



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Utvärdering av SediVue Dx med hund- och katturin

Kan ett instrument ersätta manuell räkning
av urinsediment i mikroskop?

Evaluation of SediVue Dx with canine and feline urine

Can an instrument replace manual microscopy
cell count of urine sediment?

Beatrice Utterström

*Uppsala
2020*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

Utvärdering av SediVue Dx med hund- och katturin

Kan ett instrument ersätta manuell räkning av urinsediment i mikroskop?

Evaluation of SediVue Dx with canine and feline urine

Can an instrument replace manual microscopy cell count of urine sediment?

Beatrice Utterström

Handledare: Inger Lilliehöök, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Anna Svensson, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Kursansvarig institution: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2020

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: urinsediment, SediVue, hund, katt, erythrocyt, leukocyt

Key words: urine sediment, SediVue, canine, feline, erythrocyte, leukocyte

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Analys av urin är en viktig undersökning som ger information om urinvägarna och njurarnas funktion samt ibland även om sjukdomar utanför urinvägarna, som exempelvis diabetes mellitus. Urinanalysen består av att undersöka urinens färg och transparens, specifik vikt, kemisk analys via urinsticka och manuell bedömning av urinsediment. Alla undersökningar är viktiga för att kunna tolka resultaten korrekt. Manuell bedömning av urinsediment i mikroskop ger information om urinens sammansättning av celler och strukturer, som leukocyter, erythrocyter, epitelceller, kristaller, cylindrar med flera, men det är dock den del av urinanalysen som tar längst tid och dessutom kan påverkas av flest felkällor. SediVue Dx är ett instrument som med hjälp av mikroskop och automatisk kamera bedömer urinsediment. Instrumentet centrifugerar urinen, analyserar cirka 45 synfält och tar 70 stycken fotografier på sedimentet inom 3 minuter. Provsvaret anges numeriskt, i text och fotografier som bör granskas.

Syftet med studien var att utvärdera urininstrumentet SediVue Dx för att bedöma om det kan ersätta manuell bedömning av urinsediment. Studien utfördes genom att jämföra manuell bedömning av urinsediment i mikroskop med resultat från SediVue Dx, med fokus på leukocyter, erythrocyter och bakterier. 62 urinprover från hund och katt användes i studien. Dessa prover var spontankastade eller insamlade via cystocentes och analyserades inom 4 timmar från provtagning.

SediVue Dx överensstämde i de flesta fall med den manuella räkningen av leukocyter och erythrocyter. Medianen i skillnad mellan metoderna var 0 leukocyter respektive 1 erytrocyt per synfält men det förekom ett fåtal prover som hade upp emot 21 leukocyter och 9 erythrocyter per synfält i skillnad. Instrumentet flaggade för bakterieförekomst i färre prover än med mikroskopering och färgat utstryk av urin. SediVue Dx ersätter inte den manuella bedömningen då fotografierna fortfarande måste granskas men bedömningen kan ske via SediVue Dx i stället för i mikroskop. Det finns även användning för instrumentet på kliniker med mindre kunskap av bedömning av urinsediment då fotografierna sparas och kan bedömas senare eller skickas till person med kompetens. Det ger klinikerna möjlighet att analysera färsk urin samt minska tiden från provtagning till korrekt behandling av patient.

SUMMARY

Urinalysis is an important test that gives information about the urinary tract, kidney function and sometimes also about metabolic diseases, such as diabetes mellitus. Urine analyzes includes urine color and clarity, specific gravity, biochemical analysis with urine dip stick and microscopic examination of urine sediment. All parts of the urinalysis are important to be able to interpret the results correctly. Manual microscopic examination of the urine sediment provides information about the composition of the urine, but it is the part of the urinalysis that is more time consuming and also affected by sources of error. SediVue Dx is a urine instrument that analyses the urine sediment with a microscope and an automated camera. The instrument centrifuges the urine, analyses about 45 high power fields and takes 70 photographs of the sediment in 3 minutes. The result is received in numbers per high power fields, text results and photographs that needs to be examined.

The purpose of this study was to evaluate SediVue Dx and to see if it is possible for the instrument to replace the manual microscopic evaluation of urine sediment. The study compared manual microscopic evaluation of the sediment with SediVue Dx with focus on leukocytes, erythrocytes and bacteria. 62 urine samples from dogs and cats were included in the study. The samples were collected by normal voiding or cystocentesis and analyzed within 4 hours of collection.

SediVue Dx agreed with the manual evaluation of leukocytes and erythrocytes in most samples. The median of the difference between the two methods of urine sediment examination was 0 leukocytes and 1 erythrocyte per high power field. A few samples had a difference up to 21 leukocytes and 9 erythrocytes per high power field between the methods. Bacteria were marked by the instrument in fewer samples than by manual microscopy and dyed dry preparations. SediVue Dx does not replace the manual microscopic examination of the urine sediment, due to the need of manual examination of the photographs, but the examination might be done on SediVue Dx instead of with a microscope. SediVue Dx still has usability in veterinary clinics that lack expertise to examine the sediment by themselves, since the photographs are saved and can be reviewed by or sent to a person with knowledge about urine sediment. It gives the possibility for the clinics to analyze fresh urine and reduce the time from sample collection to correct treatment of the patient.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
Analys av urinprov	2
Urinens färg och transparens	2
U-specifik vikt	2
Urinsticka	3
Urinsediment	6
SediVue Dx	11
MATERIAL OCH METODER	12
Provmaterial	12
Analys av provmaterial	13
U-specifik vikt och urinsticka	13
Mikroskopisk bedömning av urinsediment	13
Analys av urinsediment med SediVue Dx	14
RESULTAT	15
Analys av prover	15
Avläsning SediVue Dx	15
Leukocyter	15
Erythrocyter	16
Bakterier	17
Andra celltyper	18
Epitelceller	18
Kristaller	18
Cylindrar	18
Precision	18
Användarvänlighet	18
DISKUSSION	19
KONKLUSION	23
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	24
Bakgrund	24
Urinsediment	24
Mikroskopisk bedömning	24
SediVue Dx	24
Studiens utförande	25
Resultat	25
REFERENSER	27

INLEDNING

Analys av urin är en viktig del i diagnostiken för att identifiera sjukdomar i urinvägarna samt metabola sjukdomar som exempelvis diabetes mellitus (Reine & Langston, 2005). En vanlig klinisk kemisk urinundersökning kan lätt utföras med enkla metoder på de flesta kliniker med tillgång till refraktometer, urinsticka och mikroskop (Wamsley & Alleman, 2007). Det är ett prisvärt test som kan användas som ett hjälpmedel vid ställande av diagnos, för att övervaka sjukdomsförlopp eller svar på behandling samt för att undersöka djur utan symptom för underliggande sjukdom (Fry, 2010). Att utföra en bra undersökning av urinsediment kräver utbildad personal inom ämnet för att resultatet ska bli så relevant som möjligt. Många veterinärer anser att de saknar kompetens för att utföra urinanalyser och väljer därför att skicka proverna till laboratorier med kompetens att analysera dessa.

