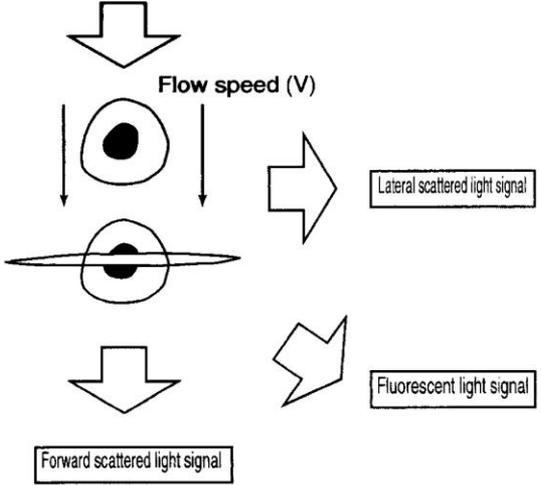
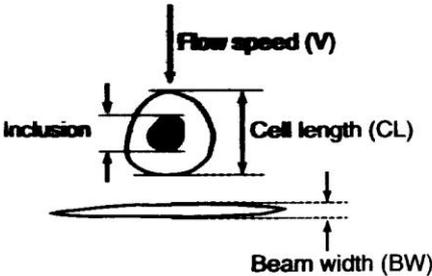
- Principe de l'analyse des éléments : chaque particule colorée et incluse dans le liquide de gainage génère lors de l'illumination par un faisceau laser :

- Lumière diffusée dans l'axe du rayon incident
- Lumière diffusée latéralement
- Fluorescence

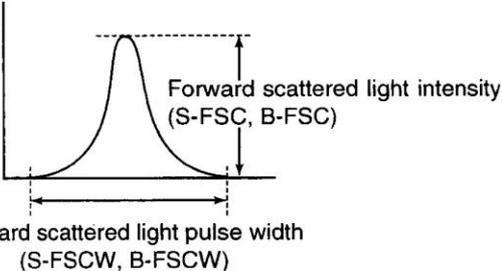


Conversion des signaux lumineux en signaux électriques

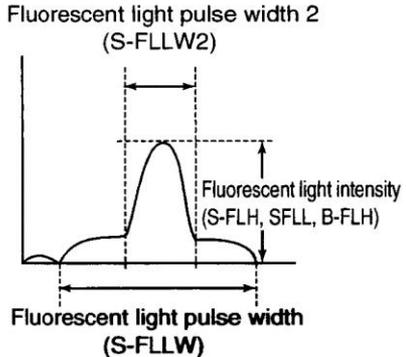
# UF 1000 – Principes de fonctionnement



The lateral scattered light signal reflects the surface states of the cells.



Forward scattered light signal mainly reflects the size information on the particles. S-FSC and B-FSC reflect the size of a cell, and S-FSCW and B-FSCW reflects the length of a cell.



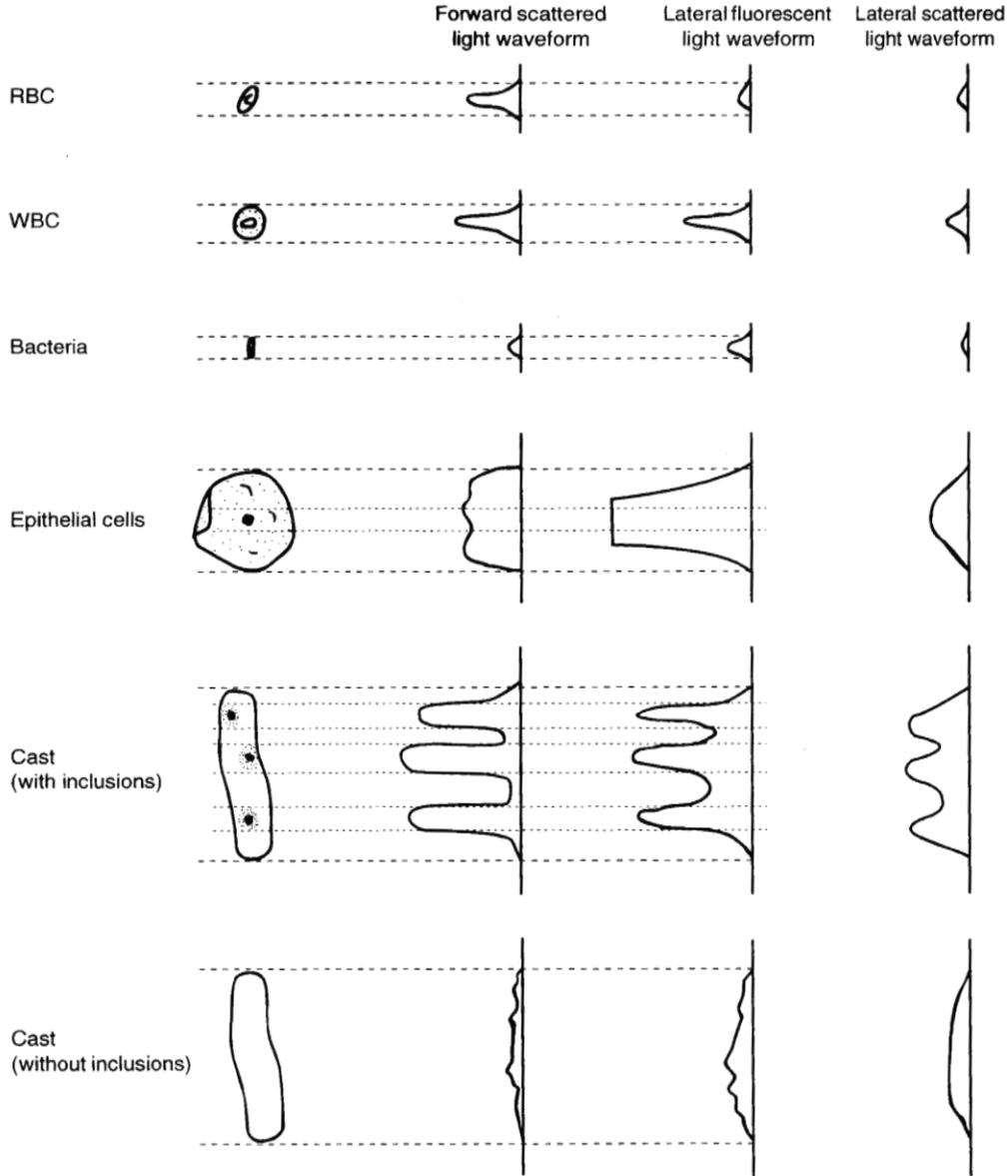
UFII SEARCH -SED stains part of nucleus, cytoplasm, and membranes. S-FLH and S-FLL differ in the degree of electrical signal amplification. They reflect the strength of staining. WS-FLLW reflects the overall length of the stained portion, while S-FLLW2 reflects mainly to the staining level of inclusions in particles. UFII SEARCH -BAC distinctively stains nucleic acid elements within bacteria. B-FLH reflects how strongly the bacteria stains.



# UF 1000 – Principes de fonctionnement

## Signal waveforms for cells

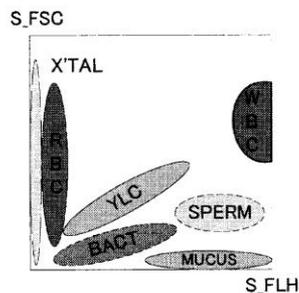
The waveform examples as shown below are obtained from signals of forward scattered light, lateral fluorescent light and lateral scattered light.



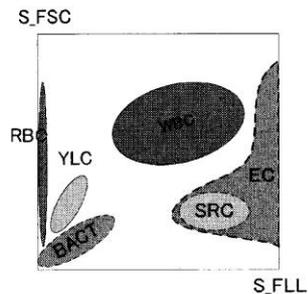
\* The waveforms of the signals show time on the vertical axis and intensity on the horizontal axis.

Examples of signal waveforms for urine formed elements.

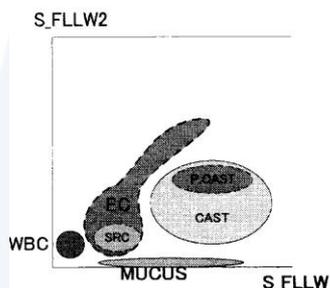
# UF 1000 : Principes de fonctionnement



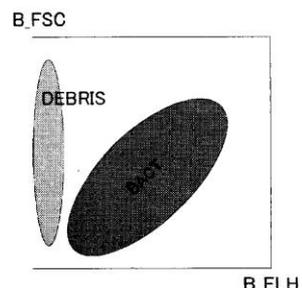
Scattergram S1



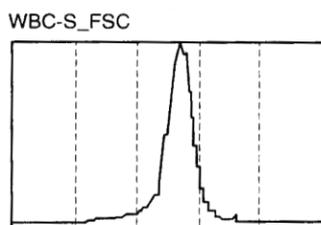
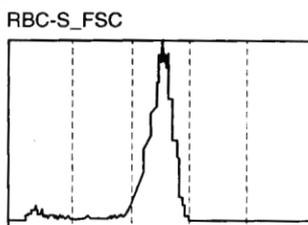
Scattergram S2



Scattergram S3



Scattergram B1



S-FSCW (forward scattered light width):

Particle length

S-FLH (fluorescent light intensity (high sensitivity)):

Level of particle nucleus staining

S-FLLW (fluorescent light width (low sensitivity)):

Width of particle nucleus stained portion

S-FLL (fluorescent light intensity (low sensitivity)):

Level of particle nucleus staining

S-SSC (Lateral scattered light intensity):

Particle internal complexity

S-FLLW2 (fluorescent light width 2 (low sensitivity)):

Width of the highly stained position in the particle nucleus

S-FSC (forward scattered light intensity):

Particle size/height, refractive index

<BACTERIA-ch>

B-FSCW (forward scattered light width (high sensitivity)):

Particle length

B-FSC (forward scattered light intensity (high sensitivity)):

Particle size/height

B-FLH (fluorescent light intensity (high sensitivity)):

Level of particle nucleus staining

B-FSC2 (forward scattered light intensity (low sensitivity)):

Used for servicing (maintenance).



# UF 1000 : Principes de fonctionnement

Le système permet une classification et une quantification de :

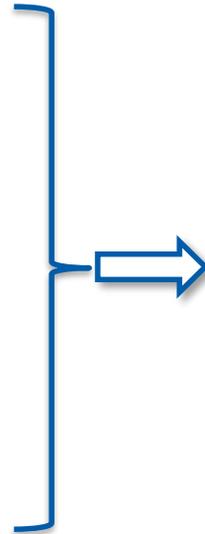
- Globules rouges
- Globules blancs
- Cellules épithéliales
- Cylindres hyalins
- Bactéries

La présence des éléments suivants génère un flag et une quantification de :

- Cristaux
- Levures ou éléments cellulaires ressemblant
- Petites cellules
- Cylindres pathologiques
- Mucus
- Spermatozoïdes

Flag uniquement pour :

- Globules rouges dysmorphiques
- Concentration de l'échantillon



Lecture microscopique manuelle pour confirmation et identification



# UF 1000 : Avantages et inconvénients

- **Avantages :**

- Technologie révolutionnaire à la fin des années 90 → rend l'automatisation possible
- Identification et quantification
- Volume d'échantillon
- Traçabilité des résultats
- Connexion informatique au LIMS
- Gain de temps
- Système expert intégrant les résultats de la tigette (automate compagnon) et de l'UF 1000 → tri des échantillons nécessitant une relecture manuelle

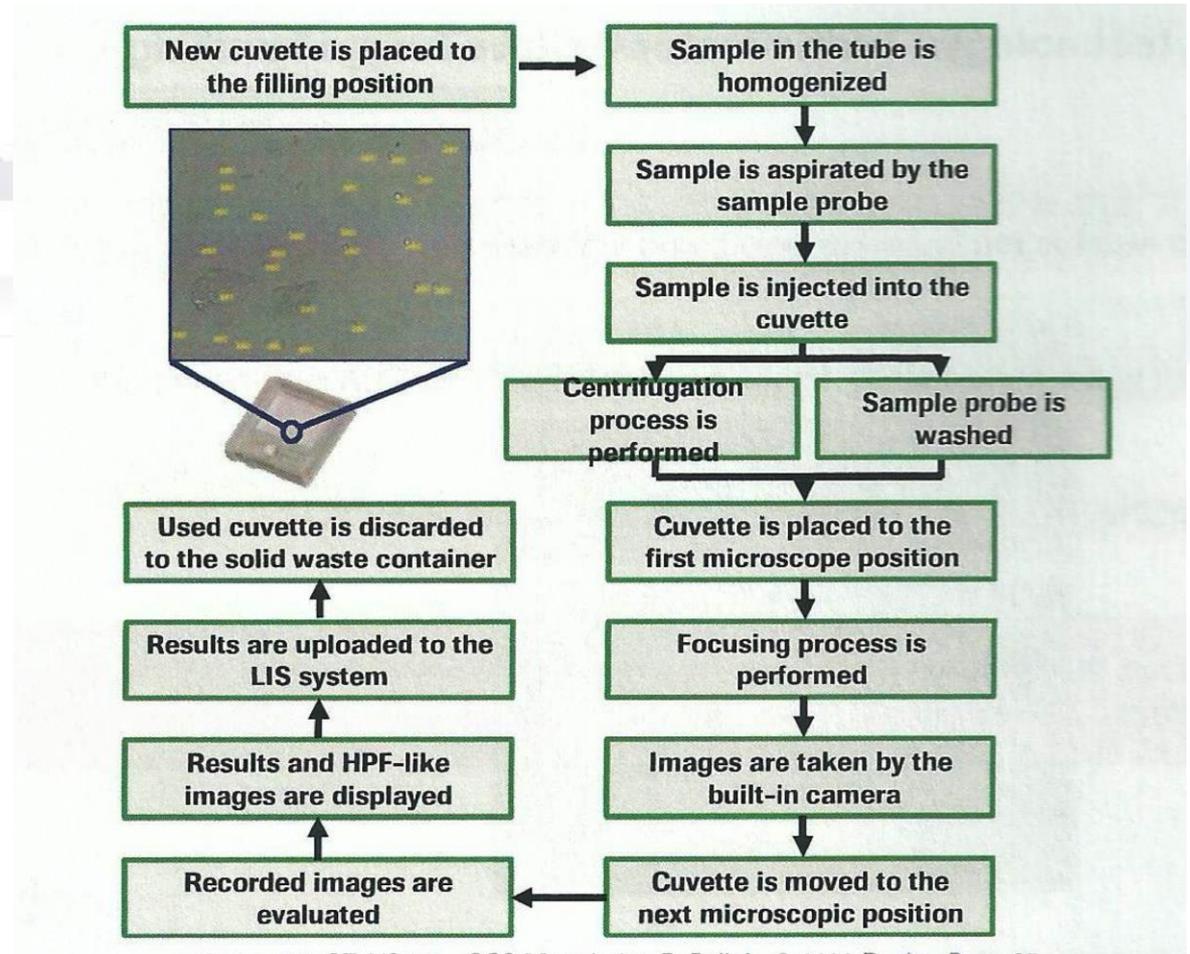
- **Inconvénients :**

- Taux de revues microscopiques important
- Interprétation des graphiques peu intuitive → on se fie au flag
- Beaucoup de réactifs
- Investissement
- Présence de cristaux pas toujours signalée : solubilisation dans les réactifs
- Globules rouges dysmorphiques et levures ?
- Nécessité d'adapter les lavages après les échantillons chargés pour éviter le carry-over



