

Uit de laboratoriumpraktijk

Het effect van de osmolaliteit op de detectie van erythrocyten in urine door middel van urine-flowcytometrie

V. SCHARNHORST en F. van der GRAAF

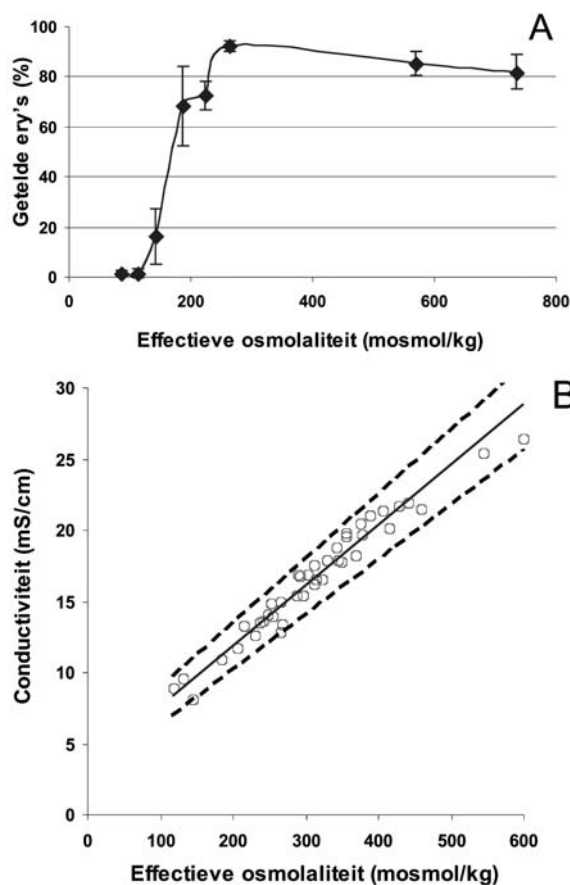
Hematurie kan op onderliggende renale of post-renale ziekte wijzen. Detectie van erythrocyten in urine d.m.v. dipstickanalyse en microscopie zijn bewezen technieken voor de detectie van erythrocyten in urine. Sinds enige tijd zijn flowcytometers te koop die speciaal bedoeld zijn voor analyse van erythrocyten en andere deeltjes in urine (Sysmex Europe GmbH). Deze zijn uitvoerig gevalideerd (1-3).

Betrouwbare microscopische of flowcytometrische telling van erythrocyten in urine vereist de aanwezigheid van fysiek intacte erythrocyten. Dipsticktests maken gebruik van de oxidatieve capaciteit van hemoglobine om de hoeveelheid erythrocyten per microliter te berekenen. Het hemoglobine kan afkomstig zijn van intacte of gelyseerde erythrocyten. Lysis van erythrocyten wordt vooral veroorzaakt door lage osmolaliteit van een urine monster en/of hoge pH (4). Daarom moet men zich ervan bewust zijn, dat een lage (effectieve) osmolaliteit van een urinemonster tot fout-negatieve resultaten kan leiden wanneer men urine met optische technieken op de aanwezigheid van erythrocyten onderzoekt. Ureum wordt als osmotisch inactief beschouwd omdat het over het membraan van de rode cel kan diffunderen en geen effect op het celvolume heeft (5-7).

Wij hebben m.b.v. een UF-100-urine-flowcytometer het effect van verschillende effectieve osmolaliteiten op de integriteit van erythrocyten onderzocht. Kunsturines met verschillende concentraties erythrocyten (van 10 / μ l tot 10000 / μ l) en verschillende effectieve osmolaliteiten zijn op een UF-100-urineflowcytometer gemeten. De kunsturines bevatten 5 mmol/l Na_2CO_3 en verschillende hoeveelheden NaCl zodat de effectieve osmolaliteiten tussen 74 en 740 mosmol/kg liggen. De pH werd met HCl op 6,5 gesteld.

Figuur 1A laat zien dat significante lysis van erythrocyten bij een osmolaliteit van 200 mosmol/kg begint. Bij een effectieve osmolaliteit van 180 mosmol/kg zijn ongeveer 50% van de erythrocyten gelyseerd. Een effectieve osmolaliteit tot 740 mosmol/kg leidt niet

tot verlies van rode bloedcellen. Een vergelijkbare curve als in figuur 1A wordt verkregen wanneer verschillende hoeveelheden (10 tot 750 mmol/l) ureum aan de kunsturines worden toegevoegd, m.a.w. ureum beïnvloedt de stabiliteit van de erythrocyten niet.



Figuur 1. (A) Bij een osmolaliteit van onder 200 mosmol/kg liseren erythrocyten en worden niet door de UF-100 als erythrocyten geteld. 'Getelde ery's', de door de UF-100 getelde erythrocyten weergegeven als (door de UF100 gemeten erythrocytenconcentratie / daadwerkelijke erythrocytenconcentratie) x 100. De UF-100 heeft 'gates' voor 'ghost'-cellen (deels gelyseerde erythrocyten) en intacte erythrocyten. De hier weergegeven percentages zijn berekend door 'ghost'-cellen en intacte erythrocyten bij elkaar op te tellen. Elk percentage is een gemiddelde van 4-6 onafhankelijke metingen. De foutbalken geven het ± 2 SEM gebied weer. (B) Conductiviteit en effectieve osmolaliteit van patiëntenurines hebben een lineair verband (berekend met een Passing&Bablok-methodevergelijking, Analyse-it Software Ltd., UK).