En analys av ett urinprov består av att undersöka urinen makroskopiskt, specifik vikt, utföra biokemiska analyser via urinsticka samt undersökning av urinsedimentet i mikroskop (Fry, 2010; Reine & Langston, 2005). Mikroskopisk undersökning av urinsedimentet utförs för att se urinens sammansättning av celler och strukturer, som leukocyter, erythrocyter, epitelceller, kristaller, cylindrar, bakterier med flera. En ökning av celler och strukturer i sedimentet kan indikera sjukdom i urinvägarna som andra undersökningar inte upptäckt (Barlough *et al.*, 1981; Wamsley & Alleman, 2007).

Som standard används 5 ml urin vid analys då koncentrationen av celler och strukturer i urinen är beroende av volymen (Zink & Weinsten, 2012). Urinprover bör även analyseras inom 60 minuter för att få ett så korrekt resultat som möjligt (Wamsley & Alleman, 2007; Callens & Bartges, 2015). Därefter kan det ske kristallbildning, bakterietillväxt och lysering av celler vilket gör resultatet svårtolkat (Stockham & Scott, 2008). Om en veterinär väljer att skicka prover till laboratorier innebär det att tiden mellan provtagning och analys förlängs men också att tiden från provtagning till korrekt behandling av patient förlängs.

IDEXX Laboratories har utvecklat ett instrument, SediVue Dx, som kan bedöma och räkna celler i urinsediment från hund och katt på 3 minuter (Idexx, 2018). Idag finns ett likande instrument för hematologi men tekniken har först nyligen prövats på urinsediment. SediVue Dx skulle kunna förenkla analysen av urinprover och möjliggöra analys av en mindre mängd urin då den endast använder sig av 165 µl urin vid analys. Instrumentet ger möjlighet till snabb analys genom att finnas på kliniken. Då tiden från provtagning och analys minskar fås mer korrekta resultat samt snabbare behandling av patienter. SediVue Dx har i kongressrapporter och affischer visat gott resultat gällande överensstämming med manuell bedömning av urinsediment från hund och katt (Hernandez *et al.*, 2016; Alleman *et al.*, 2016). En nyligen publicerad studie av Hernandez *et al.* (2018) visar också god överensstämming mellan bedömningarna. Författarna kom även fram till att ytterligare studier behövs för att utvärdera SediVue Dx prestanda.

Denna studie utförs för att undersöka om instrumentet SediVue Dx kan ersätta manuell bedömning och räkning av urinsediment med fokus på leukocyter, erythrocyter och bakterier.

LITTERATURÖVERSIKT

Analys av urinprov

En viktig del i undersökningen av urinvägarna och njurarnas funktion är att analysera urinprov (Fry, 2010). Undersökningen kan också upptäcka metabola sjukdomar som diabetes mellitus (Reine & Langston, 2005). I den undersökningen ingår kontroll av urinens färg och transparens, specifik vikt, kemisk analys via urinsticka samt manuell bedömning av urinsediment (Reine & Langston, 2005). Alla undersökningar är viktiga vid analys av urin då de tillsammans möjliggör bättre tolkning och bedömning av resultaten (Osborne & Stevens, 1999a). Urinen bör undersökas inom 60 minuter från provtagning för att få ett så säkert resultat som möjligt (Callens & Bartges, 2015; Fry, 2010; Wamsley & Alleman, 2007). Fördröjning i analys av urinen kan leda till lysering av celler och föroreningar från bakterier (Osborne & Stevens, 1999b). För att minska risken att detta händer bör urinprovet förvaras i kyl. Efter 6-24 timmar från provtagning ökar riskerna för att kristaller bildas, speciellt om provet förvarats i 4 °C (Stockham & Scott, 2008).

Urinens färg och transparens

Normal urin har gul färg (Reine & Langston, 2005). Färgen kan variera mycket beroende på koncentration och innehåll (Wamsley & Alleman, 2007). Innehåll som kan missfärga urin är till exempel bilirubin, hemoglobin, erythrocyter och myoglobin men även en kraftigt koncentrerad urin kan missfärga (Callens & Bartges, 2015; Wamsley & Alleman, 2007). Färgen på urinen bör därför inte användas för att bedöma njurens förmåga att koncentrera urinen (Wamsley & Alleman, 2007). Hos individer med urin utan avvikelser efter analys har en korrelation mellan urinens färg och koncentrationsförmågan hos njuren identifierats (Cridge *et al.*, 2018). Av hundar med mörkgul urin var det dock 20 % som inte fick förväntat resultat och därför kan inte alltid färgen användas för bedömning av njurens koncentrationsförmåga (Cridge *et al.*, 2018).

Normal urin ska vara transparent (Callens & Bartges, 2015; Wamsley & Alleman, 2007). Kristaller, bakterier, fett, erythrocyter och andra celler etc. kan göra urinen grumlig. Även transparent urin kan innehålla avvikelser och därför bör uppföljande tester utföras för att bekräfta att denna typ av urin är normal (Callens & Bartges, 2015; Wamsley & Alleman, 2007).

U-specifik vikt

U-specifik vikt (USG) är ett mått på urinens vikt vid en specifik volym i förhållande till vikten av destillerat vatten av samma volym (Callens & Bartges, 2015). Värdet på USG påverkas därför av storleken, vikten och antalet partiklar i urinen. USG visar på njurens förmåga att resorbera och utsöndra vatten vid brist och överskott på detta (Callens & Bartges, 2015). Om djuret har en påverkan på njurfunktionen ses vanligen en oförmåga att kunna koncentrera urinen. Värdet över 1,030 för hund och 1,035 för katt talar för att njuren kan koncentrera urinen (Reine & Langston, 2005). USG varierar kraftigt hos friska individer då värdet är beroende av elektrolyter och mängden vätska i kroppen (Callens & Bartges, 2015). Därför är det viktigt att utvärdera USG efter djurets hydreringsstatus (Reine & Langston, 2005).

Vid utförande av testet används en refraktometer för hund och katt. Den använder sig av ljus som sänds ut i urinen och beroende på hur ljuset bryts mot lösta salter eller ämnen i urinen fås ett brytningsindex som sedan omräknas till USG. Ju fler lösta salter och ämnen i urinen i förhållande till mängden vatten desto högre USG (Wamsley & Alleman, 2007). Mätning av USG kan utföras med ocentrifugerad och centrifugerad urin då celler, cylindrar och de flesta kristaller inte bryter ljusets väg genom urinen (Stockham & Scott, 2008).

