

Rozpoznawalność elementów morfotycznych i krystalicznych w moczu przy zastosowaniu automatycznych metod analizy ogólnej moczu

Badanie osadu moczu



The First Compound Microscope (circa 1595)



Hooke Microscope (circa 1670)



MM. les souscripteurs, dont l'abonnement expire le 31 de ce mois, sont priés de le renouveler, s'ils ne veulent pas éprouver de retard dans l'envoi du Journal.

SOMMAIRE: *Étude anatomique de l'urine, faite par l'abbé Choleux, serviteur de S. Saint à la Chapelle. — Rapport de M. de Meunier sur les travaux de l'École de Médecine de Montpellier.*

SÉMILOGIE. *HISTOIRE DE LA CHOLÈRE. — SERVICE DE M. RAVIN. — ÉTUDE SUR L'ÉPILOQUE. — L'ÉPILOQUE. — ÉTUDE SUR L'ANALYSE CHIMIQUE.*

Par M. Vigne, interne.

De tout temps les médecins observateurs ont apporté une grande attention à l'examen de l'urine. Les analyses ont été faites avec beaucoup de soin les propriétés physiques de ce liquide, et les modifications qu'il éprouve le repos lui fait varier dans les maladies qu'il subit. La partie descriptive nous laisse peu à désirer, et l'examen sous les yeux de l'urine sans être vu, doit nous avoir montrés dans leurs observations plusieurs modifications de leur caractère dans les différentes pathologies, et les expériences sont nombreuses qu'ils ont exposées à l'usage des autres, pour le plus grand avantage.

Celles-ci ne pourraient être détaillées par l'observation - l'usage et les recherches anatomiques nous jeter un voile obscur sur l'état sémiologique dans les maladies urinaires, aussi nous sommes de restés à l'usage des produits organiques.

Les progrès récents de la chimie, l'application de cette science à l'analyse des produits organiques,

permettent à la médecine de nouvelles observations et surtout des observations plus rigoureuses; c'est de cette époque que datent les travaux de Funck et de Vanapatis, en France; de Wollaston en Angleterre; de Berzélius, en Suède, sur l'urine, les calculs et les altérations de la sécrétion urinaire. Toutefois les médecins n'ont pas eu soin de pousser ces recherches plus loin, ils ont fait des observations importantes à la science par les travaux de ces chimistes, mais ils ont négligé et sans influence sur l'étude pratique des maladies des voies urinaires.

Les reins à l'état normal ont une sensibilité assez élevée, mais quand ils sont atteints d'une certaine manière de maladie, mais il en est qu'ils ne peuvent plus résister. L'émission d'un calcul est un signe pathognomonique. Le sang, le pus, le mucus ou certaine quantité peuvent être reconnus dans l'urine par la vue seule; le sang lui-même, en quantité considérable, pourra être vu au microscope, son aspect, son odeur, les couleurs variables de l'urine jointes à quelques autres conditions; l'urine de l'urine pourra faire soupçonner sa couleur, son odeur et la quantité très considérable de l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.

Il y a une grande difficulté de reconnaître le sang dans l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.

Il y a une grande difficulté de reconnaître le sang dans l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.

Il y a une grande difficulté de reconnaître le sang dans l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.

Il y a une grande difficulté de reconnaître le sang dans l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.

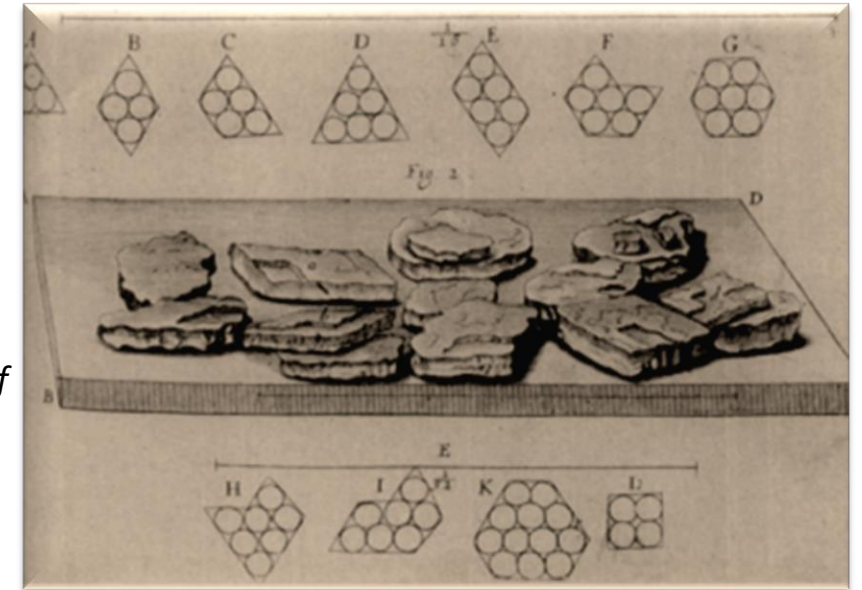
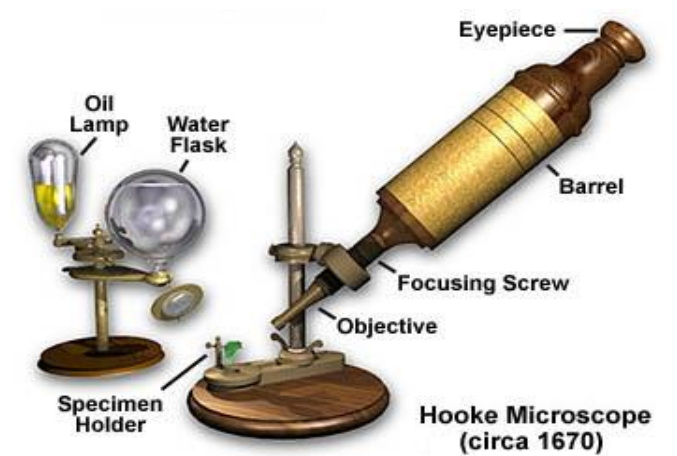
Il y a une grande difficulté de reconnaître le sang dans l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.

Il y a une grande difficulté de reconnaître le sang dans l'urine, jointe à une pesanteur spécifique considérable, permettra de diagnostiquer en toute sûreté le diabète sucré. Mais ces caractères seront insuffisants quand les cas pathologiques seront plus compliqués; ces apparences deviendront ambiguës: le sang sera confondu avec le liquide purulente, et quelques fois le mucus viscéral, des sels seront pris pour du pus ou du mucus, un mélange accidentel de lait avec l'urine simulant un liquide purulente.



