

# UriSed jako screeningový nástroj pro předběžné stanovení diagnózy infekce močového traktu

M.H.M. Martinez, P.V. Bottini, C.E. Levy, C.R. Garlipp

Division of Clinical Pathology, University of Campinas/UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

## INFO O ČLÁNKU

### Historie článku:

2. dubna 2013

Revidovaná forma 15. červenec 2013

Přijetí 16. července 2013

K dispozici online 29. července 2013

### Klíčová slova:

Močová analýza

Infekce močového traktu

Screening

Analyzátor sedimentu

## OBSAH

**Důvody:** Ačkoli je kvantitativní kultivace moče nezbytná pro stanovení diagnózy infekce močového traktu, jedná se o časově i finančně náročný pracovní postup. Účinné screeningové testy jsou slibnou alternativou, která umožňuje rychlé získání výsledku a eliminuje tím provádění zbytečné kultivace negativních vzorků, kterých je většina. Cílem této studie je vyhodnotit účinnost automatického analyzátoru močového sedimentu (UriSed) jako screeningového nástroje pro stanovení diagnózy infekce močového traktu.

**Metody:** Studii jsme provedli na 1379 vzorcích moče pacientů všech věkových kategorií, od dětí až po staré lidi. Všechny vzorky byly podrobeny automatizované analýze sedimentu (UriSed) a kvantitativní kultivaci moče (CLED agar).

**Výsledky:** Analyzátor sedimentu detekoval leukocyturii a/nebo významnou bakteriurii s přesností 97%, specificitou 59%, pozitivní prediktivní hodnotou 27%, negativní prediktivní hodnotou 99% a přesností 64% při mezních (cut-off) hodnotách bakteriálních kolonií  $\geq 12,6$  částic/hpf a WBC  $\geq 6$  buněk/hpf. Tato data ukazují možnost zredukování množství zbytečných kultivací vzorků moči až o 52 %.

**Závěr:** UriSed se zdá být účinným nástrojem pro screening infekcí močového traktu s vysokou citlivostí a nízkou mírou falešně negativních výsledků.

© 2013 Elsevier B.V. Všechna práva vyhrazena.

## 1. Úvod

Infekci močového traktu (UTI) lze definovat jako infekci jednotlivých částí močového traktu: ledvin, močovodu, močového měchýře nebo močové trubice, při které se obvykle vyskytují bakterie v moči [1]. UTI patří mezi nejběžnější bakteriální infekce a dochází k nim v každém věku [2-4]. Po celém světě je velmi vysoký počet pacientů s infekcí močového traktu a tato infekce je přivádí k lékaři. Výskyt patogenů odpovědných za močové infekce se může lišit a profily citlivosti vyžadují získání základních informací o možnostech terapie. Kultivace moče je nejběžnějším mikrobiologickým testem v klinických laboratořích a je považován za "zlatý standard" pro stanovení diagnóz UTI [2,3].

Přestože je kvantitativní kultivace moče nezbytná pro finální diagnózu UTI, jedná se o časově náročný a drahý proces [5,6]. Bylo vynalezeno několik screeningových testů pro rychlé stanovení diagnózy UTI. Tyto testy lze rozdělit na metody kultivační a nekultivační. Rychlé močové screeningové testy by měly poskytnout lékaři okamžité výsledky a eliminovat provádění zbytečné kultivace pro většinu negativních vzorků, nejběžněji bývá detekována leukocyturie a významná bakteriurie [6-8].

Před několika lety byl představen automatizovaný mikroskopický analyzátor moče s digitálními obrazy (UriSed – 77 Elektronika Kft, Budapešť, Maďarsko, v některých zemích také nazývaný sediMax®). Tento analyzátor umí detekovat a spočítat bakterie, leukocyty a další částice při výkonu až 100 vzorků/hodinu [9].