Urinsticka

Kemisk analys av urin används för att upptäcka renala och extrarenala patologiska processer i kroppen och ibland också för att utvärdera behandlingar (Stockham & Scott, 2008). För att utföra kemisk analys av urin används en urinsticka (Sink & Weinstein, 2012). En urinsticka består av en plastremsa med olika reagensfält (Sink & Weinstein, 2012). Vid kontakt med urin reagerar reagensfälten med färgförändring som kan läsas av manuellt mot en färdig tabell eller av ett instrument. Ett positivt svar på en urinsticka bör ses som ett kvalitativt resultat, exempelvis förekomst av blod i urinen, och därefter jämföra resultatet med USG och hur stark den positiva reaktionen var för att veta om resultatet anses rimligt (Stockham & Scott, 2008).

De parametrarna som vanligen finns på urinstickorna är glukos, keton, blod, pH, protein, nitrat och leukocyter (Stockham & Scott, 2008). Även urobilinogen, bilirubin samt specifik vikt kan finnas. Värden för leukocyter, nitrat, specifik vikt och urobilinogen anses inte vara pålitligt för djur då de flesta urinstickor vanligen är framtagna för humansidan (Wamsley & Alleman, 2007). Om urinen har stått i kylskåp och är kallare än rumstemperatur kan reaktionen på reagensfältet bli långsammare. Detta problem elimineras genom att urinen får bli rumstempererad innan analys (Wamsley & Alleman, 2007; Callens & Bartges, 2015).

Glukos

Detta reagensfält används för att ta reda på om individen har glukosuri (Wamsley & Alleman, 2007). Normalt sett ska det endast finnas väldigt lite glukos i urinen då proximala tubuli i njuren reabsorberar denna molekyl (Reine & Langston, 2005; Stockham & Scott, 2008). Orsaker till utslag på detta fält kan vara diabetes mellitus, skador på proximala tubuli eller stress hos katt, vilket gör att glukos inte absorberas (Stockham & Scott, 2008).

För att undvika falskt positiva resultat bör kontaminering av urinstickan med kemikalier som oxiderar undvikas (Stockham & Scott, 2008). Även blödning i urinvägarna, läkemedel (Cefalexin) eller fel förvaring av urinstickan kan ge falskt positivt resultat. Falskt negativa resultat kan orsakas av kall urin, vilket gör att reaktionen sker långsammare, mycket koncentrerad urin samt ketoner och bilirubinuri (Stockham & Scott, 2008). Även bakteriell överväxt och läkemedel som tetracykliner kan ge falskt negativt svar (Wamsley & Alleman 2007).

Ketoner

Ketonkroppar finns inte i urinen hos friska individer som får välbalanserad föda (Wamsley & Alleman, 2007). Hundar och katter med dåligt hanterad diabetes mellitus, i svält eller som får en kost med låg andel kolhydrat i förhållande till protein kan få ketonkroppar i urinen (Reine & Langston, 2005). Det upptäcks oftast i urinen först och är en hjälp för att ställa diagnos

(Wamsley & Alleman, 2007). Det är inte vanligt att hund- och katturin ger kraftiga utslag på detta fält då reagenserna är dåliga på att känna igen deras vanligaste ketonkropp, β -hydroxybutyrat. Andra ketonkroppar som aceton och acetoacetatsyra, som reagenserna kan reagera på, finns ofta tillsammans med β -hydroxybutyrat men inte i lika stor mängd. Därför kan ett falskt negativt värde fås. Andra orsaker till falskt negativt resultat är fel förvaring av urinprov och närvaro av bakterier (Wamsley & Alleman, 2007).

Orsaker till falskt positiva reaktioner är missfärgad urin, lågt pH, hög densitet, närvaro av cystin och pyruvat samt läkemedel som captopril, dimercaprol etc. (Wamsley & Alleman, 2007).

Blod

Denna del på urinstickan reagerar på erythrocyter, fritt hemoglobin och fritt myoglobin (Wamsley & Alleman, 2007). Ett normalt spontankastat urinprov ger vanligen inte utslag på detta fält då blod inte ska finnas i urinen. Positivt utslag på fältet till följd av erythrocyter kan bero på problem i nedre och övre urinvägarna (Reine & Langston, 2005). Trauma, inflammation, neoplasi, pyelonefrit och protein-losing nephropathy är några exempel. Positivt utslag av hemoglobin kan trauma, immunmedierad hemolytisk anemi, toxiner eller infektiösa agens ge upphov till. Utslag på grund av myoglobin kan bero på trauma, toxiner eller nekros av muskelvävnad (Reine & Langston, 2005; Stockham & Scott, 2008). Blodfältet på urinstickan kan inte skilja på dessa anledningar till positivt utslag (Reine & Langston, 2005). Om supernatanten efter centrifugering är gul och klar beror det positiva utslaget på erythrocyter och individen har hematuri (Reine & Langston, 2005).

Stickan kan ge falskt negativa och positiva resultat. Falskt negativa resultat kan bero på ej tillräckligt blandad urin innan testning, hög specifik vikt och läkemedel som captopril och substansen askorbinsyra (Stockham & Scott, 2008). Falskt positiva resultat kan orsakas av kontaminering av urinstickan med kemikalier som oxiderar, bilirubinuri och löp vid spontankastat prov från tik (Stockham & Scott, 2008).

pH

pH-värdet ger en estimering av syra-bas-förhållandet i kroppen. pH-värdet kan också hjälpa till vid diagnosticering av urinvägsinfektion och tubulär acidosis (Reine & Langston, 2005; Wamsley & Alleman, 2007). Normalt pH hos hund är 6,0–7,5 (Stockham & Scott, 2008). pH i urinen påverkas av många faktorer. Karnivorer har i regel en sur urin och herbivorer basisk urin vilket reflekterar deras födointag. I övrigt tyder en sur urin på ökad sekretion av H^+ -joner. Tillstånd som kan ge sur urin är både respiratorisk och metabolisk acidosis, hypokalcemi, vätskedrivande behandling och acidosis i proximala tubuli i njuren, om buffertsystemet med HCO_3^- är förbrukat. Basisk urin visar på en minskad sekretion av H^+ -joner vilket kan tyda på respiratorisk alkalos, acidosis i distala tubuli eller i proximala tubuli samt hydrolys av urea. Hydrolys av urea kan ske spontant i prover som det väntas för länge med analys på eller av ureasproducerande bakterier i urinen (Stockham & Scott, 2007).

Reagensfältet för pH på urinstickan är känsligt för H^+ -joner (Stockham & Scott, 2008). Falskt negativa resultat kan fås av överväxt av bakterier in vitro och missfärgad urin (Wamsley & Alleman, 2007; Stockham & Scott, 2008). Falskt positiva värden kan fås av fel förvaring av

urinprovet, överväxt av bakterier in vitro, missfärgad urin samt om buffertvätska från andra reagensfält kommer i kontakt med pH-fältet (Stockham & Scott, 2008).