Aspekt historyczny

- Francuz **Nicolaus Fabricius de Peiresc** (1580—1637) w 1630 roku obserwował mocze i osady będące przyczyną kamieni.
- Anglik **Robert Hooke** (1635—1703) opisywał kryształy w moczu następująco:
- „...company of small bodies, partly transparent, and partly opacous, some White, some Yellow, some Red, others of more brown and duskie colors. The Figure of them is for the most part fiat, in the manner of Slats, or such like plated Stones that is, each of them to be made of several others thinner Plates, much like Muscovie Glass or English Spar,' to the last of which, the white plated Gravel seems most likely; for they seem not onely plated like that, but theirs sides shap 'd also into Rhombs, Rhomboeids, and sometimes into rectangles and Squares.”



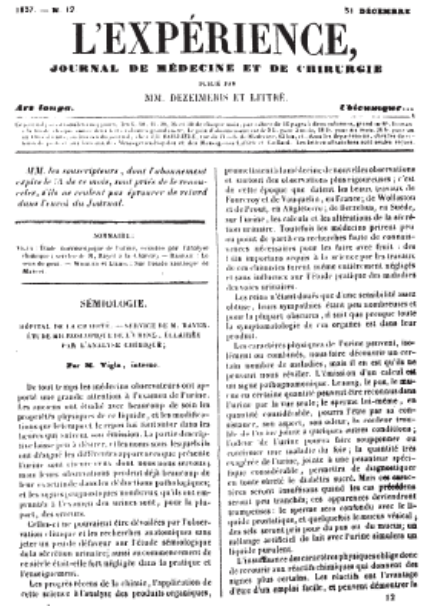
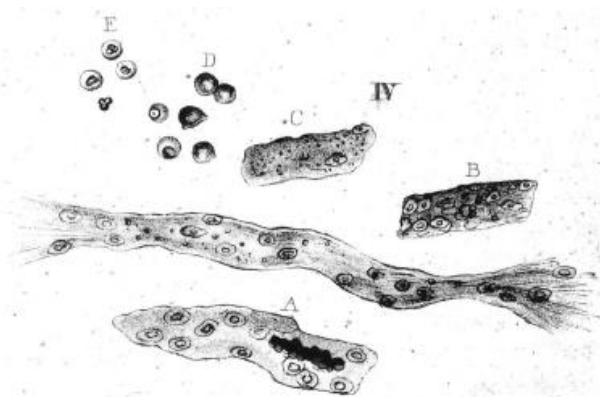
Płytki i schematy obrazujące kryształy w osadzie moczu, zamieszczone w VII rozdziale książki Roberta Hooke'a pt. "Micrographia" z 1665 r. (The Wellcome Institute Library, London).

Aspekt historyczny

- Pierre Rayer (1793—1 867) oraz Eugene Napoleon Vigla (1813—1872), lekarze, którzy byli kierownikami kliniki "Interne" w szpitalu de la Charité w Paryżu, wprowadzili analizę mikroskopową moczu do codziennej praktyki lekarskiej. Opublikowali wyniki swoich obserwacji w latach 1837—1838 w L'Expérience.
- Julius Vogel w "Icones histologiae pathologicae," opisał wałeczki w moczu (University Library, Pavia).

Do końca XIX wieku zidentyfikowano i opisano wszystkie (upostaciowane i nieupostaciowane) składniki moczu.

W Polsce wydano Atlas Kowarskiego



Rozpoznawanie obrazu



W badaniu osadu moczu należy zwrócić uwagę na składniki upostaciowane i nieupostaciowane



Składniki upostaciowane to elementy komórkowe i tkankowe oraz niekiedy pasożyty

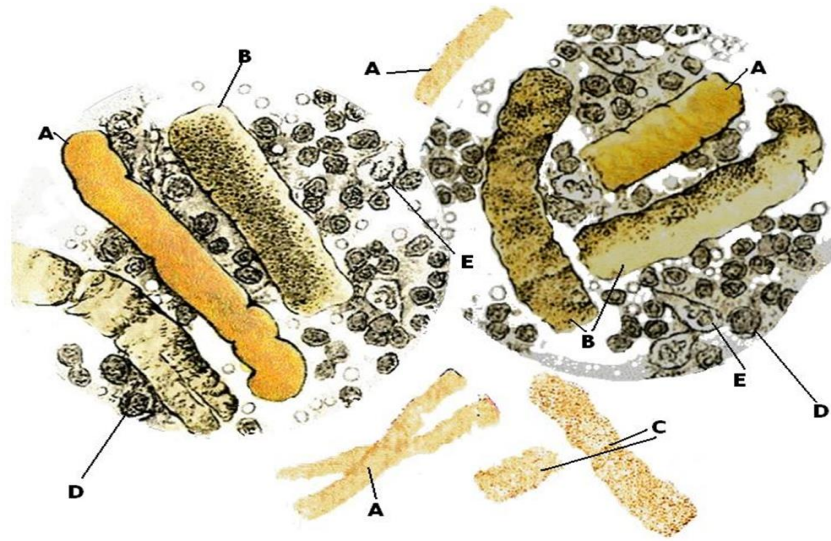
- Elementy komórkowe
- Elementy tkankowe
- Pasożyty
- Bakterie



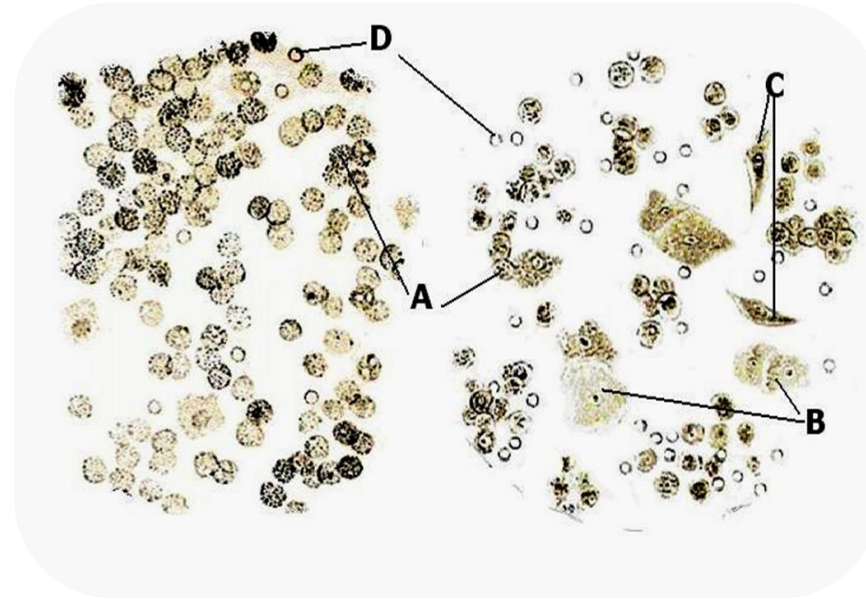
Składniki krystaliczne obejmują substancje organiczne o znanym składzie chemicznym. Są to