## 2. Materiál a metody

Tato studie byla schválena Etickou komisí Fakulty lékařských věd (#402/2010). Vyhodnotili jsme 1379 čistých vzorků moče odebraných ze středního proudu od hospitalizovaných i ambulantních pacientů (1006 žen a 373 mužů, ve věku od 2 měsíců až po 90 let, průměrný věk 41 let). 399 pacientů (29%) mělo renální onemocnění, včetně případů transplantace ledvin a funkční nebo anatomické abnormality močového systému. Do této skupiny spadá také 8% těhotných žen.

Ve všech případech bylo provedeno standardní laboratorní vyšetření moče. Toto rutinní vyšetření obsahovalo automatizovanou analýzu sedimentu (UriSed) a kvantitativní močovou kultivaci na CLED agaru fy BD (za použití kalibrované kličky) podle Cumitech 2B a 2C [2,3]. Mezní hodnoty leukocyturie a signifikantní bakteriurie byly stanoveny porovnáním výsledků získaných analyzátozem UriSed a močovou kultivací.

Bakteriální růst  $\geq 104$  CFU/ml byl považován za pozitivní, jak bylo navrženo několika autory [7,8,10,11]. Identifikace organismů byla provedena za použití systému Vitek® (BioMerieux, Riom, Francie). Odečet výsledků kultivace močových vzorků provádělo více pracovníků bez toho, aby měli povědomí o výsledcích získaných na analyzátozem UriSed.

Tabulka 1

Mikroorganismy izolované z kultivací vzorků moče.

| Mikroorganismy                | Počet případů | Procento |
|-------------------------------|---------------|----------|
| <i>Escherichia coli</i>       | 84            | 46       |
| <i>Klebsiella spp.</i>        | 16            | 9        |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | 8             | 4,4      |
| <i>Enterococcus spp.</i>      | 6             | 3,3      |
| <i>Enterobacter cloacae</i>   | 5             | 2,7      |
| <i>Staphylococcus spp.</i>    | 5             | 2,7      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 3             | 1,6      |
| Další                         | 6             | 3,3      |
| Směs kultur                   | 50            | 27       |

Statistická analýza byla provedena SPSS 17,0 statistickým softwarem (IBM SPSS Statistika) a obsahovala operační charakteristiky příjemce, 95% CI, minimální a maximální hodnoty a plochu pod křivkou. Bylo provedeno vyhodnocení citlivosti, specifity, pozitivních a negativních prediktivních hodnot a přesnosti.

### 3. Výsledky

Celkem bylo analyzováno 1379 vzorků moče, 664 z nich (48%) bylo klasifikováno jako pozitivní na UTI a 715 (52%) vzorků bylo klasifikováno jako negativní. Kultivační vyšetření bylo pozitivní u 13% vzorků (183/1379). Dle očekávání byla nejčastějším izolovaným mikroorganismem *Escherichia coli* (84/183), následovala *Klebsiella spp.* (16/183) a *Proteus spp.* (8/183). Tabulka 1 detailně zobrazuje nejběžnější mikroorganismy izolované z pozitivních močových kultur.

U 50 ze 183 pozitivních vzorků (27%) se nedalo diagnostikovat původce UTI. Tyto vzorky vykazovaly růst více než dvou typů mikroorganismů spojených s velkým množstvím dlaždicových epitelálních buněk, pravděpodobně kvůli nevhodnému odběru.

Mezní hladina 6 buněk/hpf pro leukocyturii a 12,6 částic/hpf pro signifikantní bakteriurii ukázali nejlepší korelaci s bakteriálním růstem. Proto byly vzorky s hodnotami pod těmito limity považovány za negativní. 715 vzorků bylo klasifikováno přístrojem UriSed za negativní a 5 z nich vykazovalo bakteriální růst. Izolované mikroorganismy byl následující: *E.coli* (n = 3 pacienti), *Proteus mirabilis* a *Morganella morganii*. Mezi těmito pacienty byly tři děti (< 2 roky) s vezikoureterálním refluxem, jedna dospělá žena s atrofickou ledvinou a jedna starší žena bez symptomů UTI.