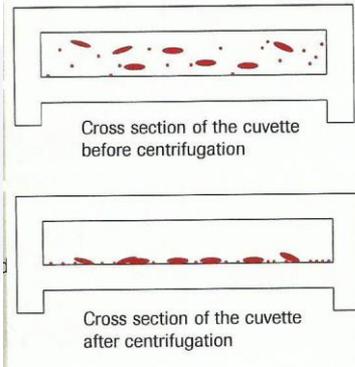
# Cobas 6500 : Principes de fonctionnement

Cobas 6500 : automate bimodulaire : u601 (tigettes) couplé au u701 (microscope)

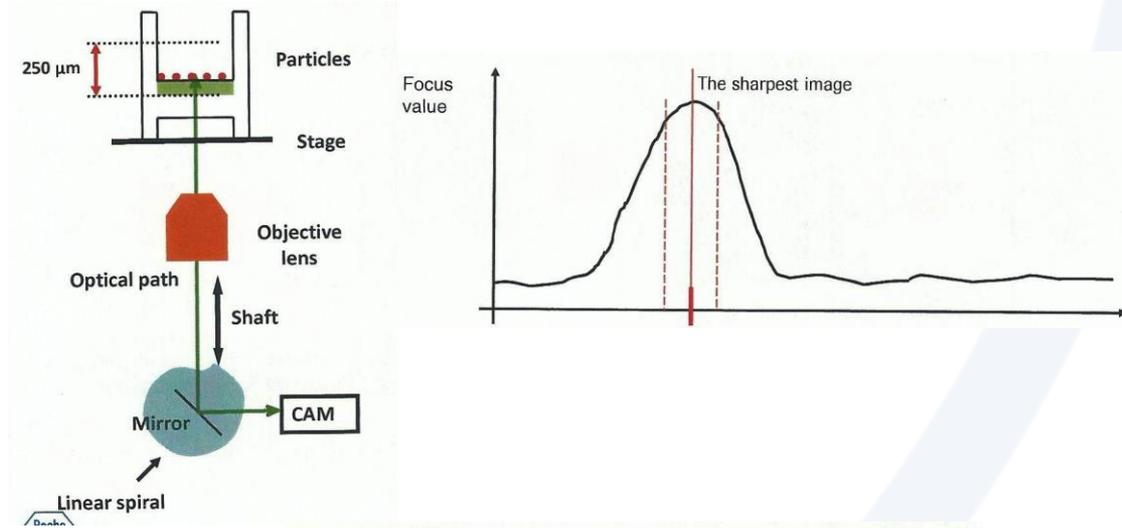


# Cobas 6500 : Principes de fonctionnement

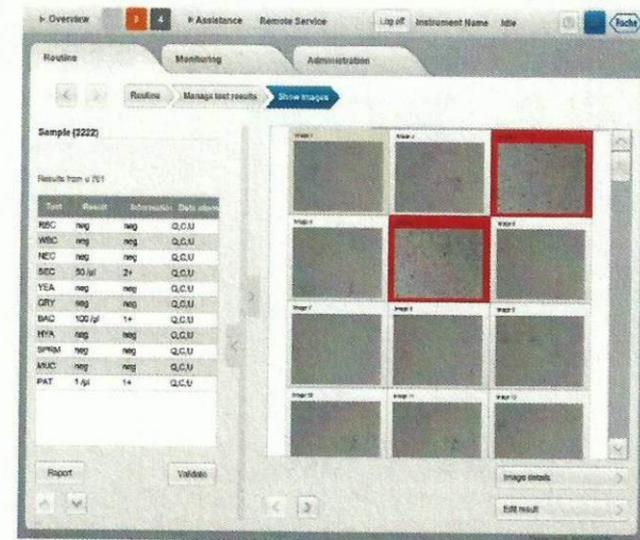
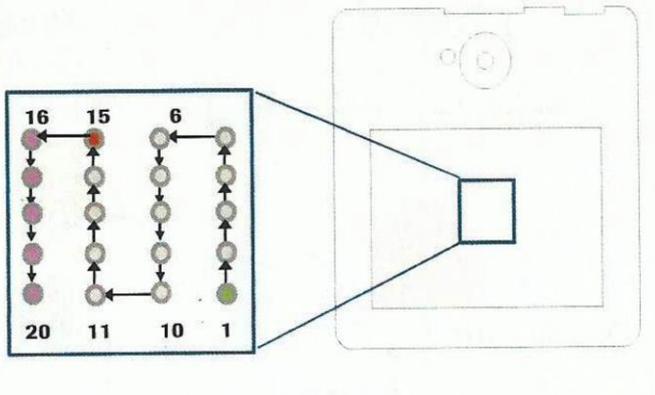
## Centrifugation



## Autofocusing

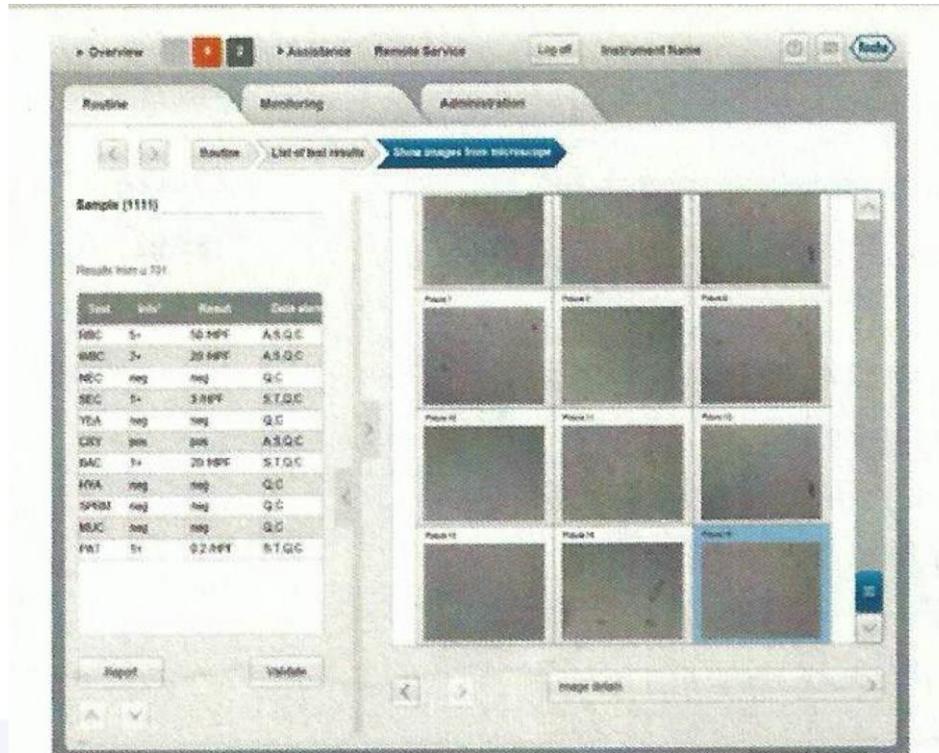
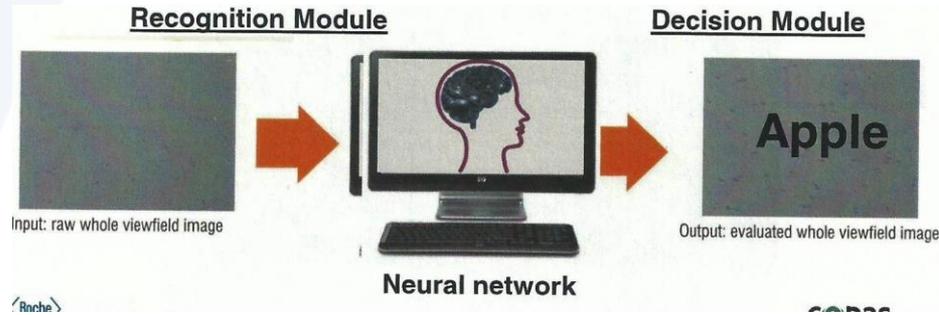