- składniki krystaliczne
- bezpostaciowe

Ocena osadu moczu



Nabłonki, wałeczki rozpoznajemy i liczymy pod powiększeniem 100-krotnym;



Leukocyty i erytrocyty oceniamy pod powiększeniem 400-krotnym;

A - leukocyty w osadzie moczu; B - komórki nabłonka płaskiego; C - nabłonek pęcherza moczowego; D - pęcherzyki powietrza

Metody oceny składników moczu

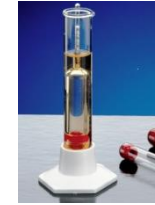
Manualne

- Mikroskopowa ocena (400x) preparatów na szkiełku podstawowym i szkiełku nakrywkowym.
- Mikroskopowa ocena (400x) w jednorazowych komorach/kamerach typu KOVA, Pentasquare, Fast Read

Automatyczne

- Cyfrowa analiza zdjęć osadów moczu
- Cyfrowa analiza zdjęć próbek niezagęszczonych
- Cytometria przepływowa

Droga do standaryzacji

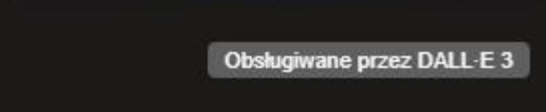
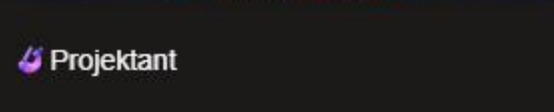
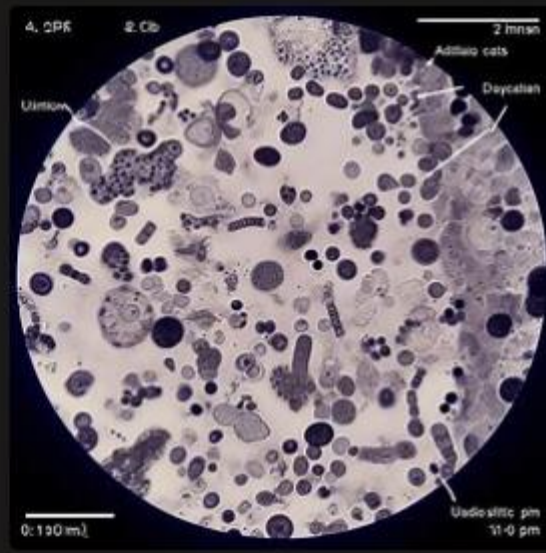
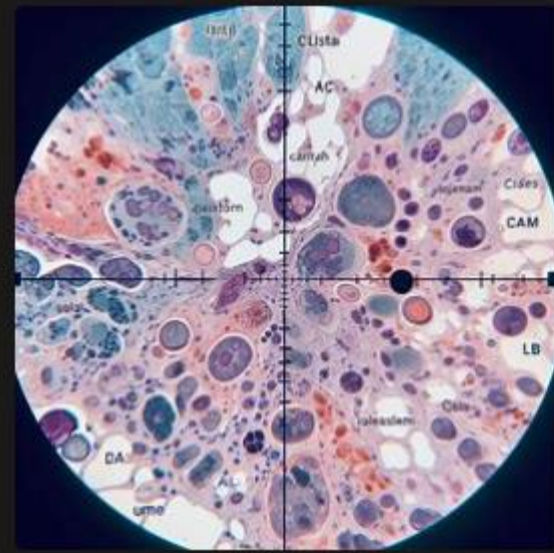
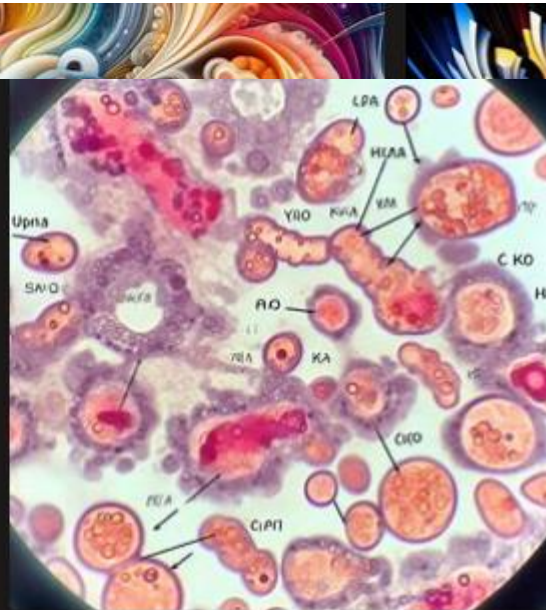
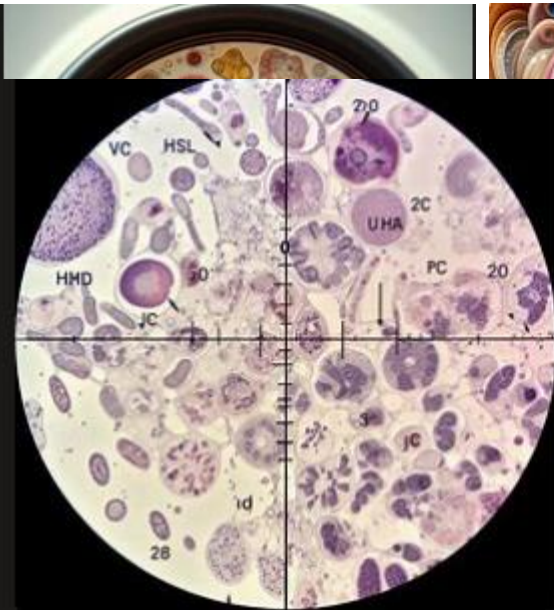


1. Klasyczne wykonywanie manualnie wszystkich parametrów
2. Pierwszym etapem standaryzacji *badania ogólnego moczu* było wprowadzenie testów paskowych, które ujednoliciły metodykę oznaczeń, równocześnie skracając czas wykonania oznaczenia.
3. Kolejny etap to wprowadzenie automatycznych czytników pasków, oraz kamer z siatką do ilościowej analizy elementów w osadzie moczu



4. Pełna automatyzacja odczytów wykorzystanie technik cytometrii przepływowej, cyfrowej analizy obrazu





Projektant

Obsługiwane przez DALL-E 3



EWOLUCJA SZTUCZNEJ INTELIGENCJI



SIECI NEURONOWE
1950 - 1970



UCZENIE MASZYNOWE
1980 - 2010



UCZENIE GŁĘBOKIE
SYSTEMY KOGNITYWNE
DZIEŃ DZISIEJSZY



1976

SAS

1 024 × 579

D+

Komponenty sztucznej inteligencji

Uczenie

Wnioskowanie

Rozwiązywanie
Problemów

Percepcja

Rozumienie
języka

Automatyczne

- Cyfrowa analiza zdjęć osadów moczu
- Cyfrowa analiza zdjęć próbek niezagęszczonych
- Cytometria przepływowa

