

# İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Tanısında İdrar Akım Sitometrisi ve İdrar Kültürü Sonuçları Arasındaki İlişkiler

Işın Akyar<sup>1</sup>, Mustafa Serteser<sup>2</sup>, Gülçin Güldamla<sup>3</sup>, Sesin Kocagöz<sup>1</sup>, Tanıl Kocagöz<sup>1</sup>, İbrahim Ünsal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Acıbadem, Labmed Laboratuvarları, İstanbul, Türkiye

## Özet

**Amaç:** İdrar yolu enfeksiyonlarının tanısında altın standart yöntem kültürdür. Bununla birlikte, erken ve uygun tedaviye başlamak için kısa sürede sonuç veren bir teste gerek duyulmaktadır. İdrar akım sitometrisinden bu konuda bilgi verici bir test olarak yararlanılabilir. Biz de çalışmamızda idrar yolu enfeksiyonlarında hızlı tanıya yardımcı olması açısından idrar akım sitometrisi ile kültür sonuçları arasındaki ilişkiyi incelemeyi hedefledik.

**Gereç ve yöntemler:** Hastaneye başvuran toplam 3418 hastanın idrar örneklerinde UF-100 akım sitometrisi (Sysmex Corporation, Japan) ile bakteri ve lökosit incelenmiştir. UF- 100 ile elde edilen sonuçlar örneklerin kültürleri ile karşılaştırılmıştır. Üreme saptanan kültürlerdeki mikroorganizmaların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları Phoenix (Becton Dickinson, U.S.A.) ile çalışılmıştır.

**Bulgular:** 3418 idrar kültürünün 739'u (% 22) pozitif olarak saptanmıştır. Akım sitometrisinde kültür ile en iyi uyumluluk gösteren eşik değeri bakteriler için 3000/µL (duyarlılık = % 19,37; özgüllük = % 97,76) ve lökositler için de 21/µL (duyarlılık = % 57,65; özgüllük = % 85,99) olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** Kısa sürede sonuçlanan bir teste gereksinim olmakla birlikte bu amaçla denenen UF-100 akım sitometrisinin kullanımı idrar kültür sonuçları hakkında tam olarak fikir vermemektedir. İdrar akım sitometrisinde lökosit sayımı bakteri sayımı yapılmasına kıyasla daha güvenilir sonuçlar vermektedir. İdrar analizinin idrar akım sitometrisi kullanılarak yapılması zaman kazanılmasını sağlamakta ve bakteriyolojik kültür sonuçlarının elde edilmesi öncesinde hekimlere güvenilir bir lökosit sayımı bilgisi vermektedir.

**Anahtar sözcükler:** idrar yolu enfeksiyonları, bakteriüri

## CORRELATIONS BETWEEN URINE FLOWCYTOMETER PARAMETERS AND URINE CULTURE IN URINARY TRACT INFECTIONS

### ABSTRACT

**Aim:** As a gold standard, culture is the method of choice for the diagnosis of urinary system infections. Nevertheless, a test that gives result in a short period of time is needed for the early proper treatment. Urine flowcytometer may be used for this purpose and it may be an informative test. In our study we aimed to find the correlations between urine flowcytometer results and bacterial culture in urinary tract infections for rapid diagnosis of urinary infections.

**Material and methods:** Total of 3418 urine specimens belonging to patients admitted to hospital were evaluated for the presence of leukocytes and bacteria with the UF-100 flow cytometer (Sysmex Corporation, Japan). The results obtained by the UF-100 were compared with the ones obtained by bacterial cultures of the same urine samples. The positive cultures' identification and antibiotic susceptibilities were performed by Phoenix (Becton Dickinson, United States of America).

**Results:** Among 3418 urine cultures, 739 were culture positive (22 %). In urine flowcytometry the best cut-off values that correlated for bacteria were 3000/µL (sensitivity = 19,37 %, specificity = 97,76 %) and 21/µL for leukocytes (sensitivity=57,65 %, specificity= 85,99 %).