Klinisch Laboratorium, Máxima Medisch Centrum, Veldhoven

Correspondentie: dr. V. Scharnhorst, Disciplina Klinische Chemie, Atrium Medisch Centrum, Postbus 4446, 6401 CX Heerlen E-mail: vscharnhorst@atriummc.nl

In een tweede experiment is de correlatie tussen effectieve osmolaliteit en conductiviteit, gemeten door de UF-100, onderzocht. Daarvoor is m.b.v. vriespuntverlaging de osmolaliteit van 42 patiënturines gemeten en de effectieve osmolaliteit berekend door van het meetresultaat de ureumconcentratie af te trekken. Figuur 1B laat zien dat er een goede overeenkomst is tussen de effectieve osmolaliteit en de conductiviteit: $\text{conductiviteit} = 0,043 \times \text{osmolaliteit} + 3,2$ (95% betrouwbaarheids intervallen 0,039 - 0,046 en 2,3 - 4,3), $r = 0,98$ (Spearman rank correlation).

Onze resultaten laten zien dat lysis van erythrocyten in eiwitarme oplossingen al bij licht hypotone osmolaliteiten begint. Om fout-negatieve resultaten te voorkomen moet dus de effectieve osmolaliteit van urines, die d.m.v. optische technieken (microscopie, flowcytometrie) op hematurie worden onderzocht, worden vastgelegd.

De UF-100 meet de conductiviteit tijdens de analyse van urines. De conductiviteit houdt lineair verband met de effectieve osmolaliteit (figuur 1B). Wanneer de settings van de fabrikant gebruikt worden, genereert de UF-100 een 'low reliability'-vlag bij een conductiviteit van kleiner dan 5 mS/cm (8) terwijl lysis van erythrocyten al bij 11 mS/cm, ongeveer 200 mosmol/kg, begint. Wij concluderen dat urines met een conductiviteit kleiner dan 11 mS/cm niet betrouwbaar met optische methoden op de aanwezig-

heid van erythrocyten kunnen worden onderzocht. In plaats daarvan kan de analyse met een dipstick worden uitgevoerd of om een nieuw, geconcentreerder urinemonsters worden gevraagd.

Literatuur

1. Fenili D, Pirovano B. The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100). *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 909-917.
2. Langlois MR, Delanghe JR, Steyaert SR, Everaert KC, De Buyzere ML. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. *Clin Chem* 1999; 45: 118-122.
3. Delanghe JR, Kouri TT, Huber AR, Hannemann-Pohl K, Guder WG, Lun A, et al. The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice. *Clin Chim Acta* 2000; 30: 1-18.
4. Georgopoulos M, Schuster FX, Porpaczky P, Schramek P. Evaluation of asymptomatic microscopic haematuria-influence and clinical relevance of osmolality and pH on urinary erythrocyte morphology. *Br J Urol* 1996; 78: 192-196.
5. Vaughan ED Jr, Wyker AW Jr. Effect of osmolality on the evaluation of microscopic hematuria. *J Urol* 1971; 105: 709-711.
6. Goldwasser P, Antignani A, Avram MM. Effect of urine chemistry on red cells. *Nephron* 1991; 59: 328-329.
7. Jones BF. Urine osmolality and urinary red cell morphology. *Nephron* 1991; 59: 157.
8. Sysmex Corporation. Operator's manual fully automated urine cell analyzer UF-100. Kobe, Japan: Sysmex Corporation, September 1998.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 268-271

Digitale beeldverwerking bij de differentiatie van bloedcellen: een aanwinst voor de klinische chemie? Een evaluatie van de DiffMaster™ Octavia

R.H. TRIEPELS, I. HUISKES-BLOEMEN en C.J.A. DOELMAN

De ontwikkeling van kwalitatief hoogwaardige computer- en camerasystemen opent mogelijkheden tot automatisering van de microscopische celdifferentiatie. De DiffMaster Octavia is een geautomatiseerde microscoop waarmee via geavanceerde computersoftware op grond van optische ceileigenschappen preclassificatie van leukocyten mogelijk wordt gemaakt. Door 10 gespecialiseerde analisten zijn ruim 700 bloedpreparaten uit de dagelijkse routine met de DiffMaster geanalyseerd. Een adequate arbeidstijdsanalyse in relatie tot de manuele differentiatie en voor- en nadelen zijn nauwkeurig geregistreerd. De mate van pathologie in de te analyseren patiëntenpopulatie is bepalend voor juistheid van de DiffMas-

ter Octavia. Voor de totale leukocytenpopulatie haalt de DiffMaster een juistheid van 85%. De digitale beeldbeoordeling alsmede het gemis van de basale microscoopfuncties vereist enige gewenning van de gebruiker. Meer ervaring van de operator zal de voordelen van digitale beeldverwerking van cellen uiteindelijk zwaarder laten wegen dan de nadelen.

De differentiatie van witte, rode bloedcellen en trombocyten is een dagelijkse bezigheid in klinische laboratoria. De differentiatie van bloedcellen is een essentieel onderdeel van de diagnostiek van infectieziekten, hemato-oncologische afwijkingen en erfelijke erythrocytaire afwijkingen. Met de hedendaagse geavanceerde apparatuur van celtellers en de daarbij behorende automatische differentiatie met behulp van radiogolven in combinatie met weerstandsmeetings, lichtverstrooiing of lasertechnologie, is de differentiatie van bloedcellen al reeds vele jaren geautomatiseerd. Ondanks deze automatisering is de microscoop

Medisch Spectrum Twente, Enschede

Correspondentie: dr. C.J.A. Doelman, Medisch Spectrum Twente, Laboratorium, Postbus 50.000, 7500 KA Enschede
E-mail: c.doelman@ziekenhuis-mst.nl