Zasadnicza zmiana jakościowa

Wynik półilościowy

Wynik ilościowy

TAT

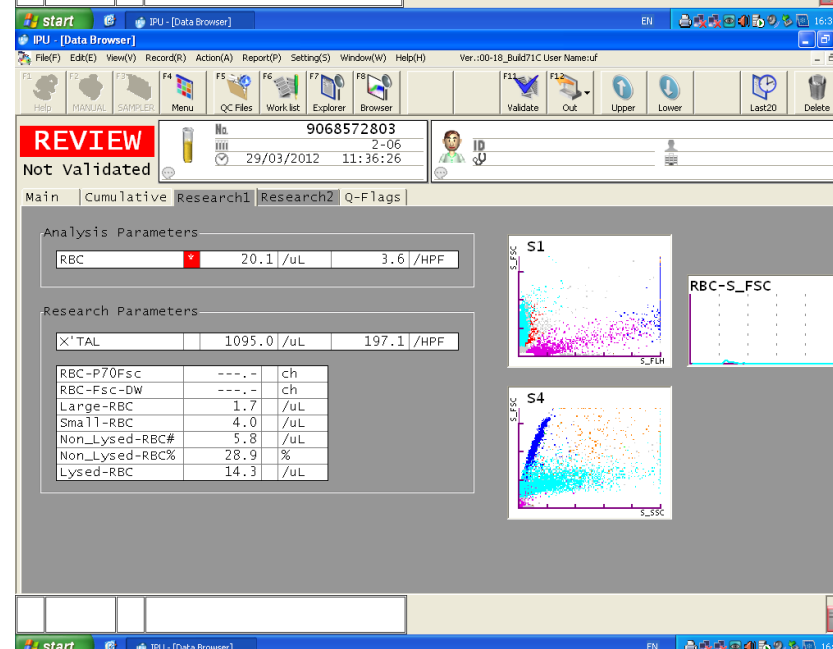
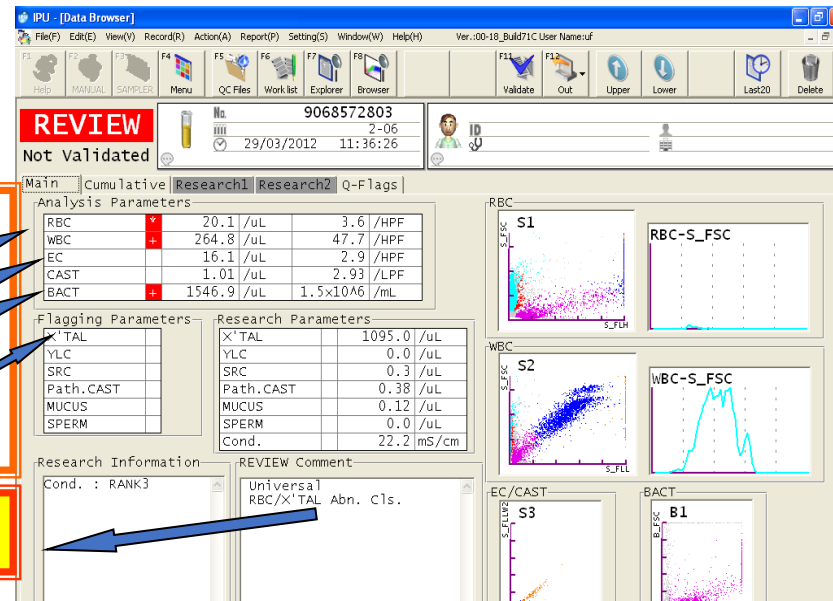
Cytometria przepływowa - pierwsza

Analiza mikroskopowa

- Leukocyty 30 – 50 wpw
- Nabłonki płaskie d. liczne
- Bakterie d. liczne
- Kryształy szczawianu wapnia liczne

Klaster RBC i kryształów zachodzą na siebie

Weryfikacja mikroskopowa

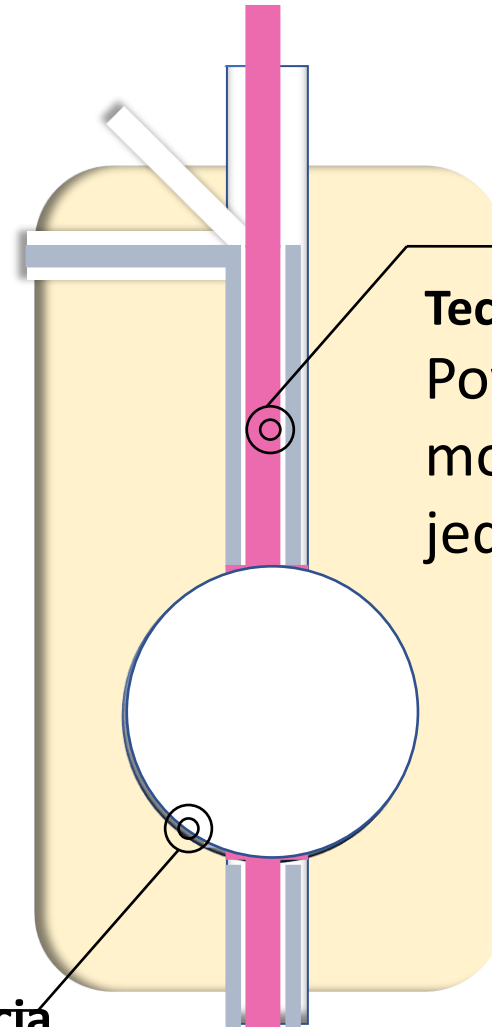


Technologie na bazie fotografii

Technologia przepływu osłonowego: Płyn osłonowy, używany przez system analityczny do analizy upostaciowanych elementów w moczu w procesie badania, to izotoniczny, ziarnisty roztwór z funkcją buforowania.

Dzięki zastosowaniu cytometrii przepływowej można zapewnić, że wszystkie upostaciowane elementy przepłyną przed soczewką mikroskopu i szybką kamerą w ognisku soczewki mikroskopu i zostaną zrobione zdjęcia. Poza tym, ponieważ mocz przepływa dyfuzyjnie, można skutecznie zapobiegać agregacji upostaciowanych elementów.