Leukocytová kvantifikace ukázala citlivost 63%, specifitu 89% a bakteriální kvantifikace ukázala 96% a 60% v tomto pořadí. Kombinace kvantitativního stanovení bakteriurie a/nebo leukocyturie ukázala vysokou citlivost (97%) a negativní prediktivní hodnotu (99%), se specificitou 59%, pozitivní prediktivní hodnotu 27%, přesnost 64% a malou míru falešně negativních výsledků (1%) v predikci UTI (Tabulka 2). ROC křivka ukazuje vztah mezi citlivostí a specificitou bakteriurie a leukocyturie podle přijaté mezní hladiny (obr. 1).

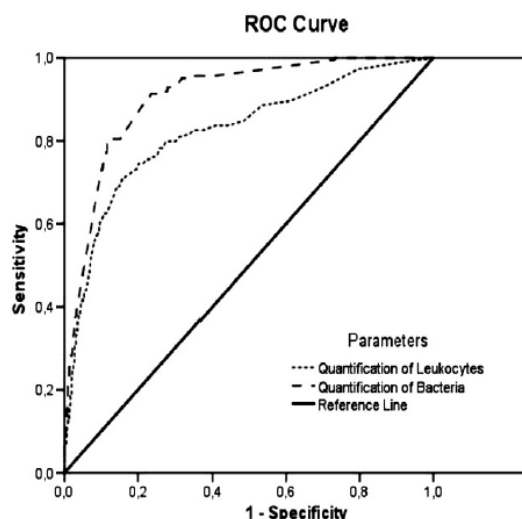
### 4. Diskuse

Laboratorní diagnóza UTI je prováděna z důvodu detekce a kvantifikace bakterií a leukocytů v moči.

Korelace UriSed screeningu a výsledků kultivací vzorků moči podle stanovených mezních hladin

| UriSed                 | Kultura   |           |        |
|------------------------|-----------|-----------|--------|
|                        | Pozitivní | Negativní | Celkem |
| Pozitivní <sup>a</sup> | 178       | 486       | 664    |
| Negativní              | 5         | 710       | 715    |
| Celkem                 | 183       | 1196      | 1379   |

<sup>a</sup>Počet bakterií  $\geq 12,6$  částic/hpf a/nebo počet bílých krvinek (WBC)  $\geq 6$  buněk/hpf.



Obrázek 1. ROC křivka pro bakteriurii a leukocyturii na analyzátoru UriSed. Plocha pod křivkou pro počet bakterií byla 0,905 (95% CI, 0,884 – 0,926) a plocha pod křivkou pro počet bílých krvinek (WBC) byla 0,822 (95% CI, 0,786 – 0,858), kdy 104 CFU/ml nebo více zvoleno jako standardní pozitivní výsledek.

Avšak přítomnost leukocytů a/nebo bakterií nemusí být vždy spojena s UTI, může být způsobena kontaminací vzorku nebo zánětlivým procesem [7].

V naší studii byla zjištěna infekce močového traktu (UTI) u 13% testovaných pacientů, což je podobné procento jako u jiných autorů jako je Falbo a kol. (18,3%) [10] a Jolkonnen a kol. (16,8%) [12]. Nejčastější pozorovanou bakterií byla *E. coli* a to bylo také ve značné shodě s daty uváděnými v literatuře [2,3].

Nicméně, v naší studii jsme zjistili vysoké procento vzorků (50/183 pozitivních) nevhodných pro diagnózu UTI (promíchaný růst, přítomnost mnoha dlaždicových epitelálních buněk a hleny), pravděpodobně kvůli nevhodnému odběru. Správný odběr močových vzorků má významný vliv na kvalitu výsledků kultivací. Pacient by měl dostat před odběrem jasné pokyny.

Bylo zjištěno vysoké procento negativních močových kultur (87%). Podobné výsledky získali i jiní autoři, kteří oznámili, že okolo 80% močových kultur bylo negativních nebo měly nevýznamný bakteriální růst (5,8). Vysoká míra negativních močových kultur vedla několik autorů k vyhodnocení, že provádění efektivních screeningových testů na UTI redukuje provádění zbytečných kultur [7,8].