## Capture d'images

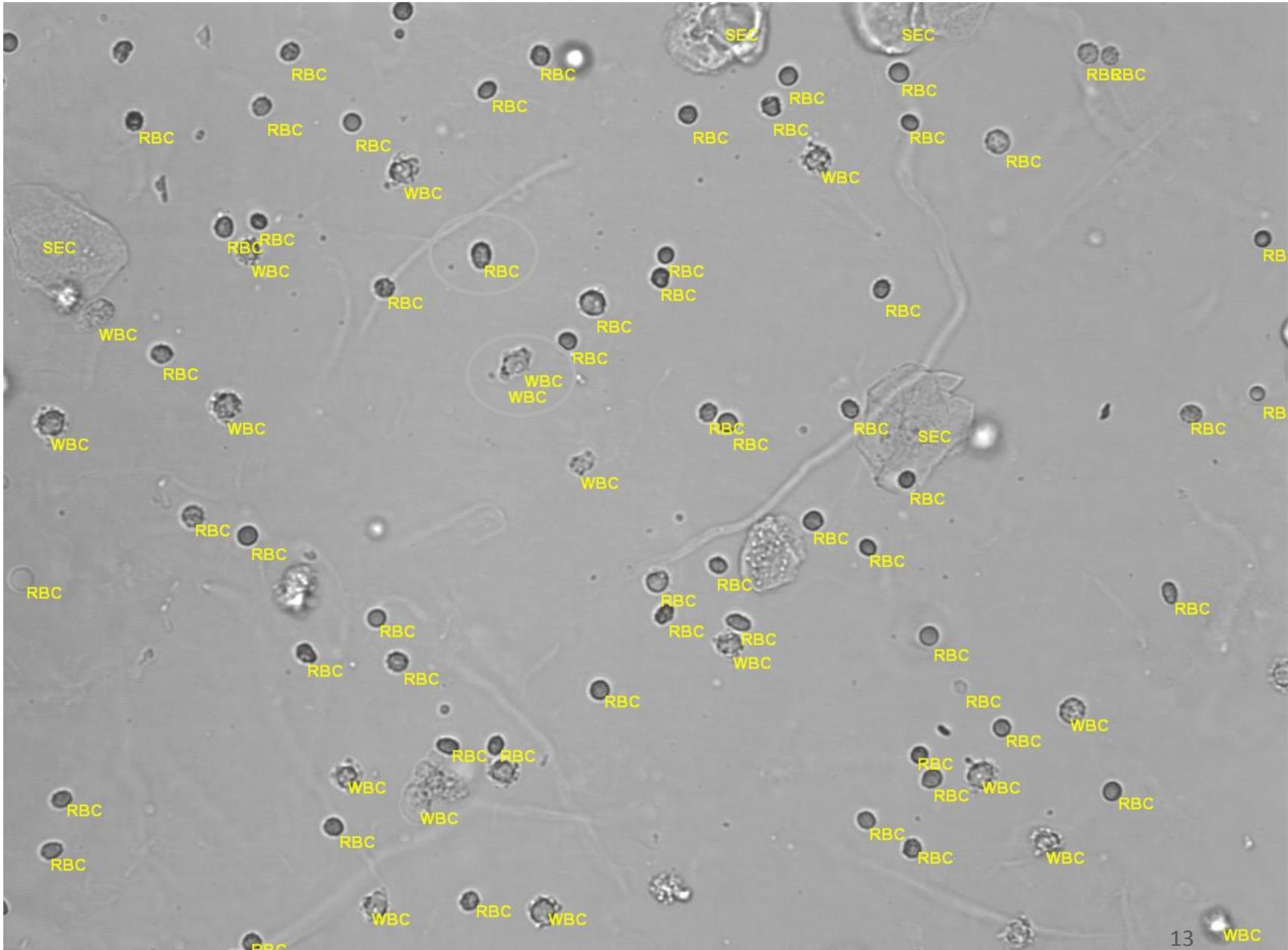


# Cobas 6500 : Principes de fonctionnement

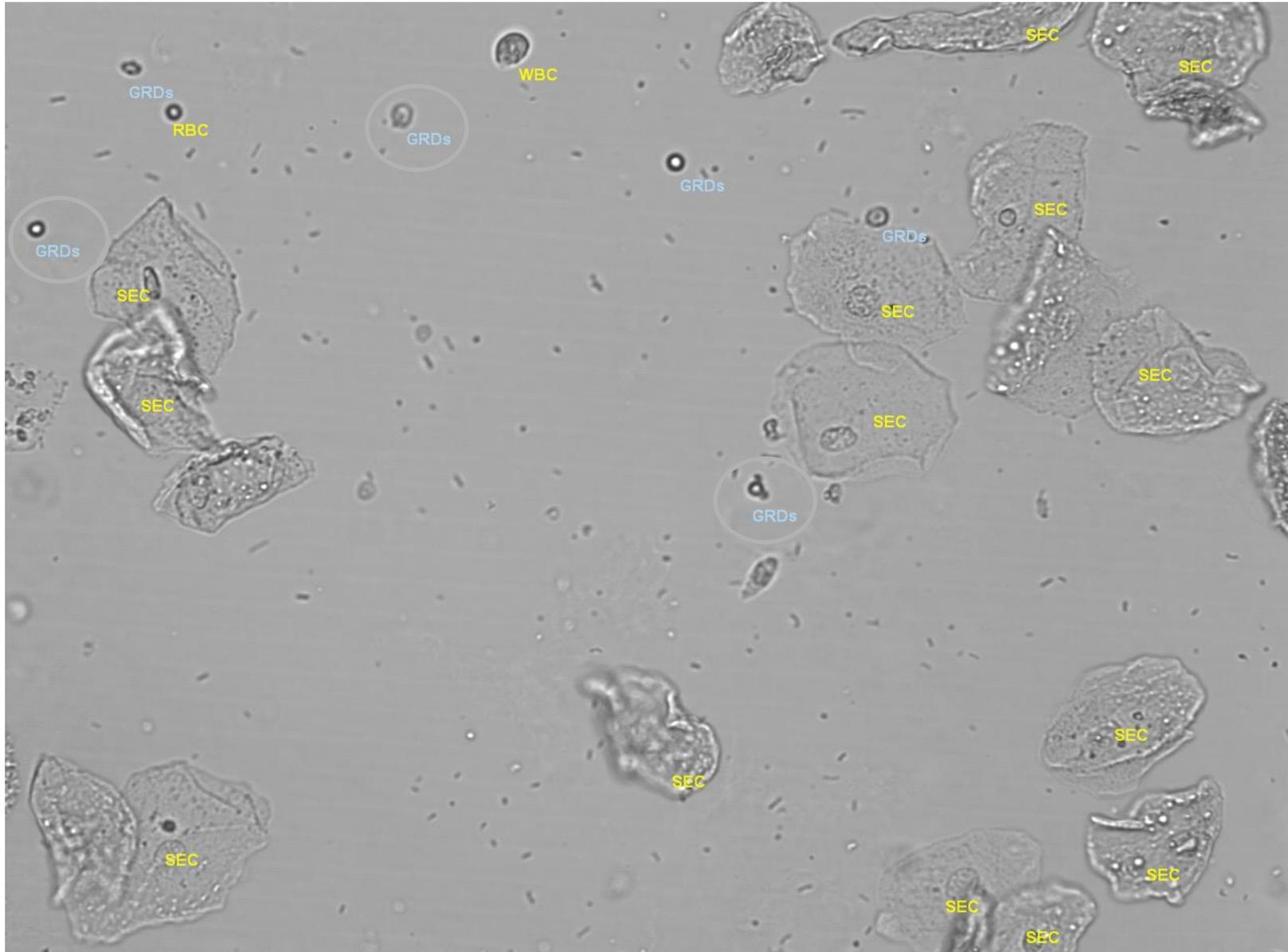
Evaluation des images et identification des éléments : AIEM Auto Image Evaluation Module



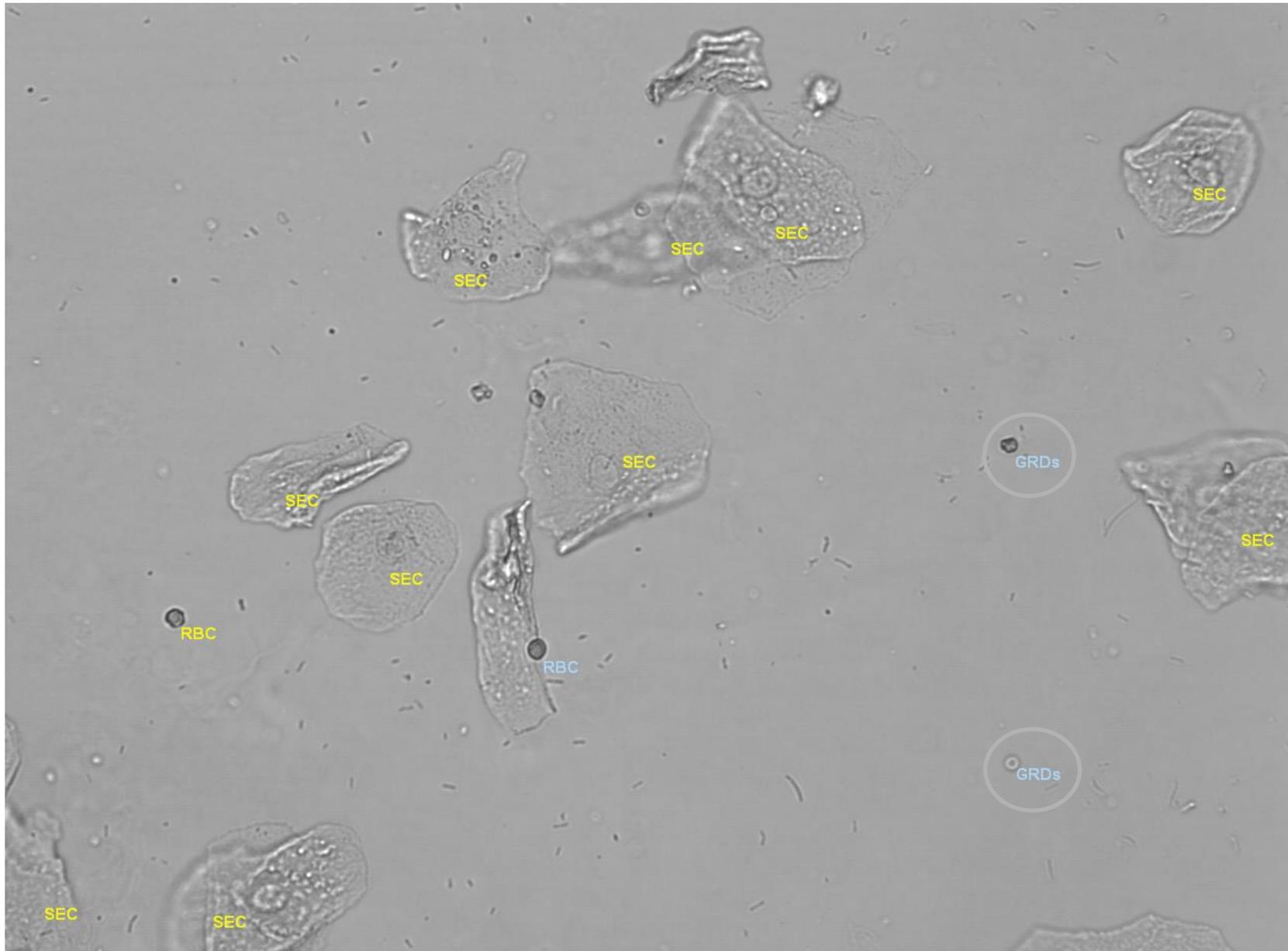
# Globules rouges (RBC) et globules blancs (WBC)



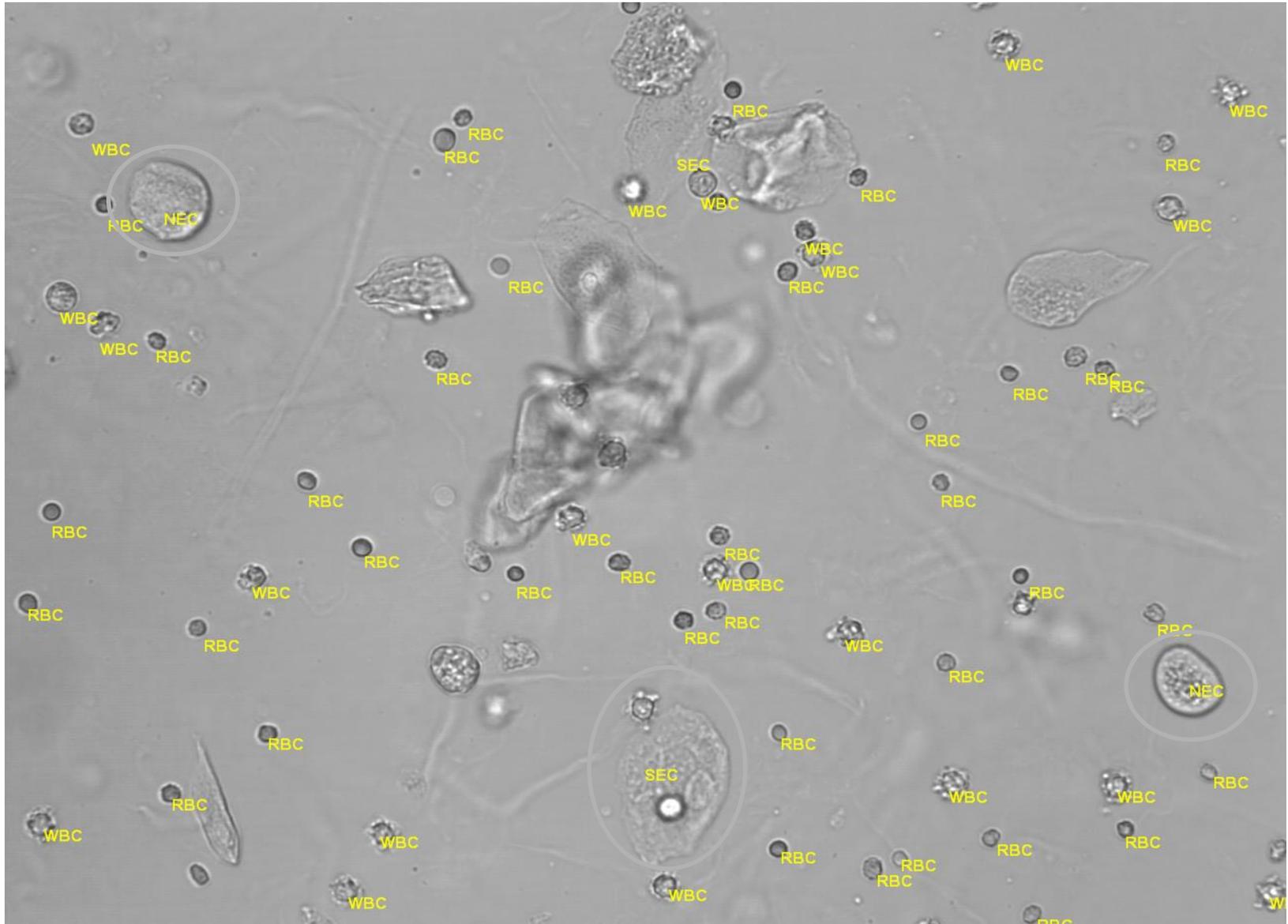
# Globules rouges dysmorphiques (GRDs)



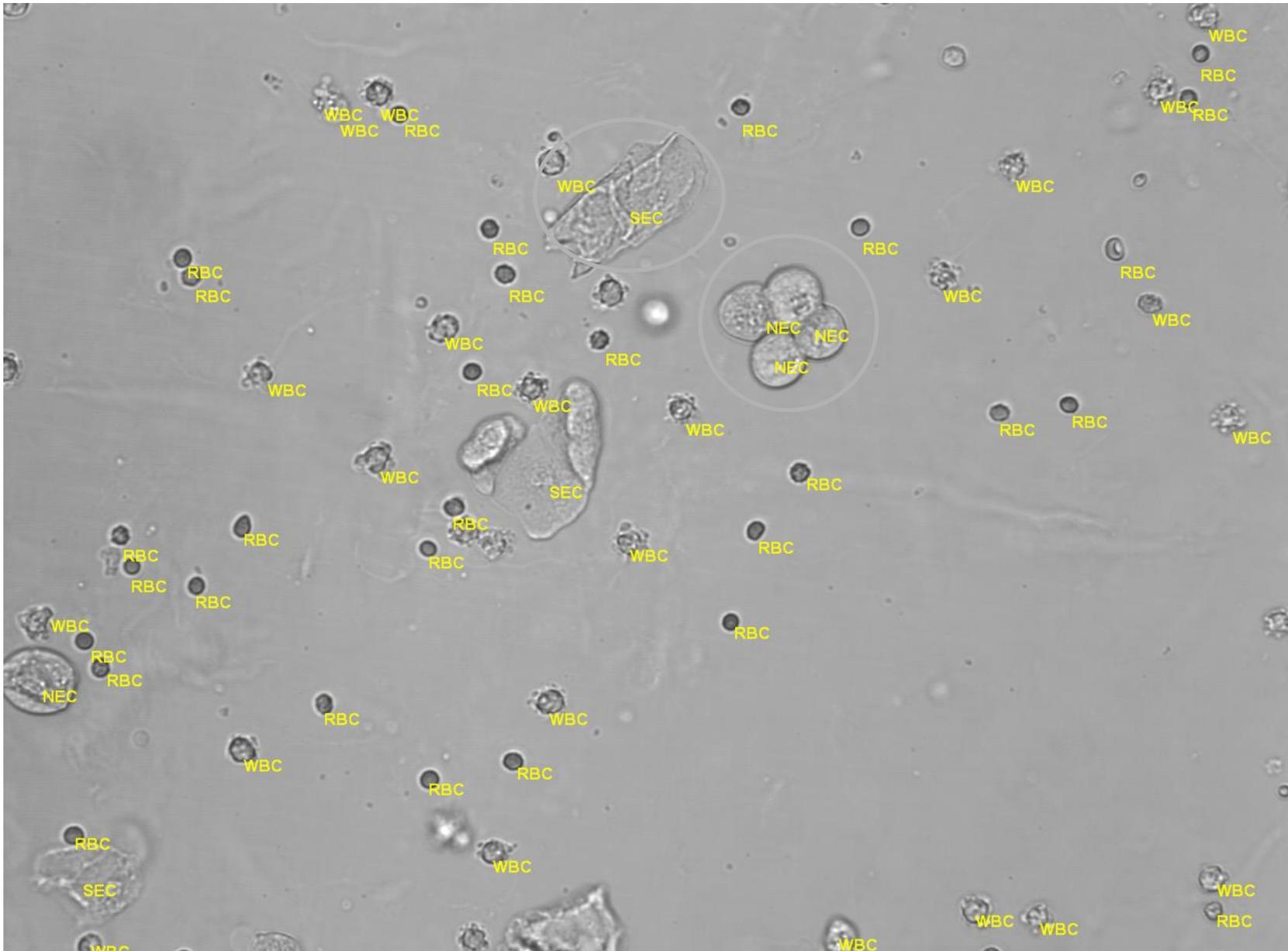
# Globules rouges dysmorphiques (GRDs)