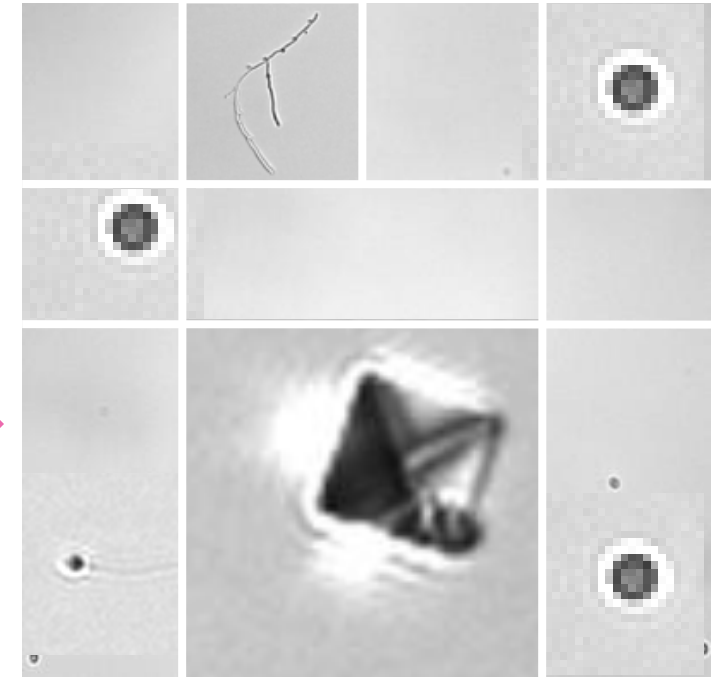
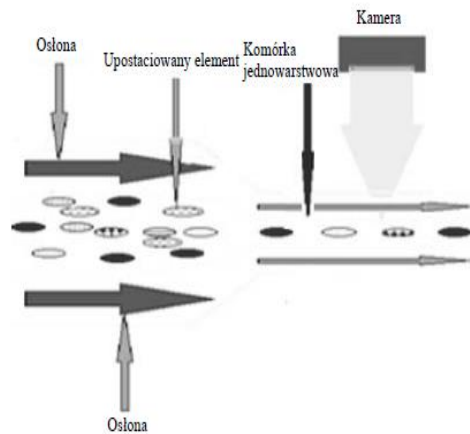
Badanie osadu - Stała kuweta przepływowa



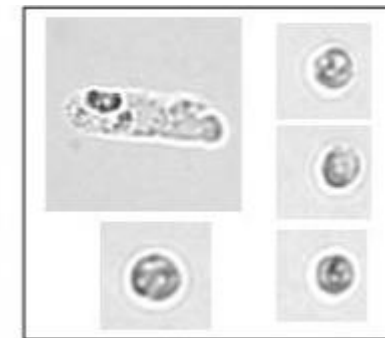
Technologia opłaszczania podczas przepływu
Powoduje, że element osadu próbki
moczu przepływa niezależnie w postaci
jednowarstwowej komórki.

- **Technologia fotografowania z dużą szybkością**
Każdy element osadu zostanie sfotografowany
kamerą CCD z 400-krotnym powiększeniem, 2500
zdjęć dla każdej próbki

Elementy upostaciowane



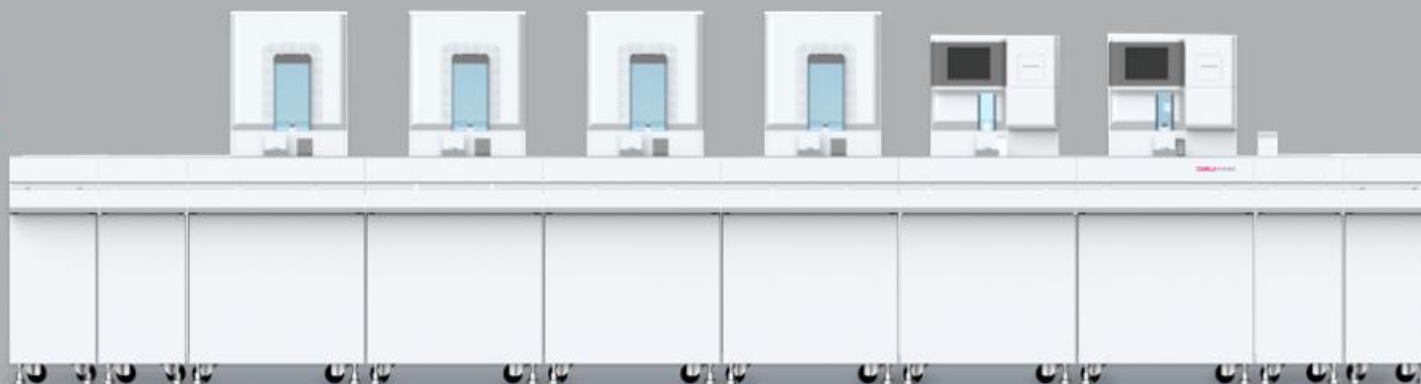
Technologia szybkiej fotografii: Próbka moczu pokryta płynem osłonowym przepływa do kuwety przepływowej i przechodzi przed soczewką mikroskopu w postaci płaskiego przepływu laminarnego. Jej grubość i położenie znajdują się w zasięgu soczewki mikroskopu. Zgodnie z zasadą obrazowania z przepływem osłonowym, wszystkie cząstki przejdą przed soczewką bezpośrednio w linii z soczewką w jej maksymalnym obszarze przekroju. Gdy pole mikroskopu zostanie oświetlone źródłem światła, natychmiast zostaną zrobione zdjęcia wszystkich przechodzących upostaciowanych elementów w moczu



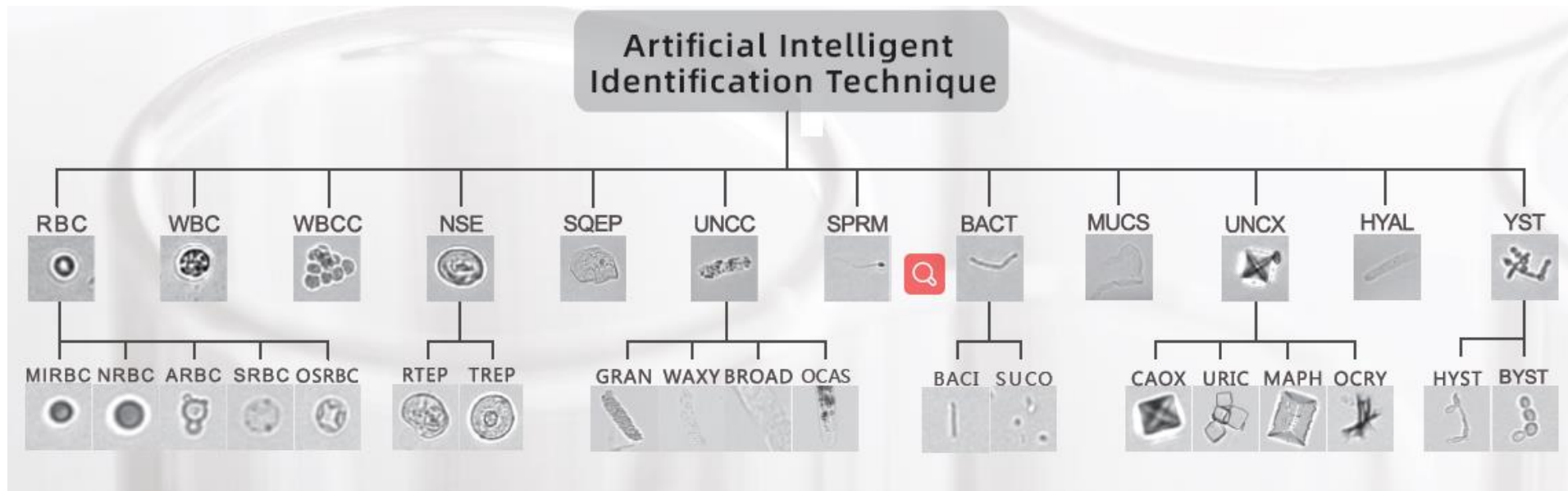
Oprogramowanie do automatycznego rozpoznawania upostaciowanych elementów w moczu dokona klasyfikacji, ilość sfotografowanych obrazów cząstek i objętość zeskanowanej próbki moczu zostaną wykorzystane do obliczenia stężenia upostaciowanych elementów. Wynik może być reprezentowany przez liczbę zawartą na mikrolitr .