Podle dat v literatuře je počet bakterií  $\geq 105$  CFU/ml spojený s přítomností UTI [2]. Nicméně některými autory byl pro screeningové vyšetření moči použit nižší počet bakterií ( $\geq 104$  CFU/ml) [3,7,8,10,11]. V naší studii byla volba této mezní hodnoty dána přítomností Gram pozitivní koků jako etiologický agens UTI. Tyto mikroorganismy se obvykle v močových kulturách vyskytují v nižším počtu.

Od té doby, co byl vyvinut automatizovaný přístroj na analýzu močového sedimentu, hodnotilo jeho použití pro UTI screening několik autorů [4,5,10,13–16]. Pokud jde o UriSed (automatizovaná mikroskopie s digitálními obrazy), některé studie předvedly, že je jeho výkon podobný jiným automatizovaným přístrojům, jak uvádí Falbo a kol. [10], Akin a kol. [15,17] a Block a kol. [18].

Efektivní screeningové testy mohou poskytnout lékaři rychlejší a přesnější diagnózu UTI. Aby byly tyto testy účinné, musí mít screeningový test vysokou negativní prediktivní hodnotu a minimální počet falešně negativních vzorků. Z toho vyplývá, že je pro screeningový test důležitější citlivost než specificita [7,13,14].

Získali jsme citlivost 97%, specifitu 59%, pozitivní prediktivní hodnotu (27%) a negativní prediktivní hodnotu (99%), což jsou výsledky podobné výsledkům jiných autorů, kteří použili cytometrii nebo digitální obrazy s rozpoznáním částic jako screeningovou metodu pro UTI. Okada a kol. [7], kteří použili zařízení Sysmex UF-50, pozorovali citlivost 83,1%

a specificku 76,4% s negativní prediktivní hodnotou 90,7% a pozitivní prediktivní hodnotou 62%. Kim a kol. [5] použili jako screeningový test analyzátor močových buněk Sysmex UF-100 a získali citlivost 94,4% a specificku 73,4% a Manoni a kol. [14] použili zařízení Sysmex UF-1000i a získali citlivost 94% a specificku 97% s negativní prediktivní hodnotou 98% a pozitivní prediktivní hodnotou 92%. Parta a kol. [16] použili přístroj iQ<sup>®</sup>200 a zjistili citlivost 88,7% a specificku 65,6% a negativní prediktivní hodnotu 94,4%.

Další autoři používali UriSed jako screeningovou metodu pro stanovení UTI a výsledky byly podobné těm, které jsme získali v naší studii [10,13]. Falbo a kol. [10] získali citlivost 98,3% a specificku 59%, negativní prediktivní hodnotu 99,4%, pozitivní prediktivní hodnotu 35% a přesnost 66,2% s nízkou mírou falešně negativních vzorků (3 ze 174 pozitivních vzorků). Karakucku a kol. [13] kombinovali leukocyty a počty bakterií jako screeningové parametry a pozorovali citlivost 99,8%, specificku 52% a negativní prediktivní hodnotu 100%. Tyto výsledky jsou podobné s našimi daty, kde pouze 5 ze 183 vzorků bylo negativních podle UriSed, ale ukázalo pozitivní výsledky metodou kultivace. Poměry falešně negativních vzorků jsou porovnatelné s reportovanými výsledky od dalších autorů, kteří použili průtokovou cytometrii [8,19].

## 5. Závěr

Korelace mezi kvantitativní močovou kultivací a UriSed analýzou sedimentu byla pozorována při mezních hodnotách počtu bakterií  $\geq 12,6$  částic/hpf a WBC (bílé krvinky)  $\geq 6$  buněk/hpf. UriSed se zdá být účinným nástrojem pro stanovení diagnózy UTI s vysokou citlivostí (97%) a nízkým počtem falešně negativních výsledků (1%), a tak redukuje provádění zbytečných kultivací vzorků. Pozitivní screening ne vždy indikuje UTI a měl by být potvrzen kultivační metodou.