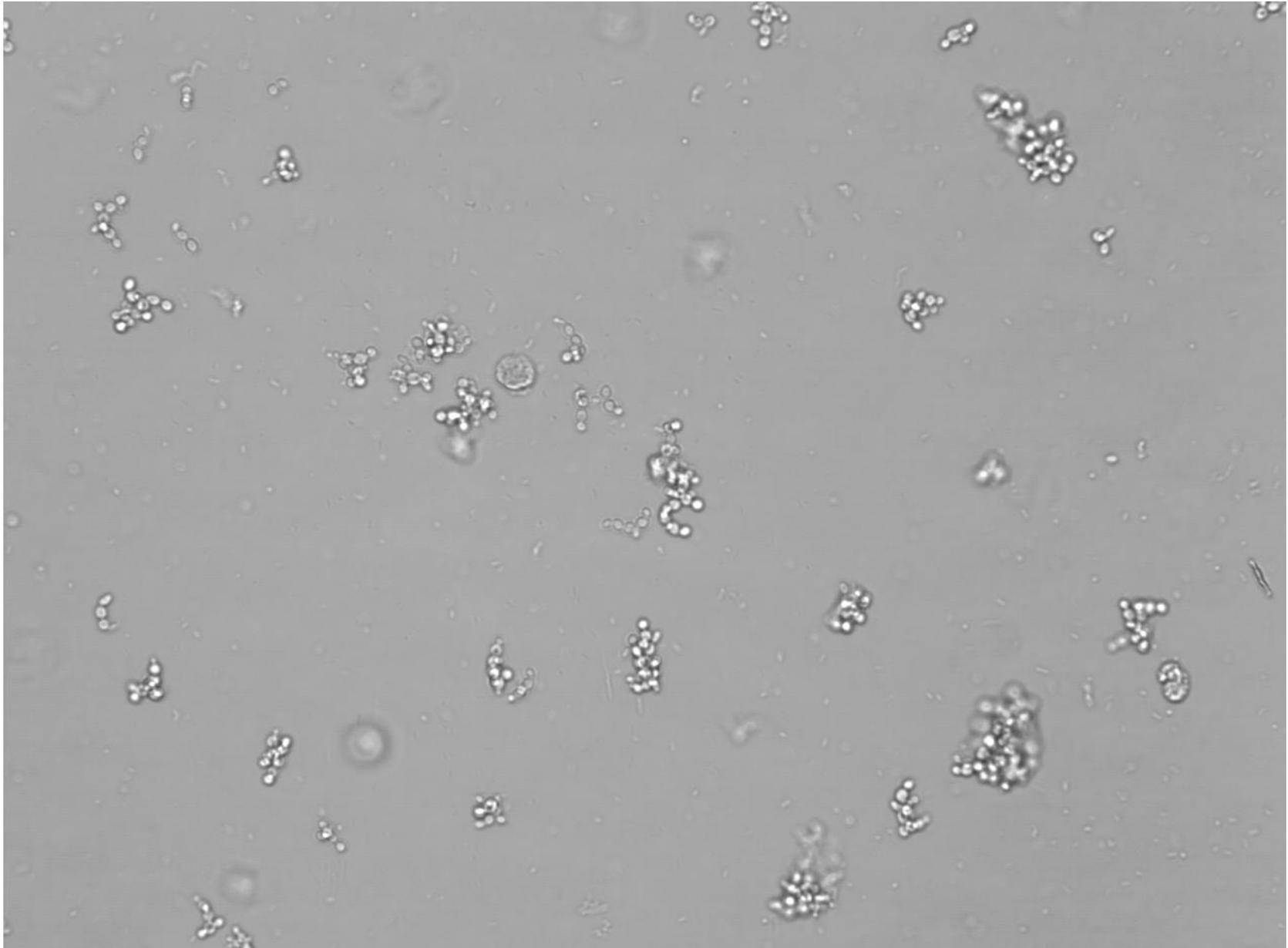
# Cellules épithéliales squameuses (SEC) et non squameuses (NEC)



# Cellules épithéliales squameuses (SEC) et non squameuses (NEC)

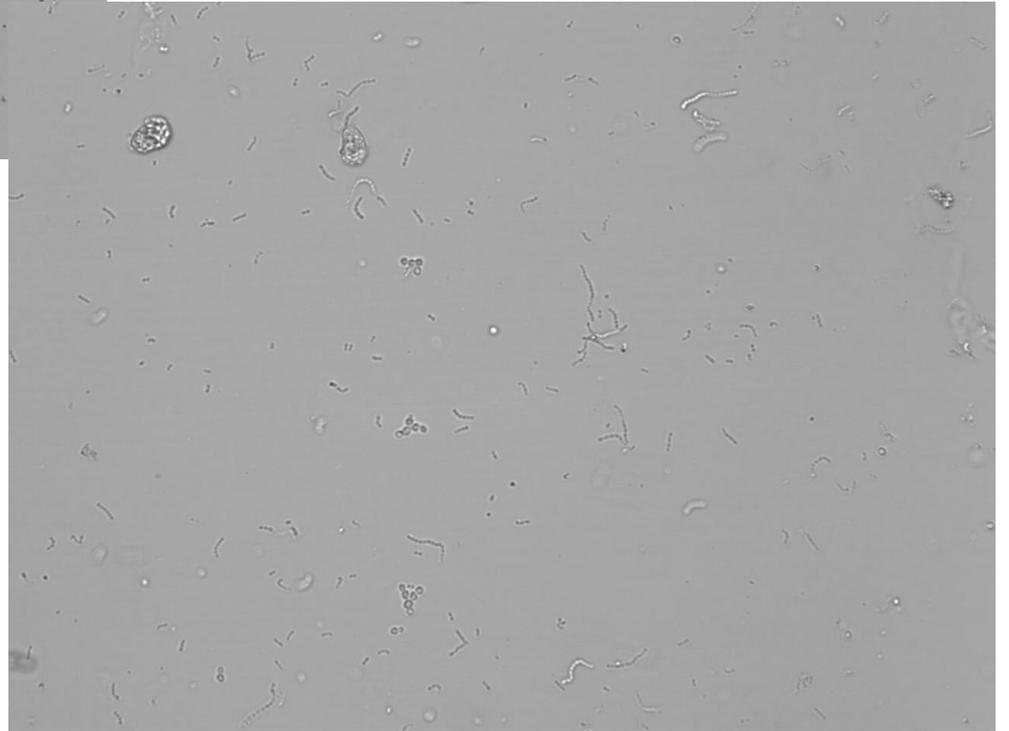
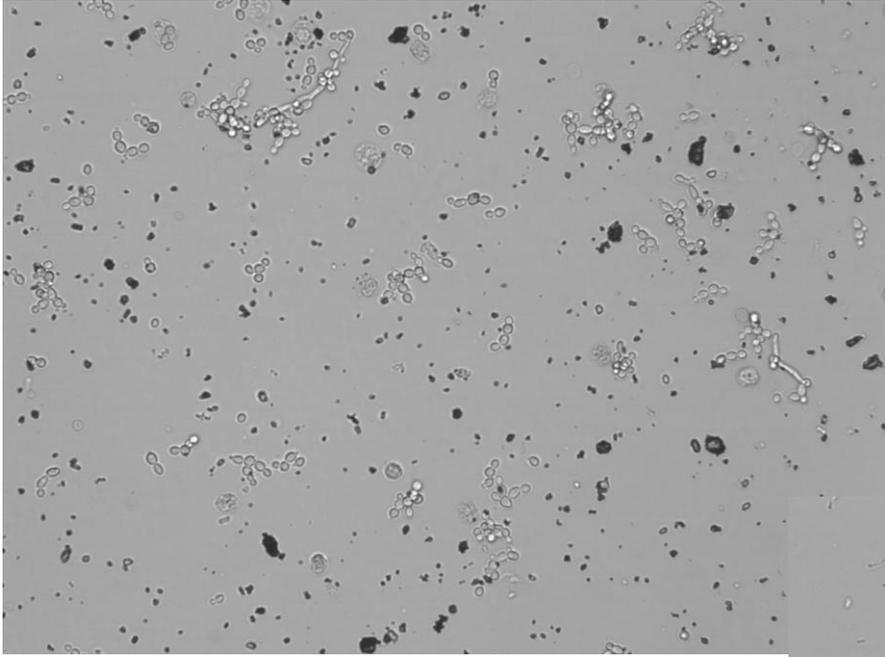