MUS-3600








Urinalysis System



Katalog MUS 3600- identyfikowane elementy osadu



Różnicowanie erytrocytów walidacja obrazów

Classification / Klasyfikacja	Abbreviation / Skrót	Picture of example / Przykładowe zdjęcie
Normal red blood cell Erytrocyty świeże	NRBC	
Microcyte Mikrocyty (erytrocyty świeże)	MIRBC	
Acanthoid erythrocyte Akantocyty (świeże)	ARBC	
Erythrocyte ghost Erytrocyty wyługowane	SRBC	
Other poikilocytes Inne poikilocyty (erytrocyty świeże)	ORBC	
White blood cell Leukocyty	WBC	
White blood cell cluster Skupiska leukocytów	WBCC	

Inne elementy walidacja obraz

- **RBC:** Identify RBC subclasses automatically to indicate the source of hematuria effectively.





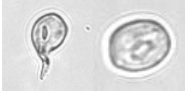



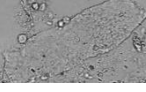

- **Cast:** In addition to identify hyaline cast, 3 pathological casts including granular cast, waxy cast and broad cast can be identified automatically to indicate the degree of kidney damage.



- **Crystal:** To indicate pyelolithiasis, renal calculi, ureterolithiasis, urolithiasis, vesical calculi, urethral calculi and liver disease.



Inne elementy walidacja obrazów

Squamous epithelial cells Nabłonki płaskie/wielokątne	SQEP	
Renal tubular epithelial cell Komórki nabłonkowe kanalików nerkowych	RTEP	
Transitional epithelial cell Komórka nabłonka przejściowego	TREP	
Hyaline cast Wąleczki hialinowe/szkliste	HYAL	
Granular cast Wąleczki ziarniste	GRAN	
Waxy cast Wąleczki woskowe	WAXY	
Broad cast Wąleczki szerokie	BROAD	
Other casts Inne wąleczki	OCAS	

Artefakty

!!!