Protein

Detta fält indikerar om patienten har proteinuri (Wamsley & Alleman, 2007). Proteinuri är ett namn för alla typer av proteiner i urin (Grauer, 2011). Dessa proteiner kan vara albumin, mucoprotein, globulin eller Bence-Jones protein. I normal urin ska inget till mycket lite protein finnas då dels glomeruli inte släpper igenom proteiner men också för att proteinerna absorberas av njuren i proximala tubuli (Grauer, 2011; Stockham & Scott, 2008). Friska individer kan få ett mindre utslag på reagensfältet och beror då vanligen på proteinet albumin vilket reagensfältet är mest känsligt för (Reine & Langston, 2005; Stockham & Scott, 2008; Wamsley & Alleman, 2007). Reagensfältet reagerar på negativt laddade aminogrupeer i proteinerna och albumin är det protein som är mest negativt laddad (Stockham & Scott, 2008). Andra proteiner måste upp i högre koncentrationer för att en reaktion på fältet ska ske, därför kan ett falskt negativt resultat fås. Falskt negativa resultat kan också uppkomma till följd av alkalisk urin (Callens & Bartges, 2015). Falskt positiva resultat kan fås av olika element i urinsediment, välkoncentrerad urin och högt pH (Wamsley & Alleman, 2007). För att ge bättre tolkning av resultatet på urinstickan kan det kombineras med sulfosalicylsyra (SSA) turbiditetstest eller urin-protein/kreatinin-kvot (UPC) (Grauer, 2011).

Proteinuri kan orsakas av många sjukdomar och därför är det viktigt att följa upp ett positivt svar på reagensfältet (Stockham & Scott, 2008). Proteinurin kan kategoriseras efter sitt ursprung som preglomerulär, glomerulär eller postglomerulär (Reine & Langston, 2005). Preglomerulära orsaker kan vara krampanfall, kraftig ansträngning, feber eller hyperproteinemi på grund av tumörer. Ett exempel är Bence-Jones proteiner som produceras av neoplastiska plasmaceller (Grauer, 2011). De neoplastiska cellerna överproducerar proteinet vilket gör att celler i proximala tubuli överstiger sin absorberande kapacitet och klarar inte av att absorbera dem i tillräcklig mängd (Grauer, 2011). Glomerulära orsaker är framför allt skada på glomerulära barriären som filtrerar urinen, vilket är en av de mer allvarliga orsakerna till proteinuri (Reine & Langston, 2005). Postglomerulära orsaker är vanligen inflammation i urinblåsan eller könsorganen. Även tubulära sjukdomar, som inflammationer, kan göra att tubuli har svårt att reabsorbera det protein som filtrerats igenom glomeruli (Reine & Langston, 2005).

Nitrit

Nitrit är en produkt av nitrat som vissa gramnegativa bakterier kan reducera till (Stockham & Scott, 2008). Positiv reaktion på detta fält kan indikera att gramnegativa bakterier finns i urinen och en odling bör utföras (Stockman & Scott, 2008). Detta reagensfält används dock inte för hund och katt då det inte anses vara tillräckligt pålitligt (Reine & Langston, 2005; Wamsley & Alleman, 2007). Det är visat att i katturin fås falskt positiva resultat för ofta och i hundurin är reagensfältet inte tillräckligt sensitivt (Wamsley & Alleman, 2007).

Leukocyter

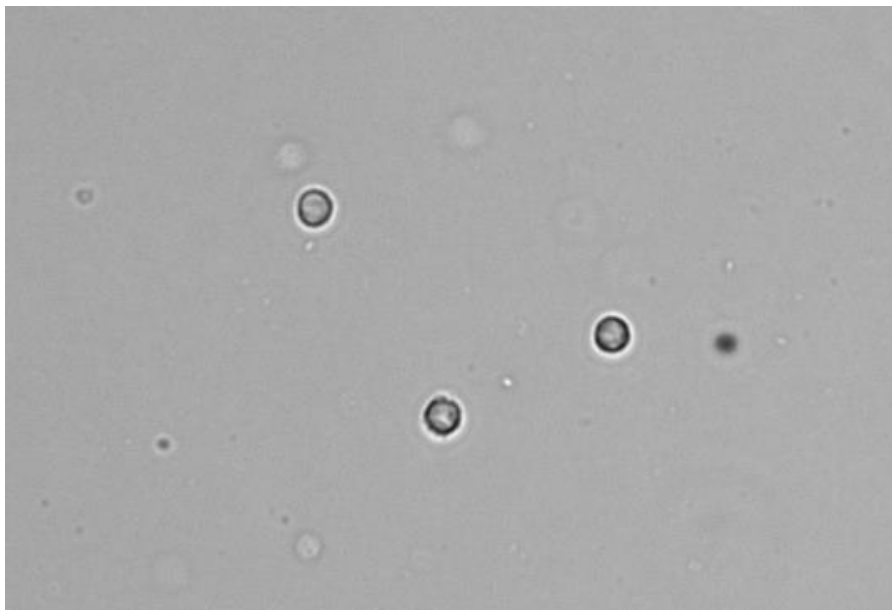
Detta fält reagerar på esteras som finns i granulerade leukocyter (Reine & Langston, 2005). Detta fält anses dock inte pålitligt vid analys av hund och katturin (Callens & Bartges, 2015;

Wamsley & Alleman, 2007). På katturin är resultatet ogiltigt och på hundurin ej tillräckligt sensitivt (Reine & Langston, 2005; Wamsley & Alleman, 2007). Vid test av urinsticka med reagenset leukocytesteras på katturin kunde ingen signifikant association ses mellan ett positivt resultat och prover innehållande mer än 5 leukocyter/synfält med 40x objektiv, vilket gör resultat för katturin ogiltigt (Holan *et al.*, 1997).