## Levures (YEA)

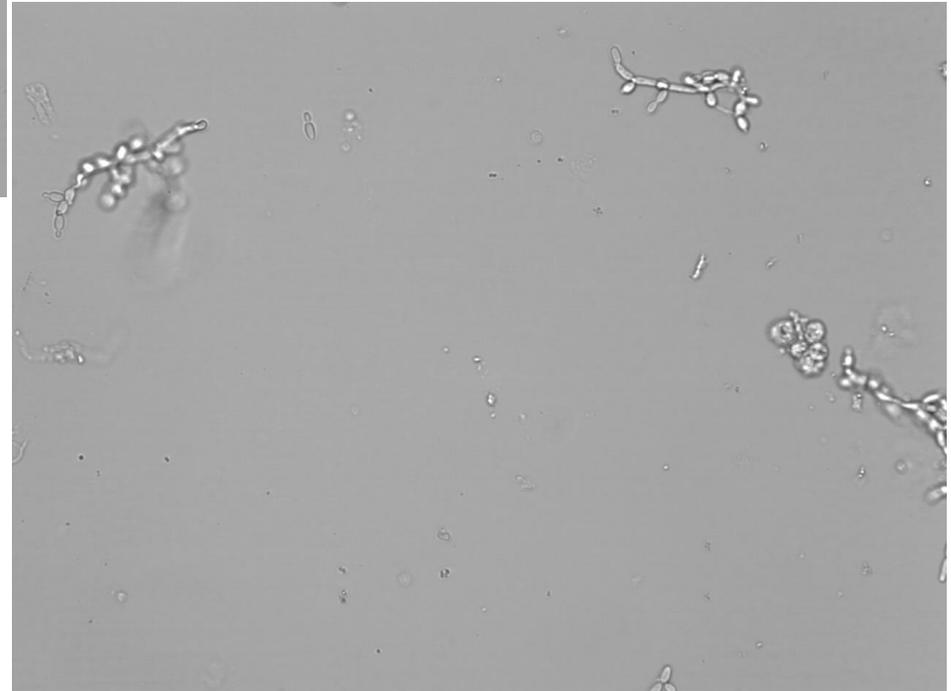


# Levures (YEA)

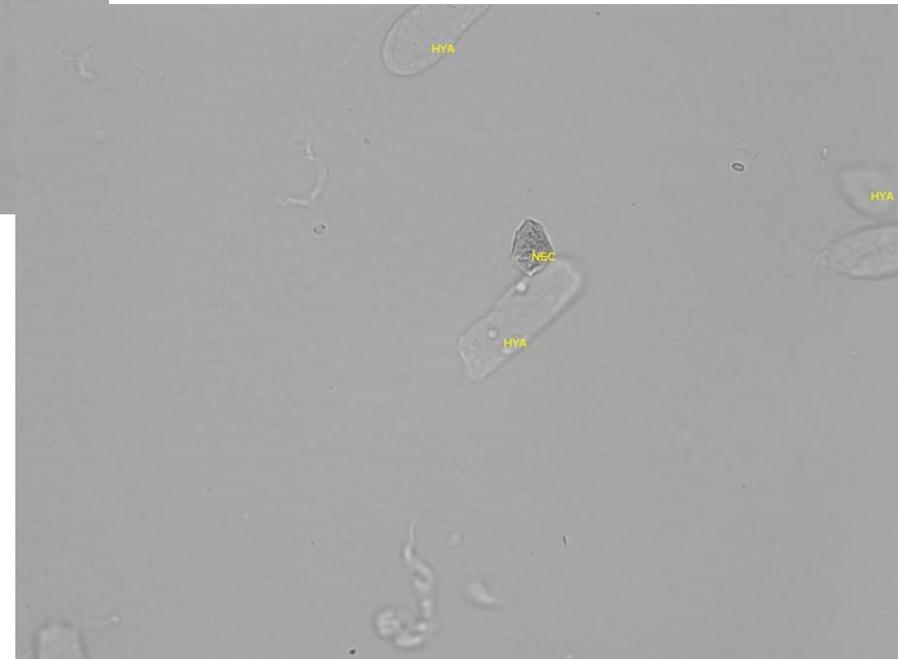
---



# Mycelium

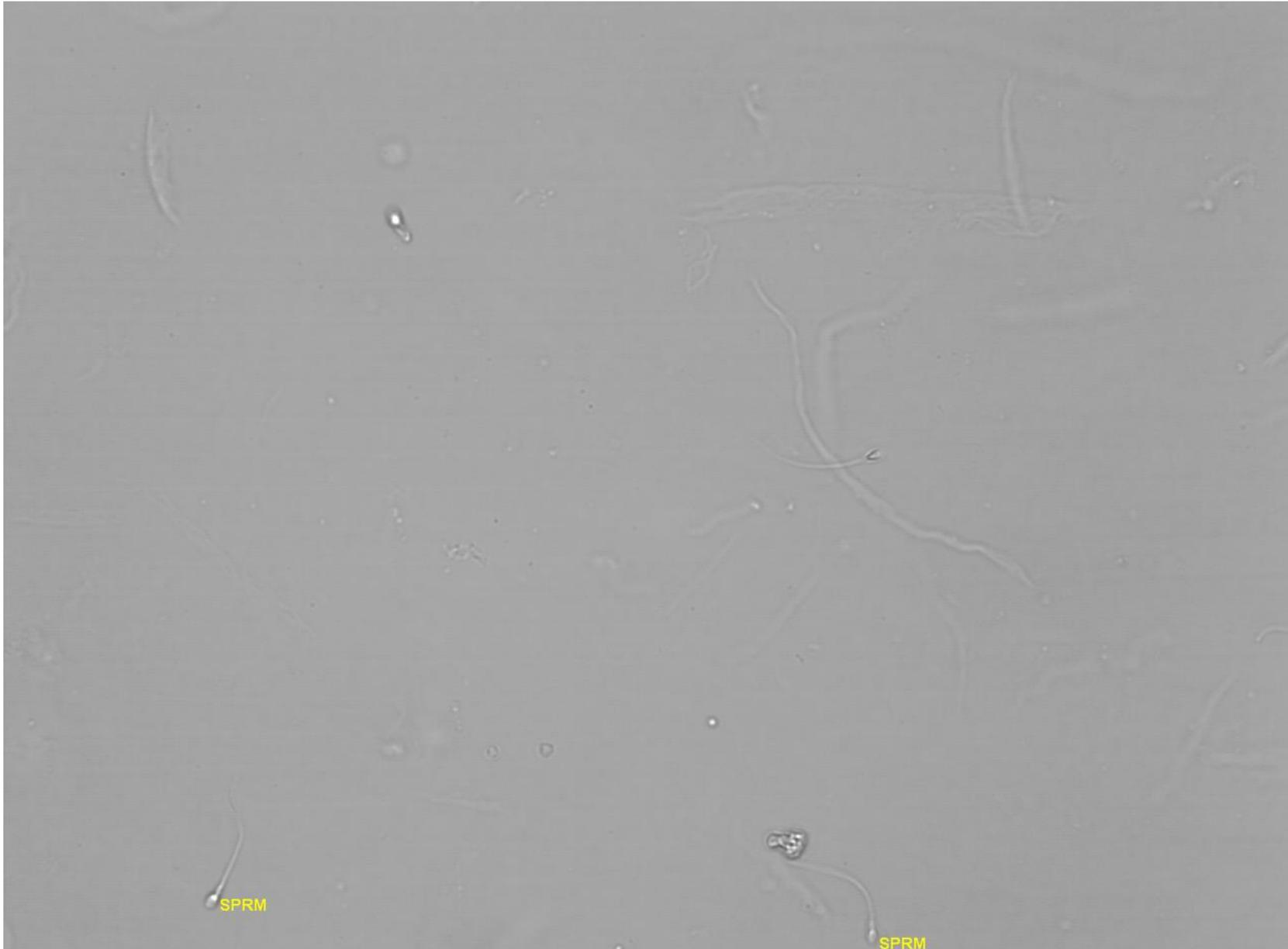


# Cylindres hyalins



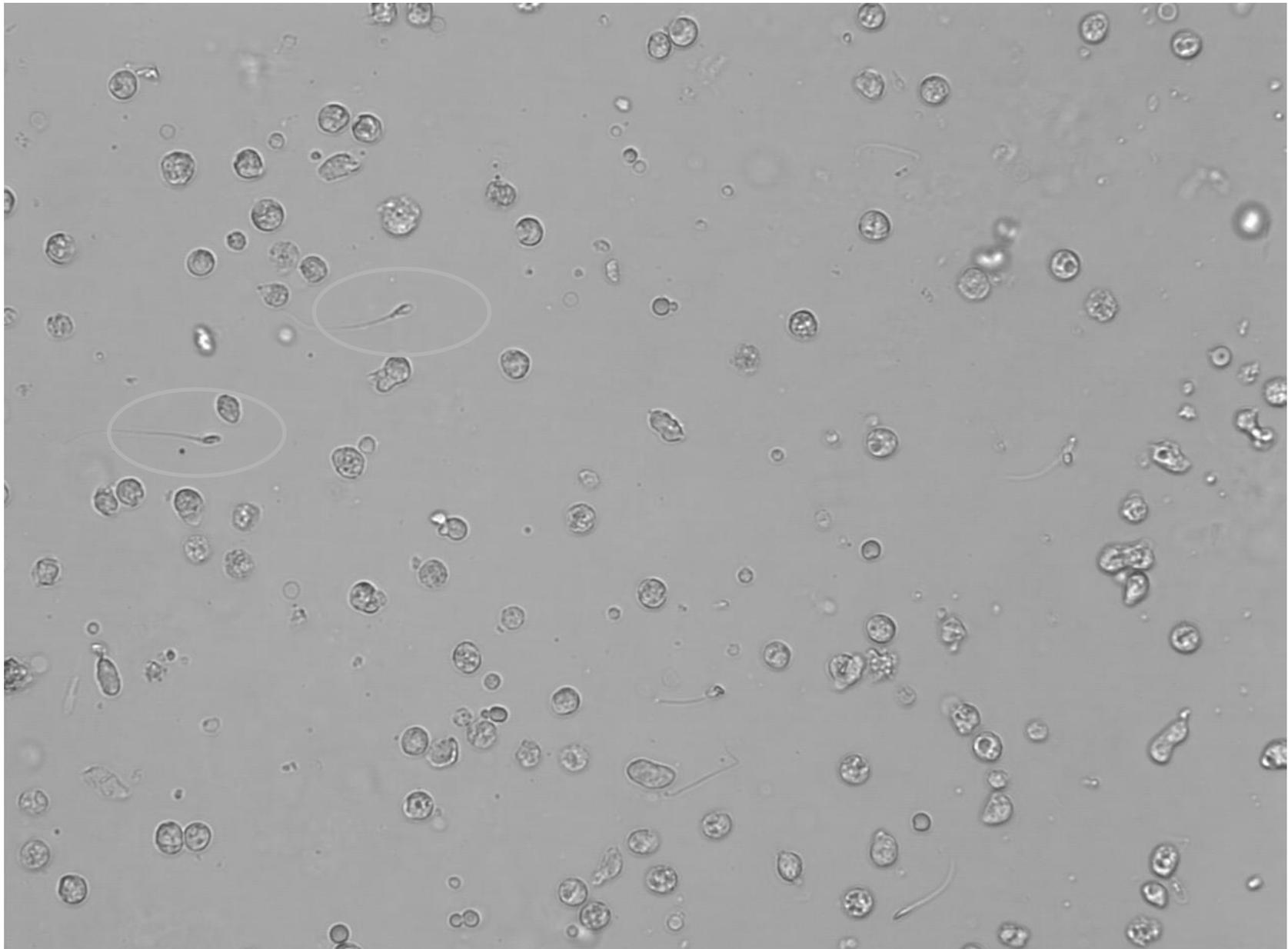
# Spermatozoïdes (SPRM)