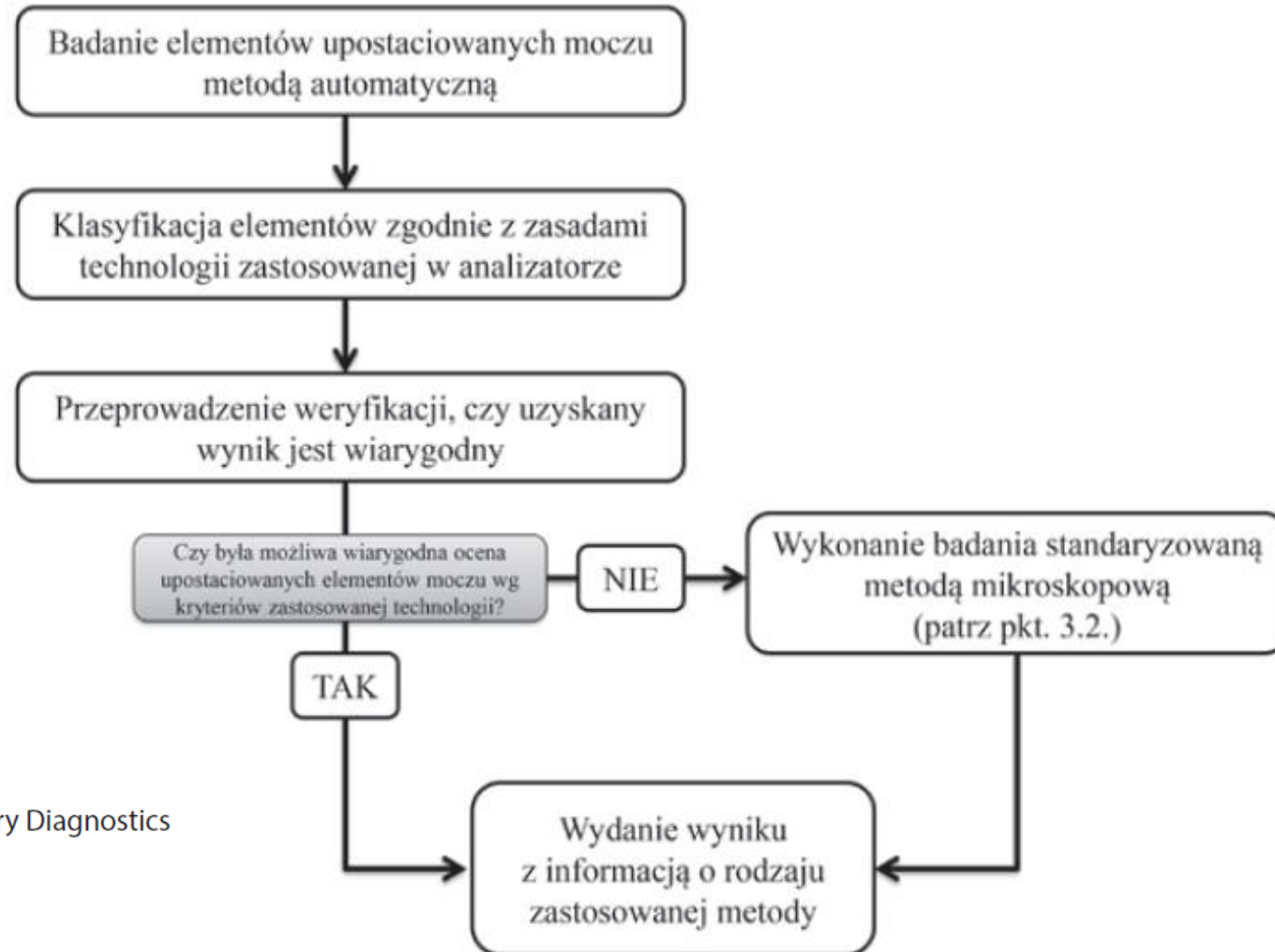
Profilowanie znaczenia osadu moczu

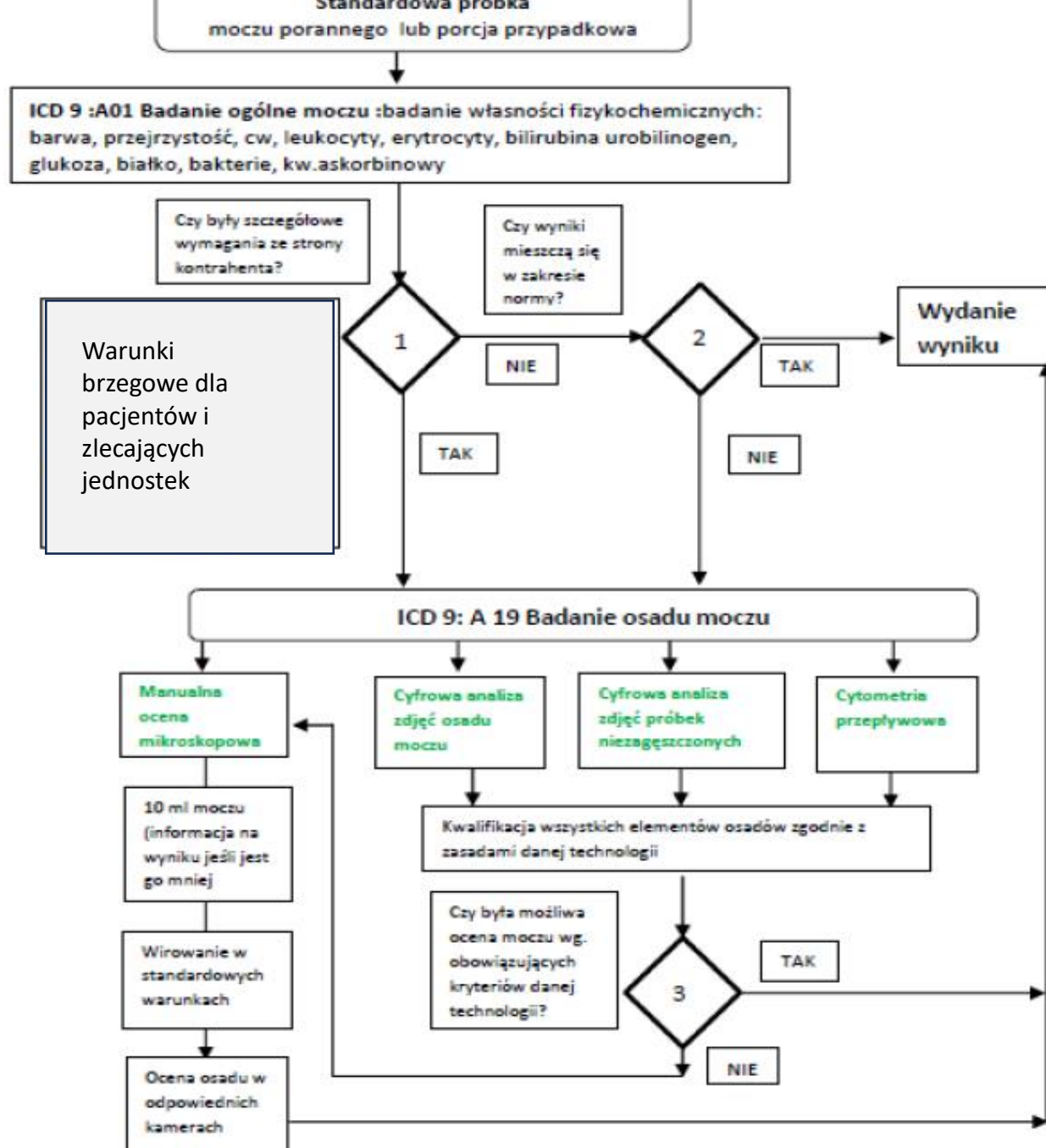
Tabela III. Poziomy różnicowania upostaciowanych elementów moczu w zależności od profilu badania laboratoryjnego.

Poziom podstawowy	Poziom zaawansowany	Poziom specjalistyczny
Krwinki czerwone (erytrocyty)	Jakościowe zróżnicowanie subpopulacji erytrocytów ^a	Zróżnicowanie i ocena odsetkowa subpopulacji erytrocytów: <ul style="list-style-type: none"> • erytrocyty izomorficzne • erytrocyty dysmorficzne • akantocyty • erytrocyty wyługowane
Krwinki białe (leukocyty)	Krwinki białe (leukocyty) ^b	Zróżnicowanie i ocena odsetkowa leukocytów: <ul style="list-style-type: none"> • limfocyty • monocyty i makrofagi • neutrofile • eozynofile • bazofile • komórki Sternheimera-Malbina
Komórki nabłonka: <ul style="list-style-type: none"> • płaskiego • małe komórki nabłonkowe 	Komórki nabłonka: <ul style="list-style-type: none"> • płaskiego • przejściowego • z kanalika nerkowego • atypowe (do identyfikacji patomorfologicznej) 	Komórki nabłonka: <ul style="list-style-type: none"> • płaskiego • przejściowego • z kanalika nerkowego, z podziałem na komórki z kanalika proksymalnego, dystalnego i zbiorczego, • jelitowego (pojawiają się po operacji pęcherza) • atypowe (do identyfikacji patomorfologicznej)
Walczki: <ul style="list-style-type: none"> • szkliste, • inne niż szkliste 	Walczki: <ul style="list-style-type: none"> • szkliste, • inne niż szkliste, w tym: <ul style="list-style-type: none"> – erytrocytarne – leukocytarne – z komórek kanalika nerkowego – ziarniste – woskowe – tłuszczowe – hemoglobinowe – mioglobinowe – bilirubinowe – mieszane 	Walczki: <ul style="list-style-type: none"> • szkliste, • inne niż szkliste, w tym: <ul style="list-style-type: none"> – erytrocytarne – leukocytarne – z komórek kanalika nerkowego – ziarniste – woskowe – tłuszczowe – hemoglobinowe – mioglobinowe – bilirubinowe – mieszane

diagnostyka laboratoryjna Journal of Laboratory Diagnostics

Diagn Lab. 2019; 55(3): 145-198





Kontrola jakości



diagnostyka laboratoryjna Journal of Laboratory Diagnostics
Diagn Lab. 2019; 55(3): 145-198

Tabela IX. Wewnętrzna kontrola jakości i zewnętrzna ocena jakości badania upostaciowanych elementów moczu.