**Conclusion:** Although a test that provides result in a short time is needed, the UF-100 cytometer can not be used for his purpose since it does not accurately predict the outcome of urine cultures. The leukocyte count in regard to urine flowcytometer is more reliable than bacteria count. A flow cytometric urinalysis analyzer operating in a time saving manner helps the clinicians get a trustworthy leukocyte count information prior to bacterial culture results.

**Key words:** urinary tract infection, bacteriuria

**I**drar yolu enfeksiyonlarının tanısında kültür "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Kültür sonuçlarını elde edene kadar geçen sürede idrar incelemesi kısa sürede sonuç vermesi nedeni ile olası bir enfeksiyon hakkında en fazla bilgi verebilen bir testtir. Bu hastalıkların tanı ve sağaltımında başarısızlıklar ileride kronik hastalıklara yol açabilmektedir (1).

İdrar incelemelerinde CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre belirli işlemlerin yapılması ile bir standart elde edilmeye çalışılması ile birlikte; santrifüj işleminin süresi ve hızı, idrarın kaptan kaba aktarımı, idrar miktarı, mikroskopi için kullanılan lam ve lamellerin temizliği, laboratuvar çalışanlarının özellikleri gibi laboratuvar-dan laboratuvara değişebilen bazı farklılıkların testi etkilediği gözlemlenmektedir (2, 3).

Bu nedenlerle, idrar incelemelerinde manüel çalışma yerine otomatize sistemlerin kullanılması test sonuçlarının daha güvenilir ve kesin olarak saptanmasını sağlamaktadır.

Bu sistemlerin kullanımı ile manüel incelemelerde saptanan ve test sonucunu etkileyen değişkenlerin sayısı en aza indirilmektedir (4). Buna ek olarak da yine otomatize sistemlerle idrarda bakteri sayısının saptanabilmesi idrar yolu enfeksiyonlarının ön tanısında kullanılabilir bir özelliktir (3).

## Gereç ve yöntem

Kurumumuza başvuran idrar yolu enfeksiyonu yakınmaları olan 3418 hastadan idrar örnekleri alınmıştır. Toplam, 2635 kadın ve 783 erkek hastadan alınan idrar örnekleri aşağıda belirtilen bölümlerden toplanmışlardır: dahiliye (n=1319), kadın hastalıkları ve doğum (n= 625), çocuk hastalıkları (n= 572), acil (n= 411), üroloji (n= 302), yoğun bakım birimi (n= 54), kardiyoloji (n= 24), genel cerrahi (n= 21), ortopedi (n= 20), kardiyovasküler cerrahi (n= 19), kulak burun boğaz (n= 13), deri hastalıkları (n= 10), göğüs hastalıkları (n= 10), nöroloji (n= 9), beyin cerrahisi (n= 9).

Standart uygulamalar gereği, bu hastalar bilgilendirildikleri gibi temizliklerini yaptıktan sonra idrar örneğini "orta akım idrar örneği" olarak vermişlerdir. Alınan idrar örnekleri %5'lik Kanlı agar ve Eosin-Methylene Blue (EMB) agar plaklarına 0,001 mL aktaran özelerle ekilmişlerdir. Ekilen tüm plaklar 24 saat 37°C'ta inkübe edilmişlerdir. Bakteri üremesi mililitrede koloni oluşturan birimler olarak ifade edilmiştir (CFU/mL). Mikroorganizmaların izolasyon işlemleri standart mikrobiyolojik yöntemlerin kullanılması ile

tür saptama işlemleri ise otomatize cihazların kullanımı ile gerçekleştirilmiştir.