---

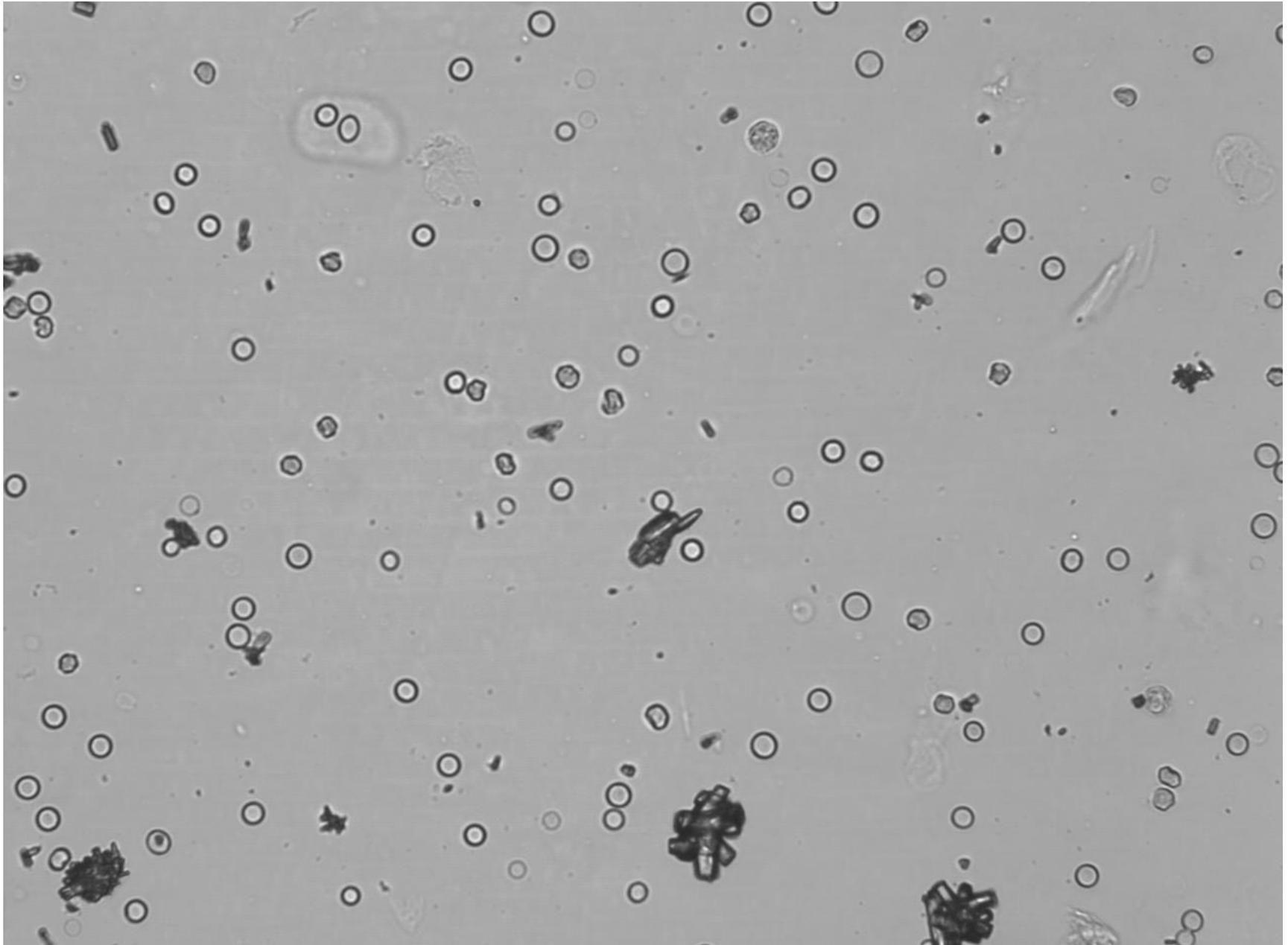


## Spermatozoïdes (SPRM)

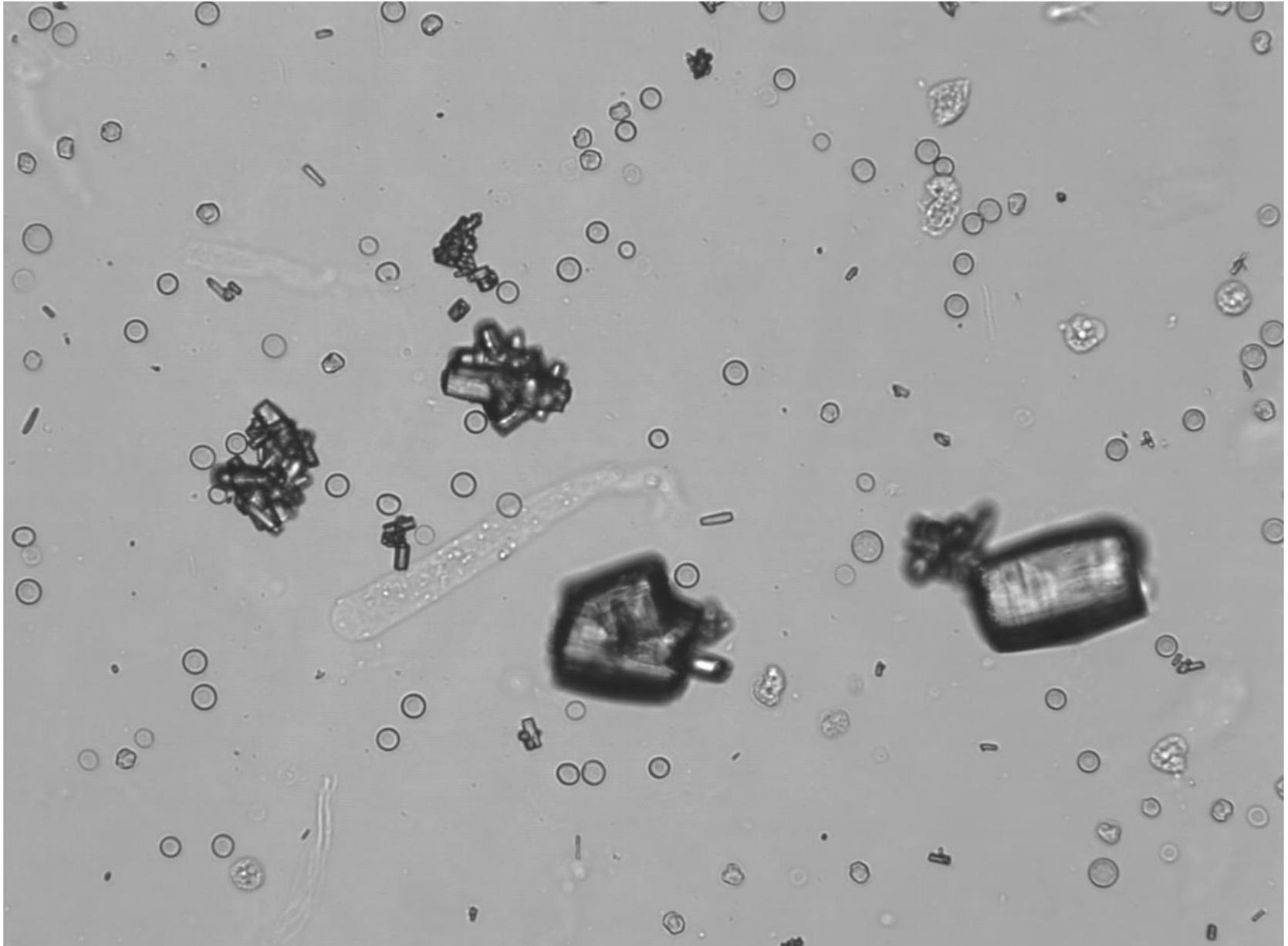
---



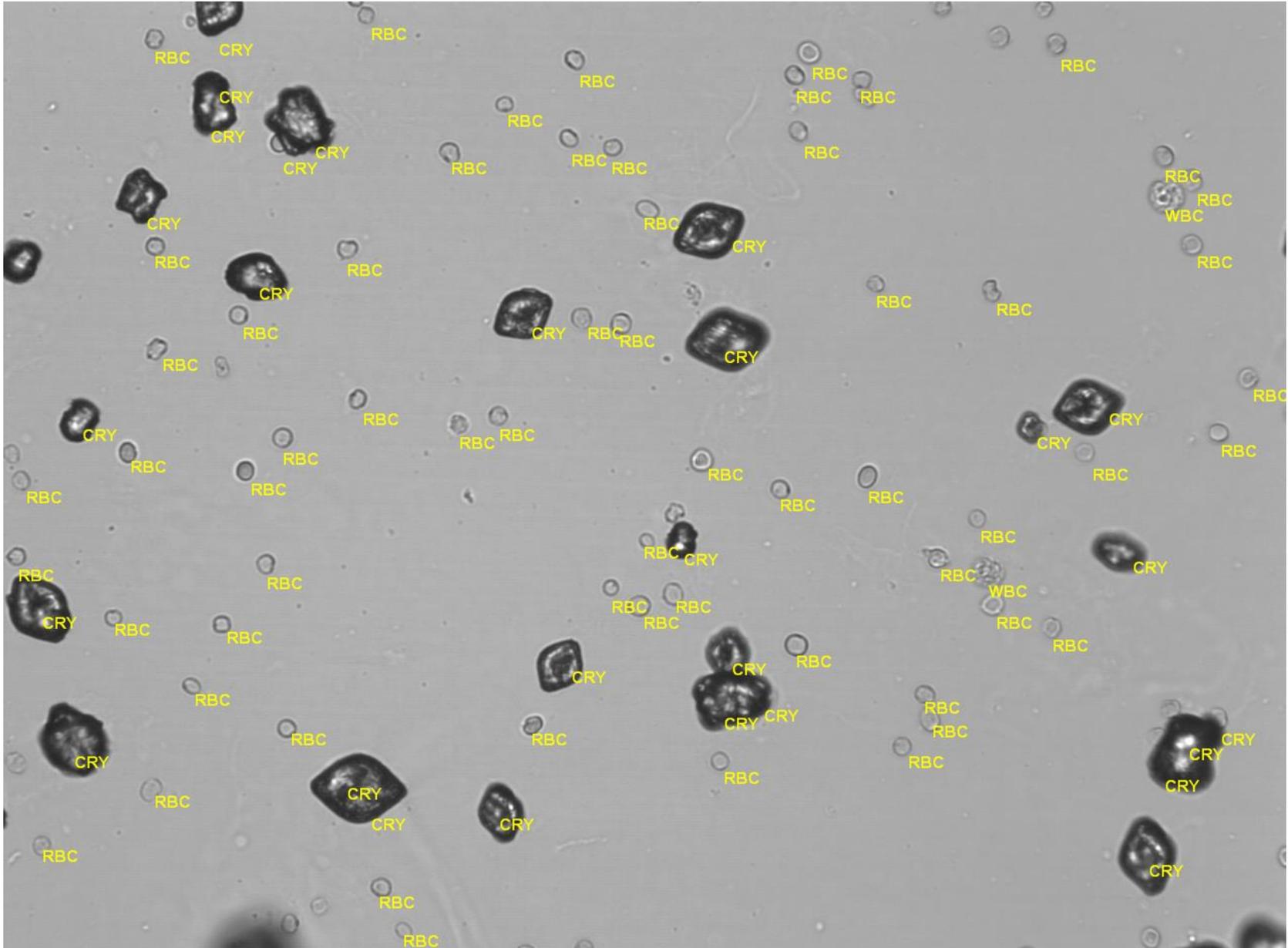
## Acide urique (URICs)



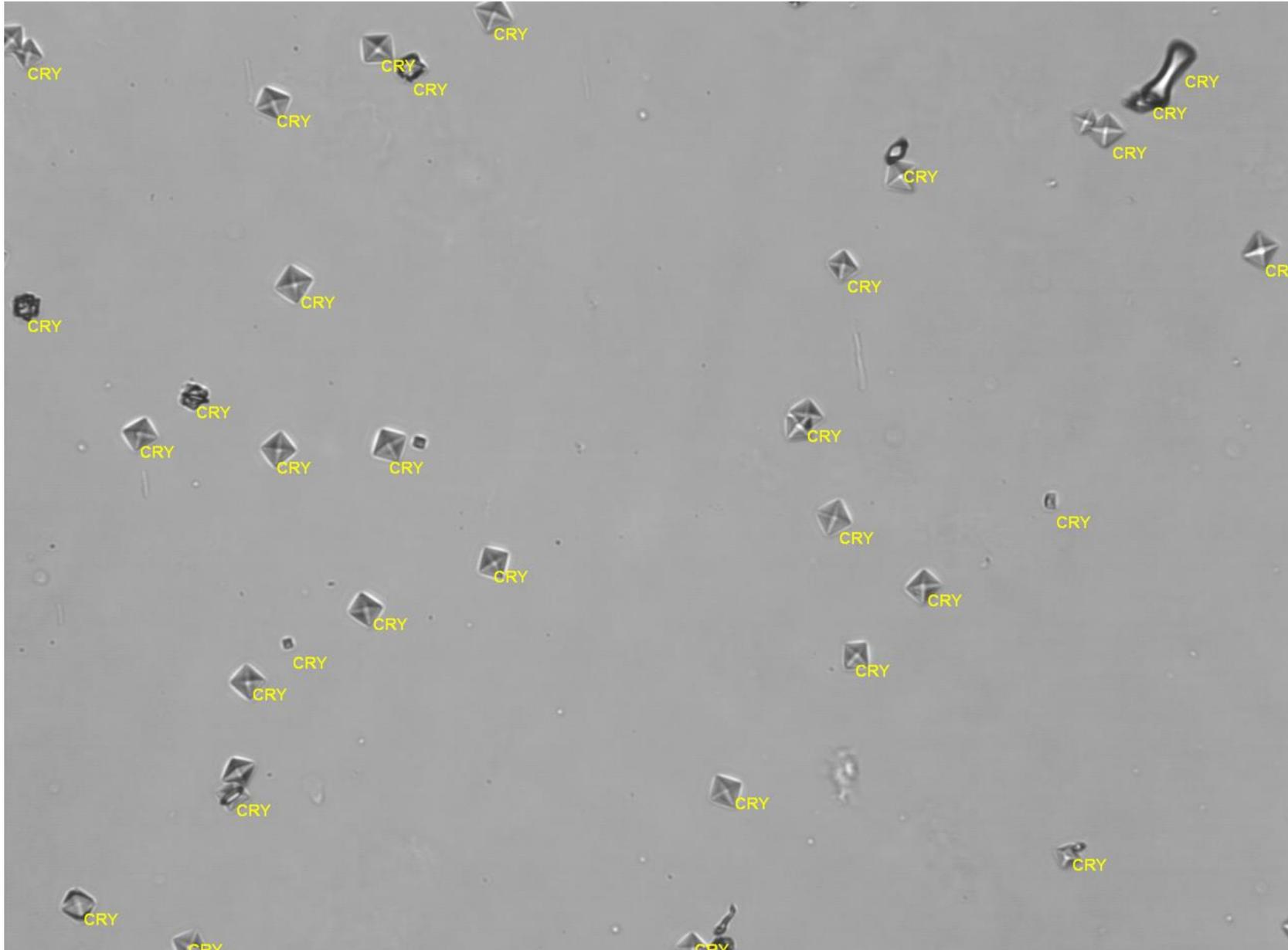
## Acide urique (URICs)