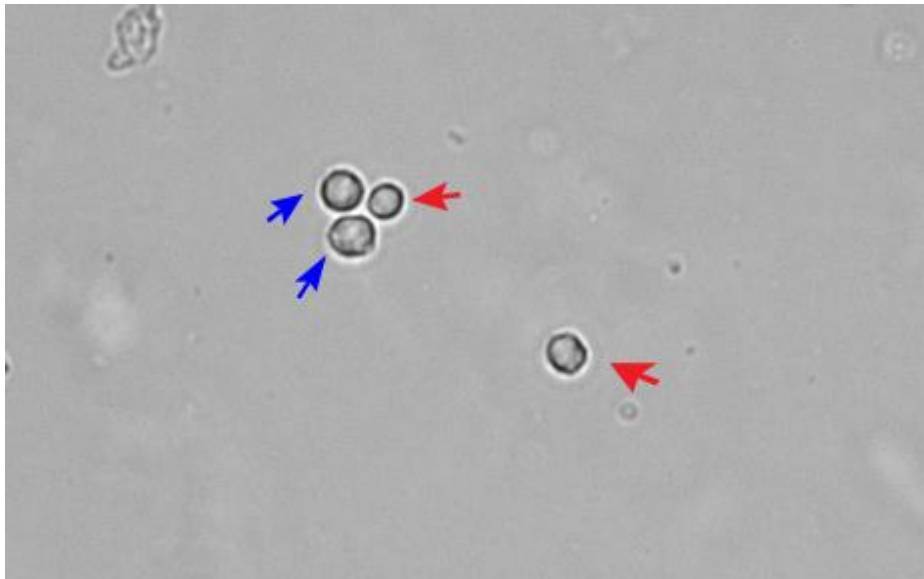
Urinsediment

Urinsediment fås genom att centrifugera urinen så att elementen i urinen koncentreras (Sink & Weinstein, 2012). Sedimentet kan innehålla leukocyter, erythrocyter, epitelceller, kristaller, cylindrar, mikroorganismer och andra strukturer (Osborne & Stevens, 1999b; Stockham & Scott, 2008; Wamsley & Alleman, 2007). Det bedöms i mikroskop och cylindrar bedöms i 10x objektiv/synfält, ett så kallat low power field (lpf), och övriga celler bedöms i 40x objektiv/synfält, ett high power field (hpf).

Leukocyter identifieras ofta i urinsediment (Figur 1) (Reine & Langston, 2005; Stockham & Scott, 2008). De räknas i antal per hpf och kan ibland vara svåra att differentiera från små epitelceller (Stockham & Scott, 2008). En viktig faktor vid analys av leukocyter är tiden. Provet får inte stå mer än några timmar innan det finns risk för att leukocyterna lyserar och minskar i antal (Stockham & Scott, 2008). Identifieras ett stort antal leukocyter i sedimentet är det ett tecken på inflammation i njurarna, prostata, nedre urinvägarna och urinblåsan eller genitalierna (Reine & Langston, 2005).



Figur 1: Bild på tre leukocyter. Fotografiet är från SediVue Dx.



Figur 2: Bild på två erythrocyter (röd pil) och två leukocyter (blå pil). Fotografiet är från SediVue Dx.

Erythrocyter ses också ofta i urinsediment (Figur 2) (Stockham & Scott, 2008). Erythrocyter räknas i antal per hpf och ett ökat antal av dem i urinen kallas hematuri. Hematuri kan bero på trauma, inflammation, koagulopatier, trombocytopeni, von Willebrands sjukdom, iatrogen till följd av cystocentes, vid löp etc. (Reine & Langston, 2005; Stockham & Scott, 2008). Erythrocyter är vanligt att se i samband med urinvägsinfektioner (Stockham & Scott, 2008).

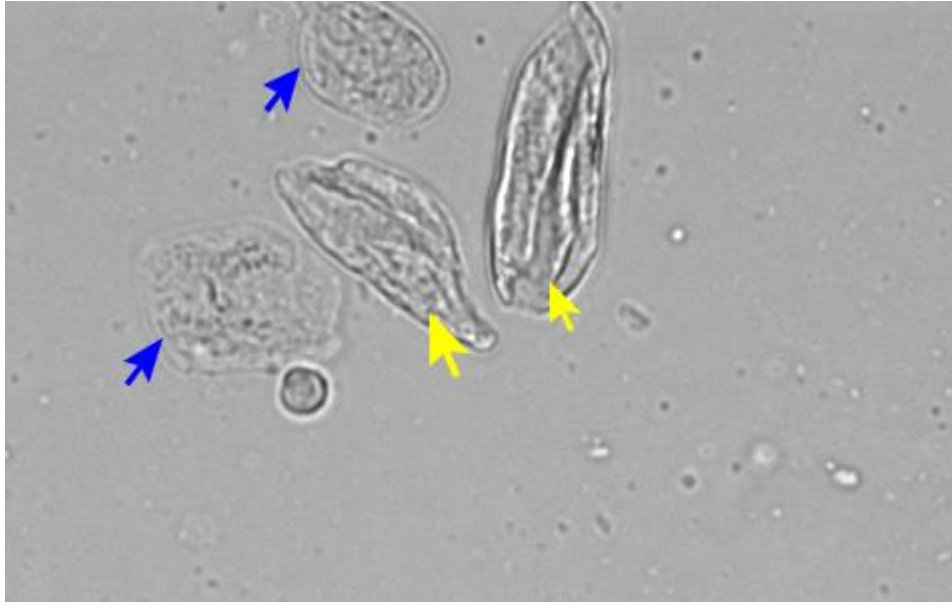
Epitelceller är relativt vanligt i urinprover hos friska individer då epitelceller släpper från mukosan i urinvägarna för att ge plats åt nya celler (Figur 3) (Stockham & Scott, 2008). De räknas i antal per hpf (Chew *et al.*, 2011). En ökad mängd epitelceller kan tyda på en inflammation eller hyperplastisk mukosa och kan därför ses i samband med urinvägsinfektion (Stockham & Scott, 2008). Epitelceller kan se olika ut beroende på var i urinvägarna de kommer från. Platta epitelcellerna är förhornade celler som kommer från den distala tredjedelen av uretra, preputiet och vagina (Wamsley & Alleman, 2007). Övergångsepitelceller, som vanligen kallas rundepitelceller, kommer från de proximala två tredjedelarna av uretra, urinblåsan, uretärerna och njurpelvis. Tubulära epitelceller kommer från tubuli i njuren (Wamsley & Alleman, 2007). De runda epitelcellerna är ofta mindre i storleken jämfört med de platta epitelcellerna (Reine & Langston, 2005). Epitelcellerna degraderas efter en tid i urin och bör därför analyseras i färsk urin (Wamsley & Alleman, 2007).

Kristaller i urinen är utfällda salter (Figur 4) (Stockham & Scott, 2008). De räknas i antal per hpf (Chew *et al.*, 2011). Närvaro av kristaller i urinen påverkas av pH, specifik vikt (USG), urinens mättnad med utfällda salter och stimulerande och hämmande faktorer (Reine & Langston, 2005). Kristaller kan identifieras i urin från friska individer men ett ökat antal av dem i urinen kan ha en patologisk bakgrund (Stockham & Scott, 2008). Närvaro av kristaller är inte en indikation på att urinstenar finns men det är alltid en riskfaktor. Bedömning av kristaller i urinsediment kan hjälpa till att uppskatta vilken typ av urinsten som djuret har, utvärdera effekten av behandling som ska lösa upp urinstenar och upptäcka rubbningar som predisponerar individer för urinsten (Osborne & Stevens, 1999b). Det finns olika typer av kristaller. Struvitkristaller finns vanligen i hundurin och kan ses i normal urin men även från individer