### UF-100 ile idrar incelemesi

Kültür ekimleri yapılan hasta örnekleri bakteri ve lökosit sayılarının saptanabilmesi amacıyla UF-100 akım sitometrisi aygıtı ile bekletilmeksizin incelenmiştir. Bu yöntemde, yaklaşık olarak 0,8 mL idrar alınıp K<sub>3</sub>EDTA ("Tripotassium ethylene diamine tetraacetic acid") içeren özel bir seyreltici ile dört kez seyreltilerek amorf fosfatların şelasyon yapması sağlanmaktadır. Örnekler 37°C'a dek ısıtılarak amorf üratların erimesi sağlanır. Örnek-seyreltici karışımında biri "carbocyanine" diğeri "phenanthridine" olmak üzere iki floresan boya bulunmaktadır. "Phenanthridine" nükleik asitleri boyar ve turuncu renkte bir floresans verir. Diğer taraftan, "carbocyanine" negatif yüklü hücre zarlarını, çekirdek zarlarını ve mitokondriyi boyayarak yeşil renkte bir floresans vermektedir.

Bu yöntem ile ileri doğru saçılarak ilerleyen ışığın yoğunluğu ("forward scattered light intensity=Fsc") hücrelerin büyüklükleri hakkında bilgi vermektedir. İleri doğru saçılarak ilerleyen ışığın atım genişliği ("forward scattered light intensity pulse width=Fscw") ise hücrelerin uzunluğunu saptamaktadır. Floresan ışık yoğunluğu boya yoğunluğunu yansıtmaktadır ve floresan ışık atım genişliği de boyanan parçacıkların uzunluğunu göstermektedir. İdrarda bulunan hücreler ve şekilli elemanlar farklı şekil ve boyama özelliklerine sahip olmaları nedeni ile idrarda bulunan lökositler, eritrositler, epitel hücreleri, bakteriler, silindirler, sperm ve kristaller bu yöntem aracılığı ile kolayca ayırt edilebilmektedir.

### İstatiksel inceleme

Lökositler için yöntem karşılaştırması "Pearson's Correlation test" ile ROC incelemesi de MedCalc 6.0 software (Mariakerke, Belgium) ile yapılmıştır.

## Sonuçlar

3418 idrar kültürünün 739'u (%22) yukarıda belirtilen kriterlere göre enfeksiyon yönünden pozitif kabul edilmiştir.

İdrar kültürlerinde üreme olan ve tür saptaması yapılan mikroorganizmalar: *Escherichia coli* %65, *Klebsiella spp.* %11, *Proteus spp.* %6, *Enterococcus faecalis* %5, *Staphylococcus spp.* %4, *Streptococcus spp.* %3, *Candida spp.* %2, *Pseudomonas aeruginosa* %0,9, *Citrobacter* %0,8, *Morganella morganii* %0,7, *Serratia marcescens* %0,4 oranlarında saptanmışlardır.

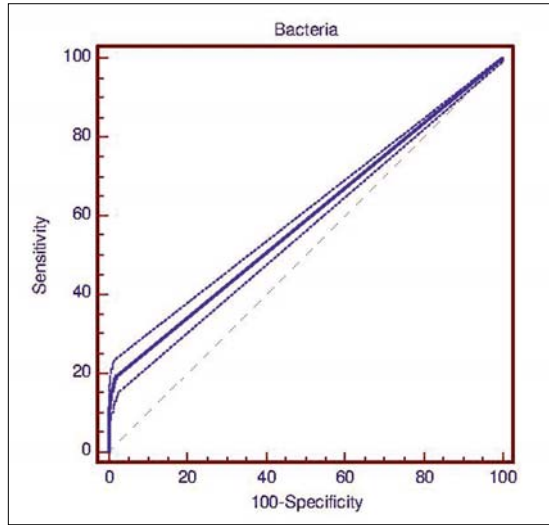
**Tablo 1.** Bakteri ve lökositlerin tanımlanmış duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif olabilirlik oranları.