## Poděkování

Děkujeme José Ricardo Lauandovi a Kelly Krempserové za jejich analytickou podporu a Angele von Nowakonski, MD, MSc za její vědeckou podporu a recenzi tohoto rukopisu.

## Literatura

- [1] Schifman RB, Wieden M, Brooker J, et al. Bacteriuria screening by direct bioluminescence assay of ATP. *J Clin Microbiol* 1984;20:644–8.
- [2] Clarridge JE, Jonhson JR, Pezzlo MT, Cumitech 2B, Laboratory diagnosis in urinary tract infections. Weissfeld AS, Coordinating ed., Washington, DC: ASM Press; 1998.
- [3] McCarter YS, Burd EM, Hall GS, Zervos M. Cumitech 2C. In: Sharp SE, editor. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Washington, DC: ASM Press; 2009.
- [4] Evans R, Davidson MM, Sim LRW, Hay AJ. Testing by Sysmex UF-100 flow cytometer and with bacterial culture in a diagnostic laboratory: a comparison. *J Clin Pathol* 2006;59:661–2.
- [5] Kim SY, Kim YJ, Lee SM, et al. Evaluation of the Sysmex UF-100 Urine Cell Analyzer as a screening test to reduce the need for urine cultures for community-acquired urinary tract infection. *Am J Clin Pathol* 2007;128:922–5.
- [6] Pezzlo MT, Amsterdam D, Anhalt JP, et al. Detection of bacteriuria and pyuria by URISCREEN, a rapid enzymatic screening test. *J Clin Microbiol* 1992;30:680–4.
- [7] Okada H, Sakai Y, Miyazaki S, et al. Detection of significant bacteriuria by automated urinalysis using flow cytometry. *J Clin Microbiol* 2000;38:2870–2.
- [8] Pieretti B, Brunati P, Pini P, et al. Diagnosis of bacteriuria and leukocyturia by automated flow cytometry compared with urine culture. *J Clin Microbiol* 2010;48: 3990–6.
- [9] Barta Z, Kráncz T, Bayer G. UriSed Technology — a standardised automatic method of urine sediment analysis. *Eur Infect Dis* 2011;5:139–42.
- [10] Falbo R, Sala MR, Signorelli S, et al. Bacteriuria screening by automated whole-field image-based microscopy reduces the number of necessary urine cultures. *J Clin Microbiol* 2012;50:1427–9.
- [11] Church D, Gegson D. Screening urine samples for significant bacteriuria in the clinical microbiology laboratory. *Clin Microbiol News* 2004;26:179–83.
- [12] Jolkonen S, Paattiniemi EL, Kärpanoja P, Sarkkinen H. Screening of urine samples by flow cytometry reduces the need for culture. *J Clin Microbiol* 2010;48:3117–21.
- [13] Karakucku C, Kayman T, Ozturk A, Torun YA. Analytic performance of bacteriuria and leukocyturia obtained by UriSed in culture positive urinary tract infections. *Clin Lab* 2012;58:107–11.
- [14] Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, et al. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65:103–7.
- [15] 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. *Afr J Microbiol Res* 2011;5:2145–9.
- [16] Parta M, Hudson BY, Le TP, Ittmann M, et al. IRIS iQ200 workstation as a screen for performing urine culture. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;75:5–8.
- [17] Akin OK, Serdar MA, Cizmeci Z, et al. Comparison of LabUMat-with-UriSed and iQ<sup>®</sup>200 fully automatic urine sediment analysers with manual urine analysis. *Biotechnol Appl Biochem* 2009;53:139–44.
- [18] Block DR, Lieske JC. Automated urinalysis in the clinical lab. *MLO Med Lab Obs* 2012;44:8–10.
- [19] van der Zwet WC, Hessels F, Canbolat F, Deckers MML. Evaluation of the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer in the diagnostic work-up of suspected urinary tract infection in a Dutch general hospital. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:1765–71.