# Acide urique (URICs)

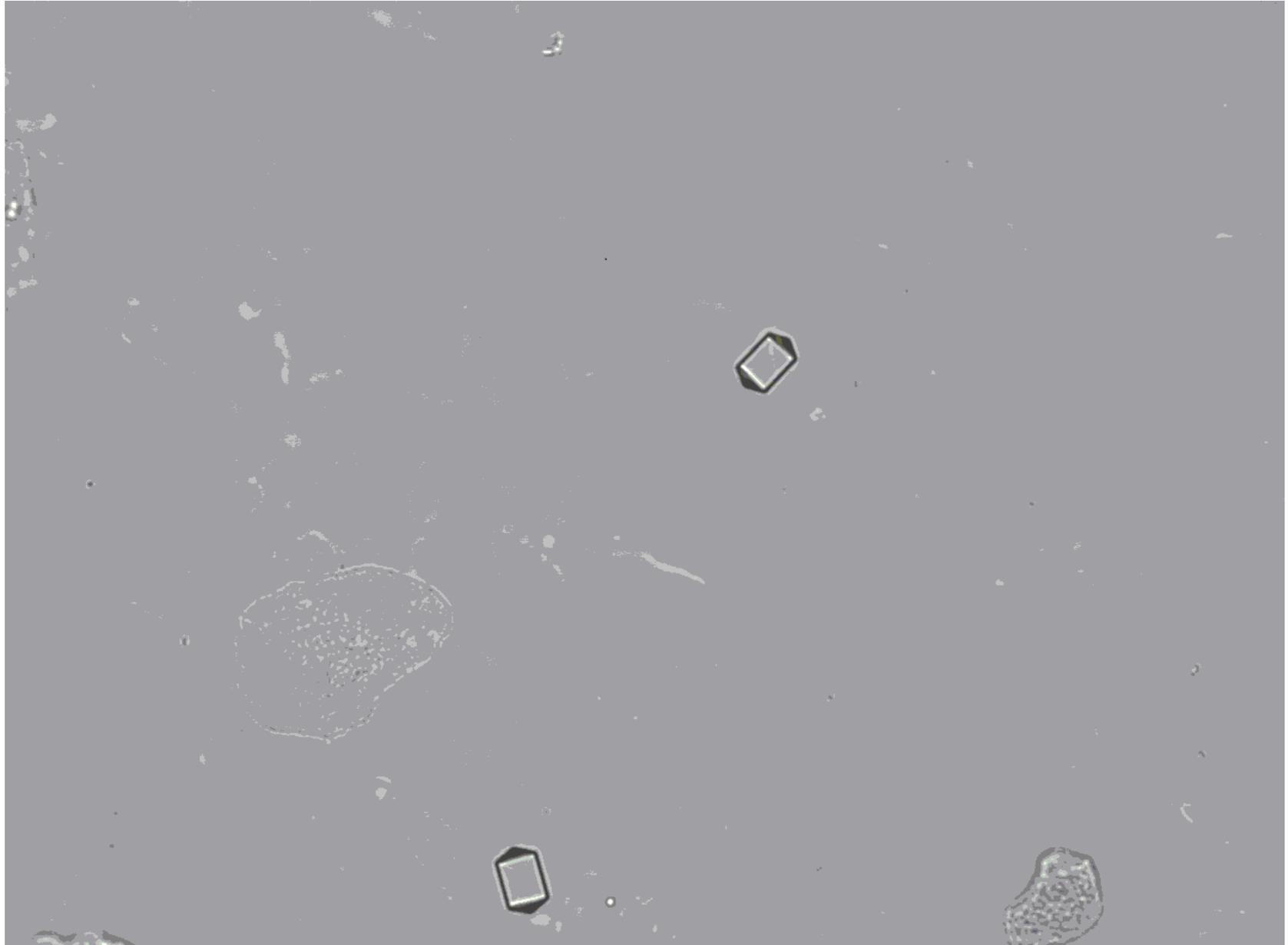


# Cristaux d'oxalate de calcium (OXACAs)



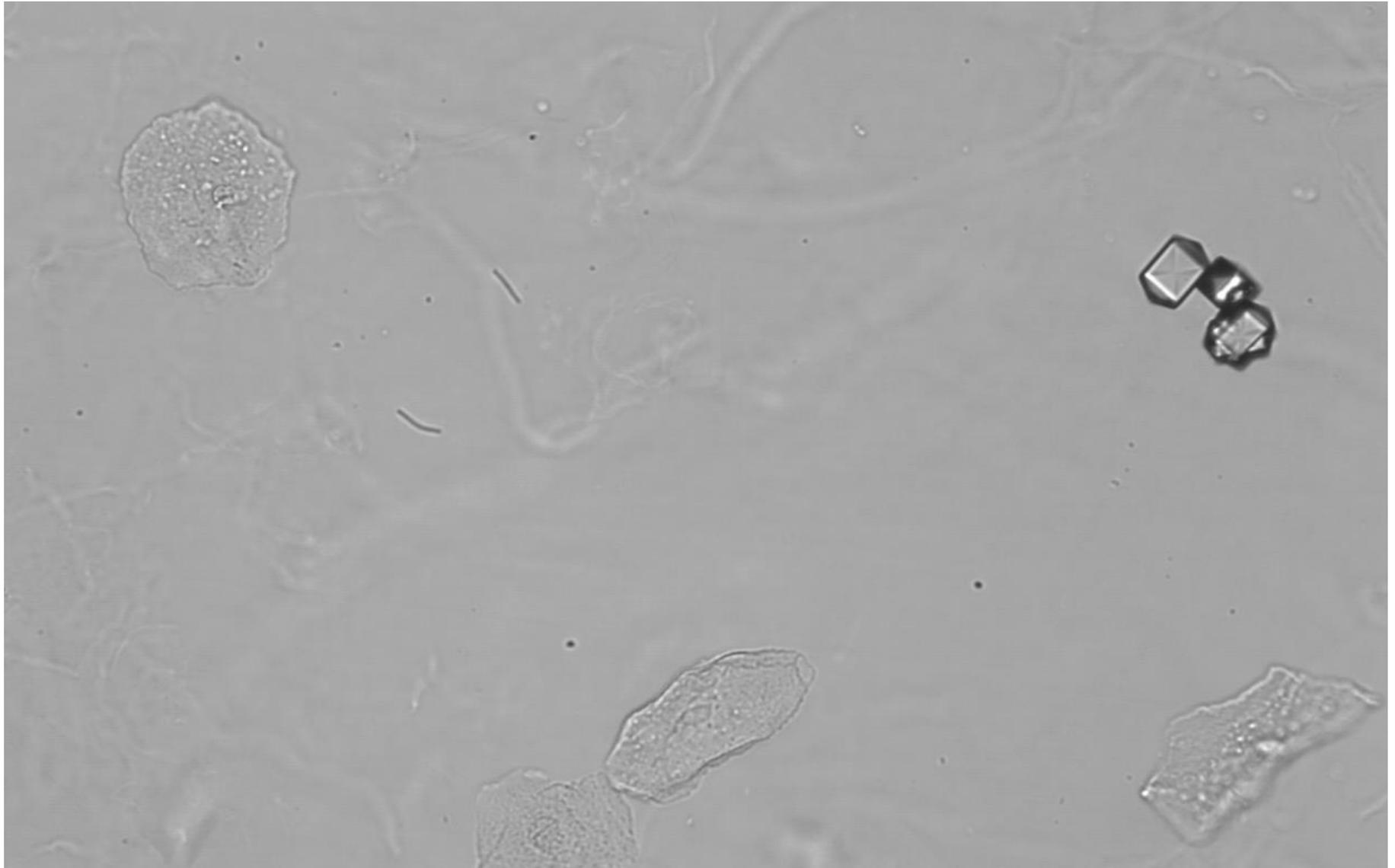
## Cristaux d'oxalate de calcium (OXACAs)

---

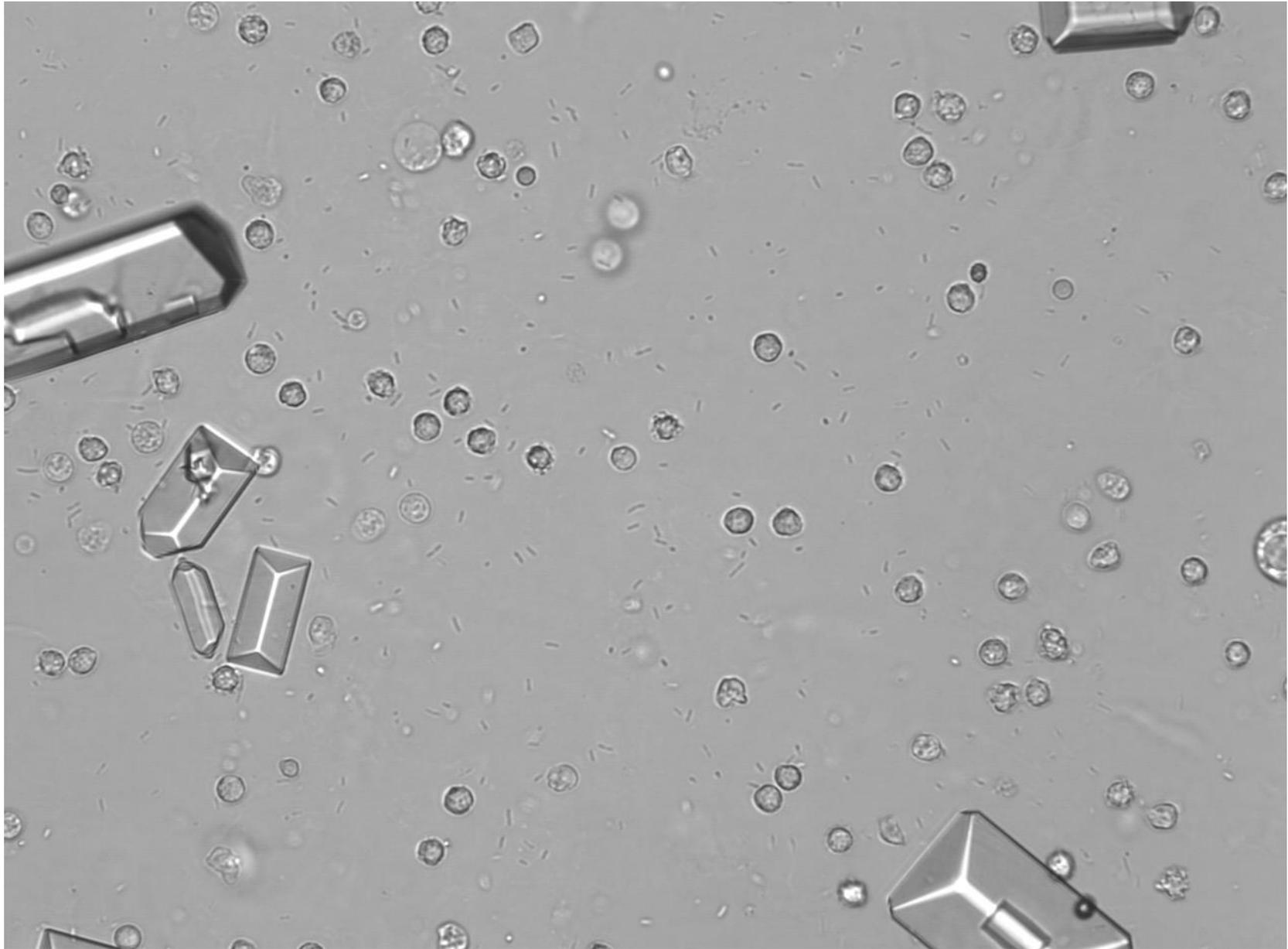


## Cristaux d'oxalate de calcium (OXACAs)

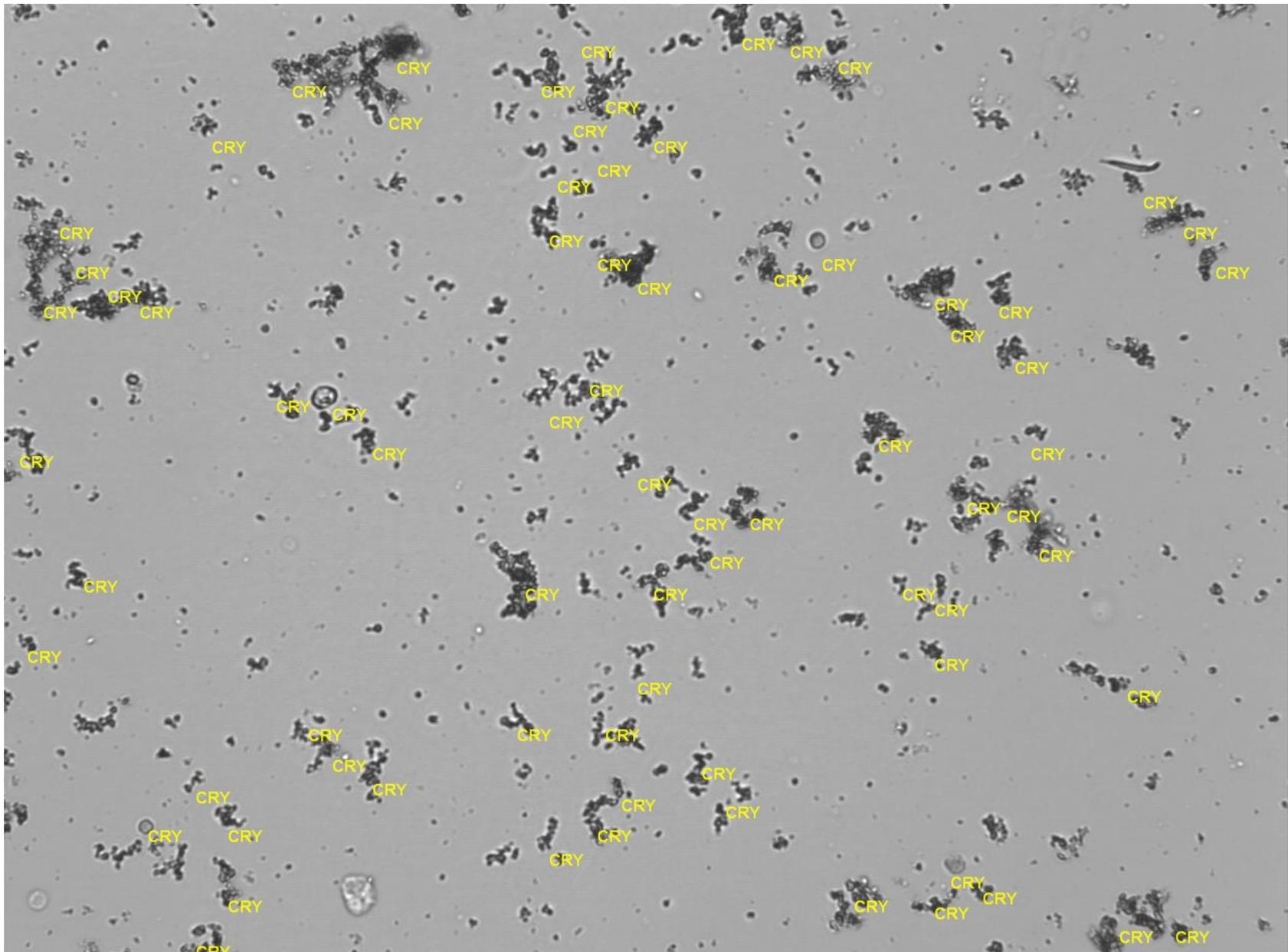
---



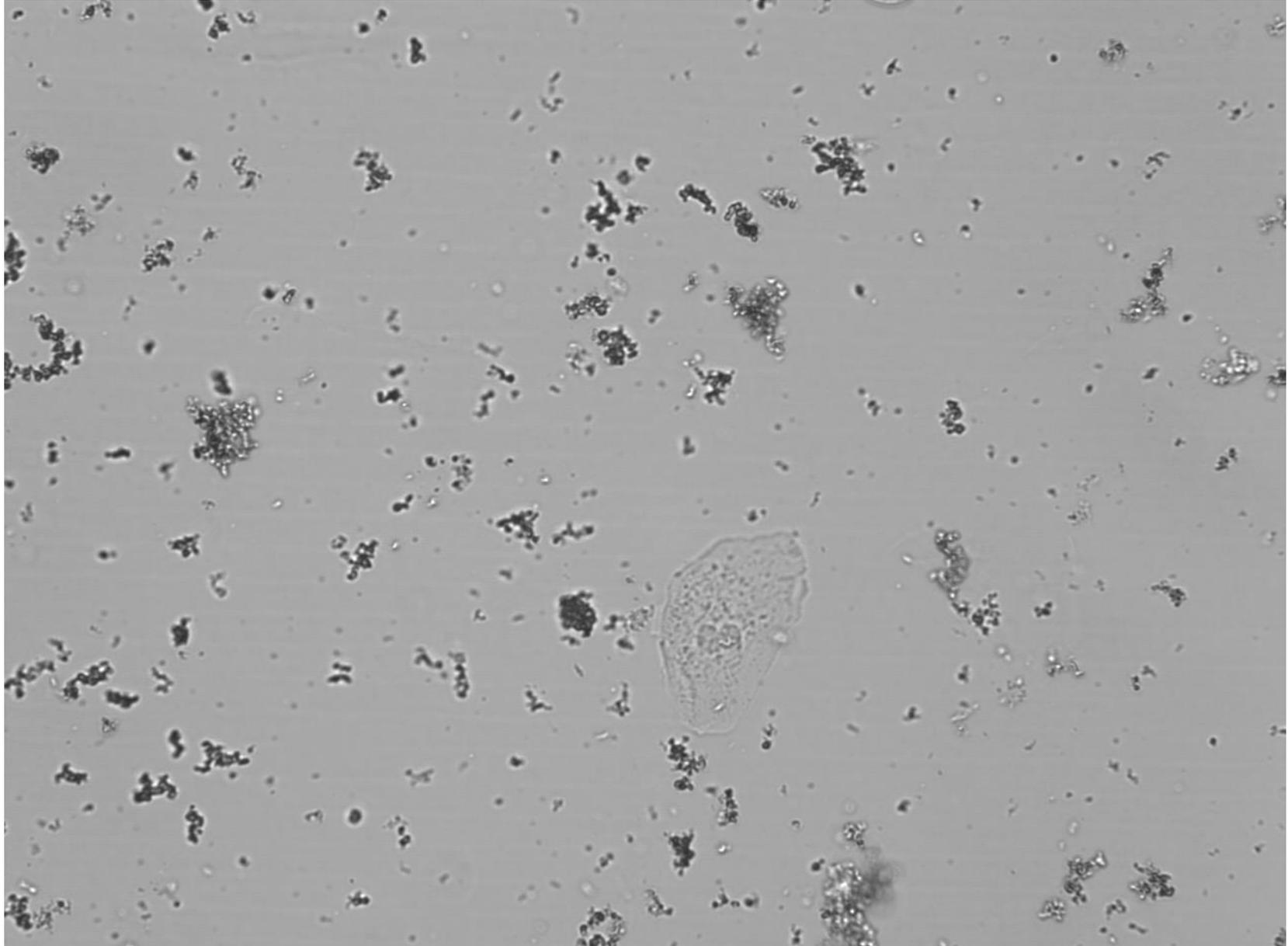
# Phosphate ammoniaco-magnésien (AMMGs)