Kriter	N	Duyarlılık	%95 CI	Özgüllük	95% CI	+LR	-LR	
Bakteri	>3000	217	19,37	16,5 - 22,5	97,76	97,0 - 98,3	8,63	0,82
Lökosit	>21	893	57,65	54,0 - 61,2	85,99	84,5 - 87,4	4,12	0,49

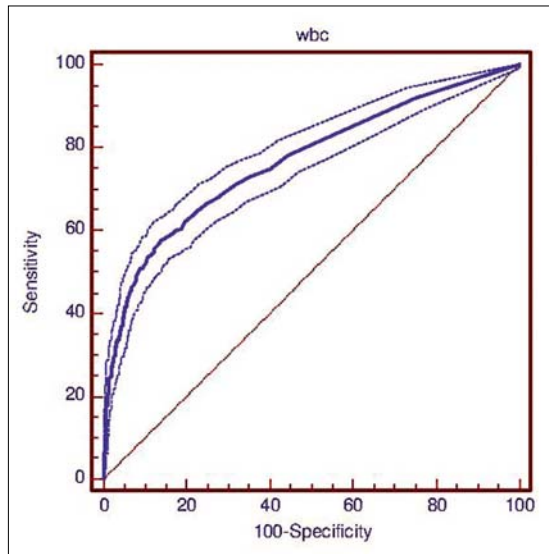
CI: Güvenlik aralığı, LR: Olabilirlik oranları

Lökosit sayısı kıyaslaması için korelasyon katsayısı 0,90 olarak saptanmıştır. Bakteri ve lökosit için en iyi olarak saptanan eşik değerleri sırasıyla 3000/μL(10<sup>6</sup>CFU/ml) ve 21/μL'dir (Tablo 1).

Bakteri ve lökositler için ROC eğrilerinin altındaki alan sırasıyla 0,588 (%95 CI=0,569-0,606; p=0,0001) ve 0,767 (%95 CI=0,752-0,782; p=0,0001) olarak hesaplanmıştır (Şekil 1).



**Şekil 1.** Bakteri sayımı için ROC eğrisi. X eksenispecificity(özgüllük), Y eksenisensitivity (duyarlılık)



**Şekil 2.** Lökosit sayımı için ROC eğrisi. X eksenispecificity(özgüllük), Y eksenisensitivity (duyarlılık)

Bakteri ve lökositlerin tanımlanmış duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif olabilirlik oranları (LR) Tablo 1'de gösterilmiştir.

## Tartışma

İdrar yolu enfeksiyonlarında klinik bulgu ve belirtilerin büyük önem taşımalarına karşın idrar incelemeleri ve kültürleri de aynı zamanda tanı konmasında önemli faktörlerdir. İdrar kültürü altın standart olmasına karşın kültür örneklerinin çok büyük bir kısmında da üreme olmamakta, bu nedenle tanıda zaman kaybı yaşanmakta ve maliyet de artmaktadır. Etkili bir tarama testinin kullanımı ile gereksiz yapılan incelemeler azaltılabilir. Sysmex UF-100 akım sitometrisi idrar örneklerinde bulunan hücreleri ve silindireleri saymak amacıyla geliştirilmiş bir aygıttır (5). İdrar incelemelerinde analiz öncesi dönemin çok büyük önemi vardır. Akım sitometrisi ile farklı hücre tipleri değerlendirilerek inceleme kalitesi arttırılmaktadır. Ayrıca, akım sitometrisi hücre sayısına çok etki eden seyreltimin doğru olmasını ve iletkenliğin ölçülebilmesini de sağlayabilmektedir (6). İdrar yolu enfeksiyonlarının tanısında bakteri ve lökositler için tanımlanan eşik değerleri önemlidir. Bu çalışmada, bakteri ve lökosit için en iyi olarak belirlenen eşik değerleri sırasıyla 3000/μL (duyarlılık = %19,37; özgüllük = %97,76) ve 21/μL (duyarlılık = %57,65; özgüllük= 85,99 %) saptanmıştır. Benzer şekilde, Hanneman-Pohl ve ark.(7) bakteri ve lökosit için en iyi olarak belirlenen eşik değerlerini sırasıyla 3300/ μL (duyarlılık =%74; özgüllük =%93) ve 30/μL (duyarlılık=%85,7; özgüllük=85 %) hesaplamışlardır. Fenill ve ark. (8) bakteri için 600-4000/μL değerleri arasında yüksek duyarlılık ve özgüllük bildirmişler ve ideal eşik değerini 1800/μL (duyarlılık=%87; özgüllük=%80) olarak tanımlamışlardır. Lökosit için ise eşik değerini 45/μL (duyarlılık=%71; özgüllük=%88) olarak saptamışlardır.