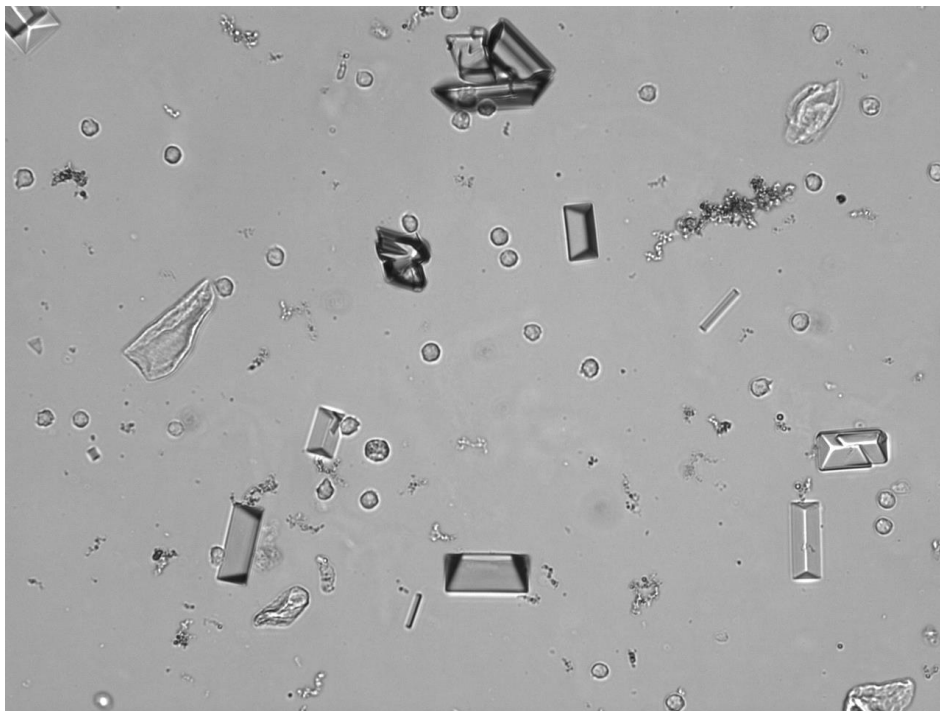
med urinsten eller urinvägsinfektion. Detta på grund av att kristallerna formas i alkalisk urin som fås i samband med bakteriell infektion i urinvägarna, vanligen av *Staphylococcus* spp. eller *Proteus* spp. (Wamsley & Alleman, 2007). Föda som ger alkalisk urin samt kylförvaring av urinprovet kan bidra till bildning av struvitkristaller. Kalciumoxalatkrystaller finns i formerna dihydrat och monohydrat men dihydratkristallerna är vanligast (Wamsley & Alleman, 2007). De formas vanligen i sur urin men kan även ses i alkalisk och neutral urin (Osborne & Stevens, 1999b; Wamsley & Alleman, 2007). De kan uppkomma vid förvaring av urin i rumstemperatur eller kyl men ses även i samband med etylenglykolförgiftning, chokladförgiftning och urinsten av kalciumoxalat (Wamsley & Alleman, 2007). Vid akut sjukdom av etylenglykolförgiftning ses monohydratformen av kristallen. Kristallerna ses inom 3 timmar från förgiftningstillfället hos katt i urinen och inom 6 timmar hos hund och upp till 18 timmar hos båda djurarterna. Uratkristaller ses vanligen i neutral till alkalisk urin men kan även formas i sur urin (Osborne & Stevens, 1999b; Wamsley & Alleman, 2007). De uppkommer i urinen hos individer som har vaskulära anomalier i portavenen, svåra hepatiska sjukdomar, individer med ammonium biuratstenar hos hundar som är genetiskt predisponerade, som dalmatiner och engelsk bulldog. Cystinkristaller formas i sur urin innehållande cystin (Wamsley & Alleman, 2007). Kristallerna är inte vanliga att se i urin (Osbourne & Stevens, 1999b). Dessa kan ses hos specifika hundraser som tax, basset hound, engelsk bulldog, yorkshire och irländsk terrier, chihuahua, mastiffer, rottweiler och newfoundlandhundar (Wamsley & Alleman, 2007). De sista tre raserna är mer predisponerade. Denna kristall ses vanligen inte på röntgen och är därför lätt att missa. Det finns även fler kristaller som bilirubin, kalciumfosfat, kristaller orsakade av mediciner med flera (Osborne & Stevens, 1999b).

Cylindrar är avlånga cylindriska strukturer som består av mucoproteiner som utsöndras av epitelceller i tubuli samt ibland debris och/eller celler (Figur 5) (Stockham & Scott, 2008). De formas i lumen i njurtubuli och har därför sin cylindriska form. Det finns olika typer av cylindrar och de klassificeras efter dess utseende men vanligast är hyalina och granulerade. De kan förekomma mindre mängd hos friska individer, ≤ 2 cylindrar/lpf (Reine & Langston, 2005; Stockham & Scott, 2008). Ses en ökad mängd av cylindrar eller cylindrar med celler i bör misstanke väckas om aktiv tubulär process, som tubulär ischemi, inflammation, toxisk nefros etc. (Stockham & Scott, 2008). Cylindrar analyseras bäst i färsk urin (Stockham & Scott, 2008).

Mikroorganismer kan ibland identifieras i urinsediment och kan vara bakterier, svamphyfer och även parasitägg (Stockham & Scott 2008; Wamsley & Alleman, 2007). Hos hanhundar är det vanligt att spermier finns i urinsedimentet. Fettdroppar och slem kan också finnas i sedimentet (Stockham & Scott, 2008).



Figur 3: Bild på två platta epitelceller (gul pil) och två runda epitelceller (blå pil) samt en leukocyt. Fotografiet är från SediVue Dx.



Figur 4: Struvita kristaller i ett urinprov. Fotografiet är från SediVue Dx.



Figur 5: Hyalin cylinder. Fotografiet är från SediVue Dx.

Mikroskopisk bedömning

Den fullständiga undersökningen av urinen avslutas med mikroskopisk bedömning av sedimentet (Zink & Weinstein, 2012). Denna undersökning utförs för att upptäcka en ökning av celler, kristaller, cylindrar och mikroorganismer vilket kan indikera sjukdom i urinvägarna (Wamsley & Alleman, 2007). Kunskap om utförande av den mikroskopiska bedömningen krävs för att resultatet ska bli så relevant som möjligt (Brobst 1989; Zink & Weinstein, 2012). Denna bedömning är den del av urinanalysen som tar längst tid men är en viktig del i urinanalysen (Osborne & Stevens, 1999b; Barlough *et al.*, 1981). Resultatet från makroskopisk undersökning av färg och biokemisk analys kan inte utvärderas korrekt utan att veta sammansättningen av urinsedimentet (Osborne & Stevens, 1999b). I en retrospektiv studie av Barlough *et al.* (1981) med 1000 hundar och 1000 katter, jämfördes makroskopisk undersökning av färg och turbiditet samt kemisk analys med mikroskopisk bedömning av urinen. I 16,5 % av proverna från hund och 5,7 % av proverna från katt hade den makroskopiska bedömningen gett ett falskt negativt svar i jämförelse med mikroskopisk bedömning. Den makroskopiska bedömningen kan inte upptäcka kristaller, cylindrar, bakterier eller onormala epitelceller och inte heller skilja på hematuri, hemoglobinuri eller myoglobinuri.