# Phosphate amorphe (PHAMs)



## Cristaux d'urate d'amorphes (URAMs)



# Cobas 6500 : Avantages et inconvénients

- **Avantages :**

- Technologie de type « microscope » → image proche du microscope manuel
- Identification et quantification pour les GB, GR, Bactéries
- Traçabilité des résultats
- Connexion informatique au middleware CITM
- Gain de temps
- Système expert intégrant les résultats de la tigette et ceux du microscope → nécessité de déterminer ses propres règles
- Relecture manuelle à l'écran : conservation des images
- Customisation des catégories de cristaux, cylindres mais intrégration des éléments dans les sous-catégories manuellement
- Support à la formation : bibliothèque d'images internes au laboratoire

- **Inconvénients :**

- Taux de revues microscopiques important : cylindres, cristaux, levures, dysmorphiques ... → mais la relecture se fait à l'écran
- Validation automatique pour les résultats négatifs mais nécessaire de revoir les positifs
- Mémoire pour le stockage des images
- Pas possible d'enrichir la bibliothèque du système



# Notre expérience du sédiment urinaire aux CUSL

- Avant 2001 : 4 technologues + équipe de garde pour environ 200 prélèvements par jour → sédiment totalement manuel
- 2001 : début de l'automatisation → UF-100 couplé à un lecteur de tigettes Menarini

## MAIS :

- > 40% des échantillons sont relus au microscope
  - A la demande pour les néphrologues, les recherches spécifiques sont réalisées au microscope en plus du résultat automatisé
  - L'UF-100 n'est pas utilisé durant la nuit (sédiment manuel)
- 2007 : Remplacement de l'UF-100 par l'UF-1000
    - Tous les prélèvements sont analysés sur l'UF-1000 et relus au microscope si nécessaire
    - Seuls les échantillons urgents sont analysés 24h/24



# Situation actuelle de l'analyse du sédiment urinaire

Laboratoire de microbiologie  
UF-1000 + Aution Max  
Routine et urgences, 8-16h



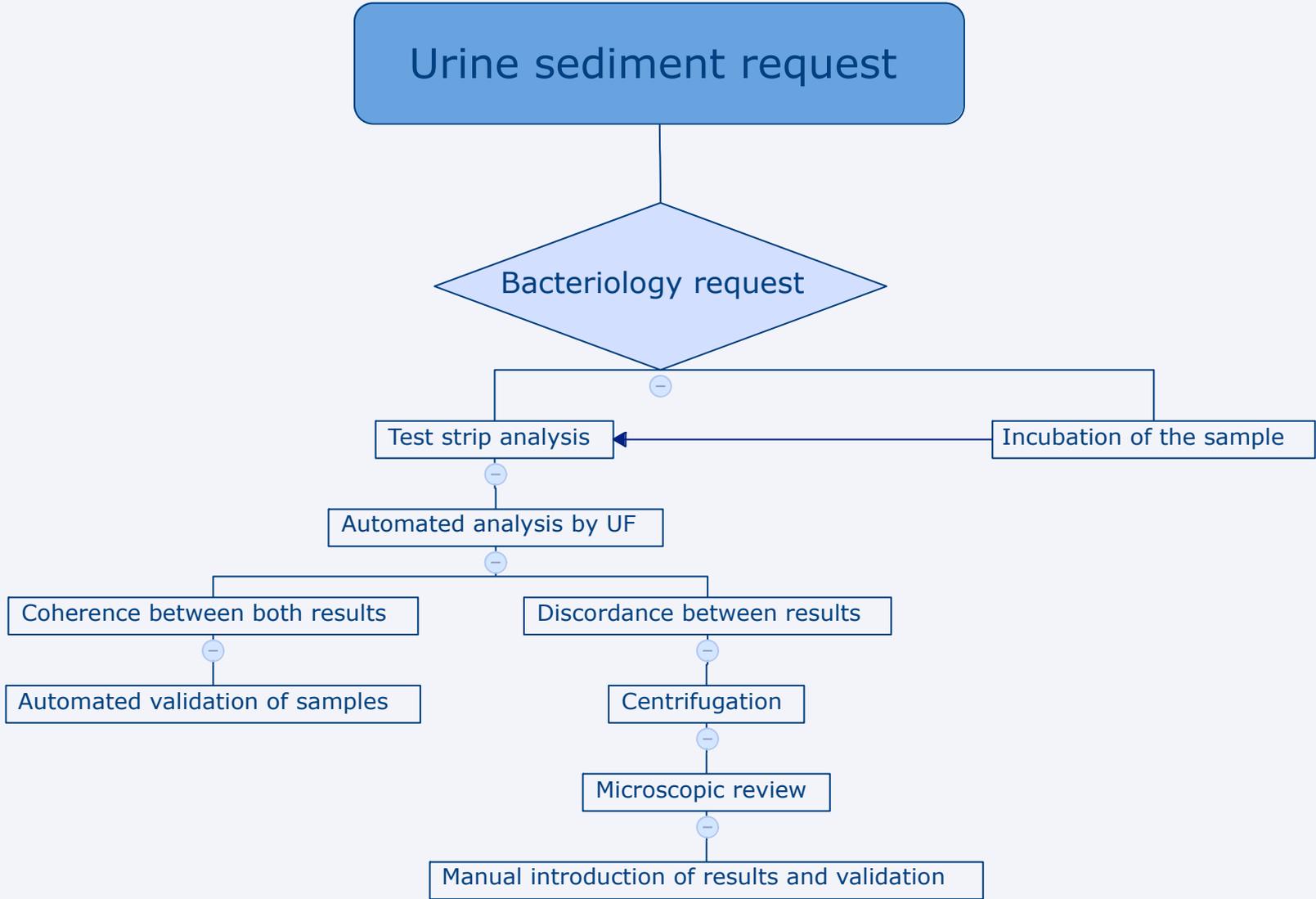
Laboratoire Central  
UF-500 + Test strip Menarini  
Uniquement urgences durant les soirées et nuits



2 flux  
Expertise de microscopie au laboratoire de microbiologie



# Algorithme actuel de l'examen du sédiment urinaire

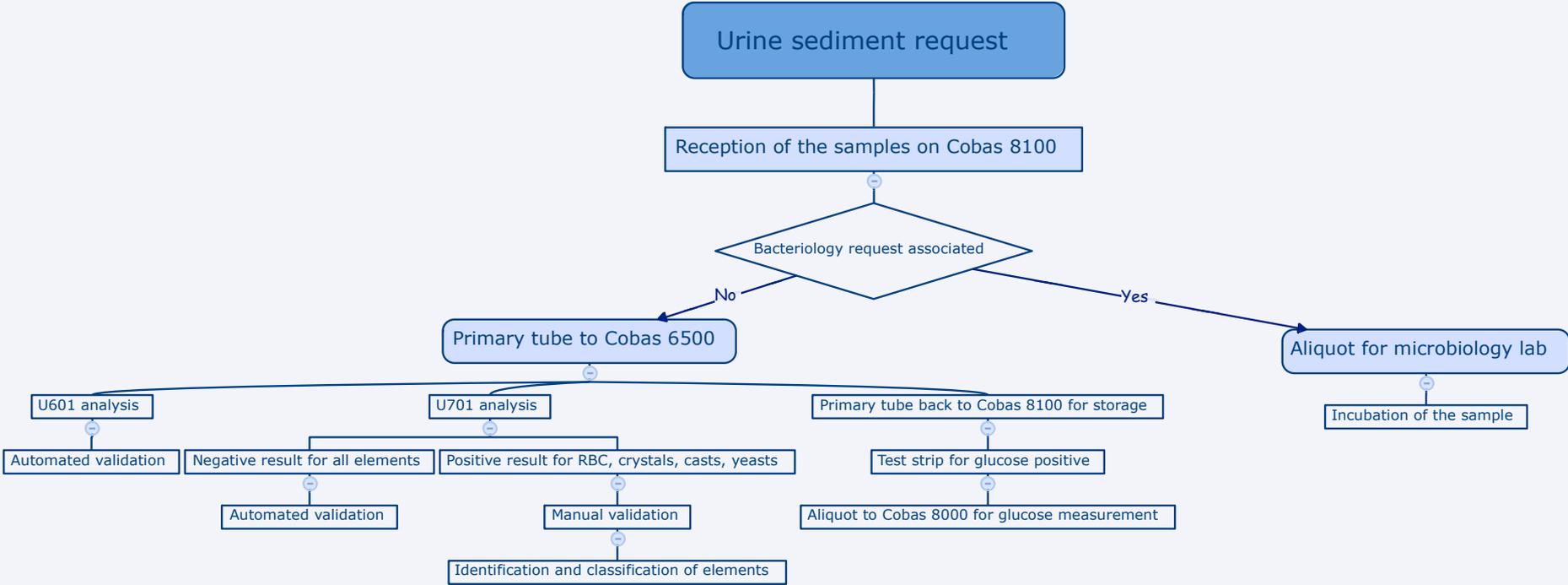


# Avantages et inconvénients de la procédure actuelle

- **Avantages :**
  - Back-up de la solution automatisée UF
  - Expertise en microbiologie
- **Inconvénients :**
  - Duplication des instruments → maintenance, consommation
  - 2 flux différents : routine et urgences
  - Interprétation des résultats de cytométrie en flux difficile pour le personnel peu habitué
  - Qualité des échantillons de routine : conservation



# A l'avenir : Intégration de l'activité (routine et urgences) dans le laboratoire central automatisé



# Avantages et inconvénients de la solution intégrée

- **Avantages**

- Amélioration de la qualité des échantillons de routine → processus de prise en charge continu
- Turn around time
- Intégrité de l'échantillon conservée
- Conservation des images
- Traçabilité des échantillons
- Diminution du temps consacré à la revue microscopique
- Amélioration de la procédure de validation manuelle, moins opérateur dépendante
- Amélioration des outils de formation

- **Inconvénients**

- Plus de personnes impliquées → formation
- Solution de back-up : manuel



## Comparison of the Automated cobas u 701 Urine Microscopy and UF-1000i Flow Cytometry Systems and Manual Microscopy in the Examination of Urine Sediments

Wonmok Lee,\* Jung-Sook Ha, and Nam-Hee Ryoo

Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Keimyung University, Daegu, Korea

Journal of Clinical Laboratory Analysis 00: 1–9 (2016)

**Background:** The cobas u 701, a new automated image-based urine sediment analyzer, was introduced recently. In this study, we compared its performance with that of UF-1000i flow cytometry and manual microscopy in the examination of urine sediments. **Methods:** Precision, linearity, and carry-over were determined for the two urine sediment analyzers. For a comparison of the method, 300 urine samples were examined by the automated analyzers and by manual microscopy using a KOVA chamber. **Results:** Within-run coefficients of variation (CVs) for the control materials were 7.0–8.8% and 1.7–5.7% for the cobas u 701 and UF-1000i systems, respectively. Between-run CVs were 8.5–9.8% and 2.7–5.4%, re-

spectively. Both instruments showed good linearity and negligible carry-over. For red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), and epithelial cells (EPI), the overall concordance rates within one grade of difference among the three methods were good (78.6–86.0%, 88.7–93.8%, and 81.3–90.7%, respectively). The concordance rate for casts was poor (66.5–68.9%). **Conclusion:** Compared with manual microscopy, the two automated sediment analyzers tested in this study showed satisfactory analytical performances for RBC, WBC, and EPI. However, for other urine sediment particles confirmation by visual microscopy is still required. J. Clin. Lab. Anal. 00:1–9, 2016. © 2016 Wiley Periodicals, Inc.



# Conclusions

Les solutions automatisées disponibles sur le marché permettent d'intégrer l'examen du sédiment urinaire dans un laboratoire central.

- Flux unique pour les échantillons de routine et urgents
- Amélioration des TAT et des étapes préanalytiques
- Préservation des échantillons → analyses sur prélèvements frais
- Réduction du temps technologique pour les revues

- Importance de connaître les limites du système utilisé
- Discussion avec les néphrologues pour adapter les procédures en fonction des éléments d'intérêt à rechercher

## MAIS

- Intégration possible dans un laboratoire central moyennant des règles strictes d'autovalidation
- Formation, formation, et toujours la formation ...



Merci pour votre attention !



Catherine.fillee@uclouvain.be