Rodzaj kontroli	Sposób kontroli	Poziom kontroli
Wewnętrzna kontrola jakości (IQC)	Kursy i szkolenia personelu	Ocena wiarygodności metody zliczania elementów moczu
	Materiał kontrolny zawierający utrwalone krwinki	oraz ocena umiejętności identyfikacji elementów upostaciowanych moczu
	i/lub podwójna ocena tej samej próbki moczu natywnego	Ten sam preparat oceniany niezależnie przez dwóch diagnostów Dokumentacja wyników badania
Zewnętrzna ocena jakości (EQA)	Uczestnictwo w programie zewnętrznej oceny jakości	Ocena wiarygodności metody zliczania elementów moczu oraz ocena umiejętności identyfikacji elementów upostaciowanych moczu Dokumentacja wyników badania próbek kontrolnych

PODSUMOWANIE



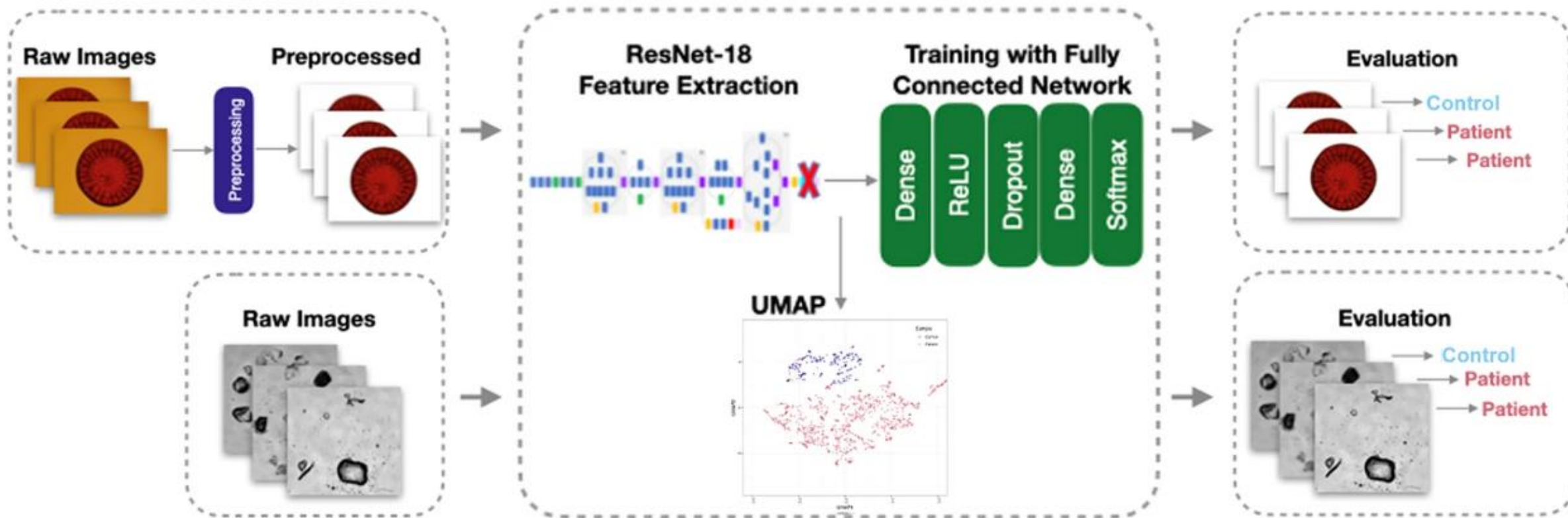


Automatyczne analizatory osadu moczu

- Metoda jest wystandaryzowana, powtarzalna
- Skracają czas wykonania badania
- Otrzymujemy wynik ilościowy
- Działają w oparciu o dwie metody;
 - ✓ technikę cytofluorymetrii przepływowej
 - ✓ cyfrową analizę obrazów mikroskopowych.

I co dalej ?

Od: [Sztuczna inteligencja wspomaga analizę wzorców krwi i moczu pacjentów w celu nieinwazyjnej i dokładnej diagnozy raka pęcherza moczowego](#)



Schematyczny przegląd przepływu pracy opartego na sztucznej inteligencji dla klasyfikacji pacjentów/kontroli BCa na próbkach krwi i moczu.



Urine Sample



Processing

Metabolomics
BNomics
Proteomics
Urinary Function
Urine Cytopathology

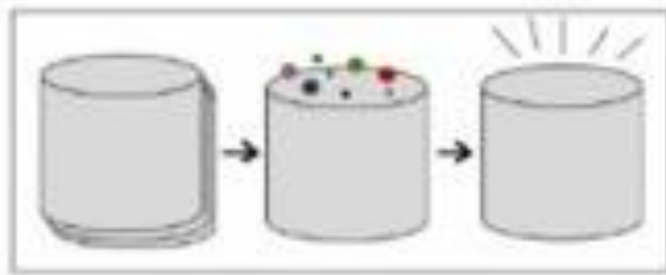
Potential Biomarkers



Input Data



Split into Train and Test Set



Data Preprocessing and Cleaning



Designing the Model using the Potential Biomarkers



Getting Key Performance Indicators

EKSPERT



Diagnostyka+

Dziękuję



Danuta Kozłowska
danuta.kozlowska@diag.pl tel 663 680 186

diagnostyka.pl

Literatura:

1. **Ewaluacja oznaczeń osadu moczu metodą mikroskopową i cytofluorymetrii przepływowej** – Panek Andrzej praca własna – wykład Zawiercie 2012
2. **Automatyzacja badania osadu moczu** - PRACE ORYGINALNE -Bogdan SOLNICA Wojciech GERNAND -Nefrologia i Dializoterapia Polska . 2007 . 11 . Numer 1
3. **European Urinalysis Guidelines** Scand J Clin Lab Invest 2000; 60: 1 ± 96
4. **Automatyzacja analizy moczu z automatyczną walidacją wyników** przy użyciu SIS-U Sysmex
5. **Badanie ogólne moczu cz.1 -Wpływ czynników fazy przedanalizy i analitycznej** - Joanna Kamińska, Halina Kemon, Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
6. **Rutynowe badanie osadu moczu – możliwości poprawy jakości wyników poprzez wdrożenie standaryzowanej procedury badania**- Agnieszka Ćwiklińska¹, Marta Campoverde Parra¹, Barbara Kortas-Stempak^{1,3}, Małgorzata Wróblewska^{2,3}, Barbara Moteka¹, Marta Czyżewska², Agnieszka Stencel¹, Anastasis Pacanis^{1,3} Zakład Chemii Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny; ²Katedra Biochemii Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny; ³ Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce diagnostyka laboratoryjna Journal of Laboratory Diagnostics 2009 • Volume 45 • Number 3 • 219-229
7. **Materiały firmy Argenta**