Kellog ve ark. (9) bu konuda çalışılacak bir tarama testinin duyarlılık ve negatif prediktif değerlerinin %95'in üzerinde olması gerektiğini belirtmişlerdir.

Sysmex UF-100 akım sitometrisi aygıtında kullanıldığı bir test algoritmasının denendiği ve rutin mikrobiyoloji la-

boratuarında kalite ve etkinliğin arttırıldığı gösterildiği bazı çalışmalar bulunmaktadır (5,10,11,12).

Bizim yaptığımız çalışmada, amacımız olası üremeleri önceden tahmin etmek ve üreme olmayacakları hızlı ve güvenli bir şekilde saptamak idi.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz veriler UF-100 akım sitometri aygıtının kullanılarak idrar kültürlerinde olası üremeleri çok güvenli bir şekilde tahmin edebilmemize yardımcı olmadı.

Yine de, idrar incelemelerinde kullanılan bu yöntem ile değerlendirme yapılarak özellikle lökosit sayısı hakkında daha güvenilir bilgiler sağlanmıştır.

Akım sitometrisinin idrar incelemelerinde kullanılması, idrar kültürlerinde enfeksiyon etkeni üretilebileceğini düşündürebilmesi açısından manuel yöntemlere göre daha güvenilir olması nedeniyle, idrar yolu enfeksiyonlarının öngörülmesinde yararlanılabilecek bir yöntemdir.

### Kaynaklar

1. Zaman Z, Roggeman S, and Verhaegen J. Unsatisfactory performance of flow cytometer uf-100 and urine strips in predicting outcome of urine cultures. *J Clin Microbiol* 2001; 39 (11): 4169 – 71.
2. CLSI Urinalysis and collection, transportation and preservation of urine specimens; approved guideline, CLSI document GP 16-A (ISBN 1-56238). NCCLS, 771 East Lancaster Avenue, Villanova, Pennsylvania 19085 USA 2009.
3. Gadeholt H. Quantitative estimation of urinary sediment with special regard to sources of error. *Br Med J*. 1964; 1: 1547- 49.
4. Koken T, Aktepe O C, Serteser M, Samli M, Kahraman A, Dogan N. Determination of cut-off values for leukocytes and bacteria for urine flow cytometer (UF-100) in urinary tract infections. *Int Urol Nephrol* 2002; 34 : 175- 8.
5. Evans R, Davidson M M, Sim L R W and Hay A J. Testing by Sysmex UF-100 flow cytometer and with bacterial culture in a diagnostic laboratory: a comparison. *J Clin Pathol* 2006; 59: 661- 2.
6. Delanghe J R, Langlois M ,Wuyts B, Buyzere M L. Performance of urinary flow cytometry in predicting outcome of urine cultures. *J Clin Microbiol* 2002; 40 (6): 2314 – 5.
7. Hannemann - Pohl K, Carsten Kampf S. Automation of urine sediment examination: a comparison of the Sysmex UF-100 automated flow cytometer with routine manual diagnosis (microscopy, test strips, and bacterial culture). *Clin Chem Lab Med* 1999; 37(7): 753 - 64.
8. Fenill D, Pirovano B. The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100™) *Clin Chem Lab Med* 1998; 36(12): 909 - 17.
9. Kellog J A, Manzella J P, Shaffer S N, Schwartz B B. Clinical relevance of culture versus screens for the detection of microbial pathogens in urine specimens. *Am J Med* 1987; 83: 739 - 45.
10. Lun A, Ziebig R, Priem F, Filler G, Sinha P. Routine workflow for use of urine strips and urine flow cytometer UF-100 in the hospital laboratory. *Clin Chem* 1999; 45:1305–7.
11. Ben-Ezra J, Bork L, McPherson RA. Evaluation of the sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem* 1998; 44: 92–5.
12. Tanaka Y, Yamamoto J, Hamaguchi Y. Overview of a fully automated urine cell analyzer UF-50. *Sysmex J Int* 1999; 9:86–92.