Vid tolkning av resultatet ska insamlingsmetod, tid från provtagningstillfället och svaret från kemiska analysen från urinstickan tas med i beräkning (Stockham & Scott, 2008; Wamsley & Alleman, 2007). Är provet taget via cystocentes eller kateter kan det innehålla mer erythrocyter än normalt (Callens & Bartges, 2015). Är provet istället taget spontankastat kommer det troligtvis vara mer epitelceller och leukocyter från nedre urinvägarna och könsorganet i sedimentet (Stockham & Scott, 2008). Tiden från provtagning är viktigt då fördröjning av analys kan göra att kristaller bildas *in vitro* samt att celler lyserar och cylindrar bryts ned (Stockham & Scott, 2008). Bakterier kan även växa till eller dö under förvaringstiden. Urin som

är alkalisk kan göra att celler lyseras fortare (Wamsley & Alleman, 2007). Detta kan och ske i väl utspädd urin men då framför allt av erythrocyter.

Utförande

Preparering av provet och den mikroskopiska bedömningen bör ske standardiserat. I en studie utförd av Winkel, Statland och Jørgensen (1974) identifierades variation i preparering och avläsning av sedimentet. Sju stycken vana avläsare användes i studien och jämfördes med varandra. Därför är det viktigt med standardiserat utförande vid undersökningen för att få ett så relevant resultat som möjligt, oavsett avläsare.

Provvolymen är viktig att känna till innan bedömning då koncentrationen av sediment är beroende av detta (Wamsley & Alleman, 2007). Som standard rekommenderas 5 ml urin vid analys (Sink & Weinstein, 2012). Innan bedömning centrifugeras urinen för att separera sedimentet från supernatanten. Det utförs i en centrifug under 5 minuter i 1500-2000 rpm (Callens & Bartges, 2015; Wamsley & Alleman, 2007) alternativt 400-450 g (Osborne & Stevens, 1999b; Wamsley & Alleman, 2007). Supernatanten hålls därefter av och sedimentet blandas noga innan en droppe av sedimentet förs över på ett objektsglas med en pipett och täcks med ett täckglas.

Undersökning av sedimentet sker systematiskt med både 10x och 40x objektiv, 10 synfält per förstoring (Callens & Bartges, 2015). Cylindrar bedöms med 10x objektiv och resterande celler med 40x objektiv (Chew *et al.* 2011). Vid undersökningen kan även färgning göras med exempelvis Sedi-Stain (Callens & Bartges, 2015). Detta för att göra celler mer tydliga och kunna identifieras lättare men färgen kan också bidra med felkällor som kristaller och färgprecipitat vilket gör provet mer svårbedömt.

SediVue Dx

SediVue Dx är ett instrument, tillverkat av IDEXX Laboratories, som kan bedöma och utföra räkning av celler i urinsediment från hund och katt (Idexx Laboratories, 2018). Tekniken instrumentet använder sig av är ett mikroskop, som zoomar in och gör cellerna tydliga, och en högupplöst kamera som fotograferar av cellerna. SediVue Dx bedömer cirka 45 high power fields (HPF) och fotograferar 70 bilder som kan bedömas manuellt på bildskärm (Idexx Laboratories, 2018b). Kameran anpassar fokus och kontrast för att göra bilderna tydliga (Josefin Linder, Idexx Laboratories, personlig kontakt, 2018). På bildskärmen finns en navigeringsknapp som märker ut alla cellerna, som instrumentet har identifierat, med förkortningar (se tabell 1). Instrumentet är bara validerat för urin från hund och katt men även andra djurslag och kroppsvätskor kan köras i instrumentet men då fås endast bilder som resultat.

För analys i SediVue Dx används ocentrifugerad urin, 165 µl, som deponeras i en engångskassett med hjälp av förinställd pipett (Idexx Laboratories, 2018b). Det är viktigt att urinen är noga blandad kort tid innan deponering i kassetten utförs för att få ett så bra resultat som möjligt (Hammond *et al.*, 2015). SediVue Dx centrifugerar sedan urinen i kassetten i 260 RCF/2000 RPM i 30 sekunder för att inte slå sönder eller förstöra cellerna (Idexx Laboratories, 2018b; Josefin Linder, Idexx Laboratories, personlig kontakt, 2018). Därefter använder sig instrumentet av mikroskopet och kameran för att fotografera av cellerna och utifrån bilderna bedöma vilka celler den kan identifiera och räkna (se tabell 1). Bedömningen av celler utförs

av programvaran baserat på storlek, form, kontrast och bakgrund. Fotografierna tas på olika djup på varje HPF för att få med så många celler som möjligt (Idexx Laboratories, 2018).

Tabell 1: Förkortning, mätområden, svarsgrupper och enhet för celler som bedöms av SediVue Dx. HPF = high power field (40 x objektiv), LPF = low power field (10x objektiv)

Typ av cell	Förkortning	Mätområden	Enhet
Vit blodkropp	WBC	<1 till >50	Antal per HPF
Röd blodkropp	RBC	<1 till >50	Antal per HPF
Bakterier, kocker	-	<ul style="list-style-type: none"> • None to rare • Suspected presence • Present 	Per prov
Bakterier, stavar	-		
Platt epitelcell	sqEPI	<ul style="list-style-type: none"> • None to rare • 1-2 • 3-5 • 6-10 • >10 	Antal per HPF
Icke platt epitelcell	nsEPI		
Hyalina cylindrar	HYA	<ul style="list-style-type: none"> • None to rare • Suspect presence • >1 	Antal per LPF
Icke hyalina cylindrar	-		
Struvita kristaller	STR	<ul style="list-style-type: none"> • None to rare • 1-5 • 6-20 • 21-50 • >50 	Antal per HPF
Calcium oxalat dihydratkristaller	CaOx Di		
Oklassificerade kristaller	CRY		

MATERIAL OCH METODER

Provmaterial

I studien användes 62 urinprover, 46 från hund och 16 från katt. 51 prover kom från två studentarbeten som undersökte spontankastade urinprov från hund och katt för att identifiera normalfloran och leukocytförekomst hos individer utan kliniska tecken på urinvägssjukdom. Dessa prover var därför spontankastade och kom från hundar och katter utan kliniska tecken på urinvägsinfektion som varit för undersökning på Smådjurskliniken på Universitetsdjursjukhuset, Sveriges lantbruksuniversitet i Uppsala. Proverna samlades in under perioden 18

september-1 november 2018 via Smådjurskliniken. Urinvolymer som krävdes för inkludering var minst 3 ml.

Studien kompletterades med 8 hundprover och 3 kattprover som inkom till Kliniskt kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset via Smådjurskliniken. Dessa prover kom från hundar och katter med kliniska symptom från urinvägarna. Sju av proverna var spontankastade, resterande tagna med cystocentes.

Analys av provmaterial

Proverna lämnades direkt efter provtagning till mig via Klinisk kemiskt laboratorium på Sveriges Lantbruksuniversitet i Uppsala. Urinprovsvägar var då märkta med djurslag, födelseår på djuret samt provtagningstid. Proverna fick därefter ett provnummer. Analys av proverna skedde inom 4 timmar. I väntan på analys förvarades proverna i kyla.

Innan påbörjad bedömning noterades provvolymer. Sedan fördes 0,5 ml urin över i ett mindre plaströr och märktes upp med provnummer för att kunna användas till SediVue Dx. Urinen analyserades därefter med refraktometer för att få specifik vikt och sedan urinsticka innan röret placerades i centrifug för att kunna separera sediment från supernatant. Medan provet centrifugerades kördes den avsatta volymen ocentrifugerad urin i SediVue Dx, men analysen granskades inte förrän efter den manuella räkningen var utförd.

U-specifik vikt och urinsticka

Urinen blandades noga genom att vicka på röret 6-10 gånger. Därefter mättes urinens specifika vikt med kalibrerad digital refraktometer av typen Atago Pocket Refraktometer (Atago CO. LTD, Tokyo, Japan). Den urinsticka som användes var Multistix 7 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, USA) och för analys kördes stikan i ett analysinstrument, Siemens Clinitek Status + Analyzer 7 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, USA).

Mikroskopisk bedömning av urinsediment

Urinen centrifugerades i 5 minuter vid 500 g och supernatanten hölls sedan över i ett annat plaströr, märkt med provnummer, efter centrifugering. Kvar blev cirka 1 ml supernatant som blandades väl med sedimentet genom att lätt slå med fingret på provrörets nedre del samt att föra sedimentet fram och tillbaka i en pipett. Därefter placerades två droppar av sedimentet på ett objektglas med pipett, den ena droppen ofärgad och den andra droppen färgad med Hemacolor, med täckglas ovanpå. Sedimentet bedömdes i mikroskop med 10x objektiv och 40x objektiv, med och utan fas2-kontrast. Celler räknades i 12 synfält och fick ett snittvärde antecknat. Celler som räknades var leukocyter, erythrocyter, epitelceller samt cylindrar och närvaro av kristaller och bakterier, där cylindrar räknades med 10x objektiv. I denna studie låg fokus fram för allt på leukocyter, erythrocyter och bakterier.

På alla urinsediment utfördes även utstryk som färgades för att kunna konfirmera eventuell närvaro av bakterier. Utstryk utfördes på objektglas med frostad kant som märktes med provnummer, studentprojekt och urin. Därefter blandades sedimentet väl genom att föra sedimentet fram och tillbaka i en plastpipett, 4-6 ggr, och därefter placera en droppe av sedimentet på glaset nära den frostade kanten. För att sedan sprida ut sedimentet jämnt över

glaset användes ett annat objektglas med cirka 40 graders vinkel mot provglaset. Som avslut på utstryket fördes det spridande glaset rakt uppåt för att skapa en vall av celler, vilket underlättar lokalisering i mikroskop. Sedan lufttorkades utstryken och färgades därefter in via en doppmaskin med May-Grünwald Giemsa färgning. Dessa utstryk bedömdes i mikroskop med 100x objektiv och olja och fick resultatet negativt eller positivt. Var utstryket positivt bedömdes det om bakterierna var kocker eller stavar.

Analys av urinsediment med SediVue Dx

Analysen på SediVue Dx (SW 4.75.060) utfördes med ocentrifugerad urin. Först registrerades provnummer, djurslag och ålder i IDEXX system. Därefter blandades urinen väl och placerades i urinkassetten med hjälp av en kalibrerad pipett inställd på 165 µl. SediVue Dx centrifugerade urinen och använde sig sedan av ett mikroskop i instrumentet, med snarlik förstoring som används vid manuell bedömning (10x och 40x förstoring), samt högupplöst kamera för att bedöma och fotografera av sedimentet. Som resultat fick man siffror för leukocyter, erythrocyter, platta och icke platta epitelceller, hyalina och icke hyalina cylindrar, struvita kristaller, kalcium oxalat kristaller, andra kristaller samt närvaro av stavformiga eller kockoida bakterier och 70 stycken bilder som kameran fotograferat av sedimentet.

Om SediVue Dx indikerade att det var för mycket celler för att analyseras späddes urinen enligt förslag från instrumentet med natriumklorid (9 mg/ml) och provet kördes om.

Alla 70 bilder per urinprov granskades genom att titta på bilderna med hjälp av en navigeringsfunktion på instrumentet. Alla celler som instrumentet räknade fick då en markering med förkortning på vilken typ av cell/struktur instrumentet hade identifierat det som. Detta gjorde också att man kunde se vilka celler som instrumentet inte hade räknat och identifierat. Granskningen utgjordes genom att titta på bildernas skärpa, vilka celler som var räknade, om de var korrekt märkta och hade den morfologin som kunde förväntas av en cell av den märkta typen, om celler inte var räknade och märkta och om det numererade resultaten ansågs rimligt jämfört med bilderna.

Resultaten med siffror från SediVue Dx jämfördes med den manuella bedömningen av urinsedimentet. Om siffrorna inte överensstämde kontrollerades urinsedimentet manuellt en gång till för eventuell reevaluering eller så bedömdes att instrumentet inte räknat korrekt av beskrivna anledningar som kunnat identifieras på foton, exempelvis räknat fettdroppar eller oidentifierbara celler. Numeriska resultat från 41 prover presenteras med Bland-Altman-diagram.

Det utfördes också en precisionsstudie för att se om SediVue Dx bedömde samma urinprov likadant vid flera på varandra körningar.

RESULTAT

Analys av prover

Totalt analyserades 62 stycken urinprover, 46 från hund och 16 från katt. Av dessa prover analyserades 21 prover med en äldre programvara som gav numeriska intervallresultat för leukocyter och erythrocyter. Intervallen hade ett stort spann (1-5, 6-20, 20-50, >50), vilket gjorde att det var svårt att bedöma om dessa prover stämde överens med den manuella bedömningen, vars resultat angavs i antal per synfält. Därför har prover som analyserats med den äldre programvaran bedömts separat från de prover som analyserats med den nya programvaran när det gäller leukocyter och erythrocyter.

Översta gränsen för manuella bedömningen var >30 leukocyter och erythrocyter per hpf. SediVue Dx hade en övre gräns på >50 leukocyter/erythrocyter per hpf. För att kunna jämföra de två metoderna på bästa sätt har därför SediVue Dx övre gräns sänkts till >30 leukocyter/erythrocyter per hpf i figurer och jämförelse.

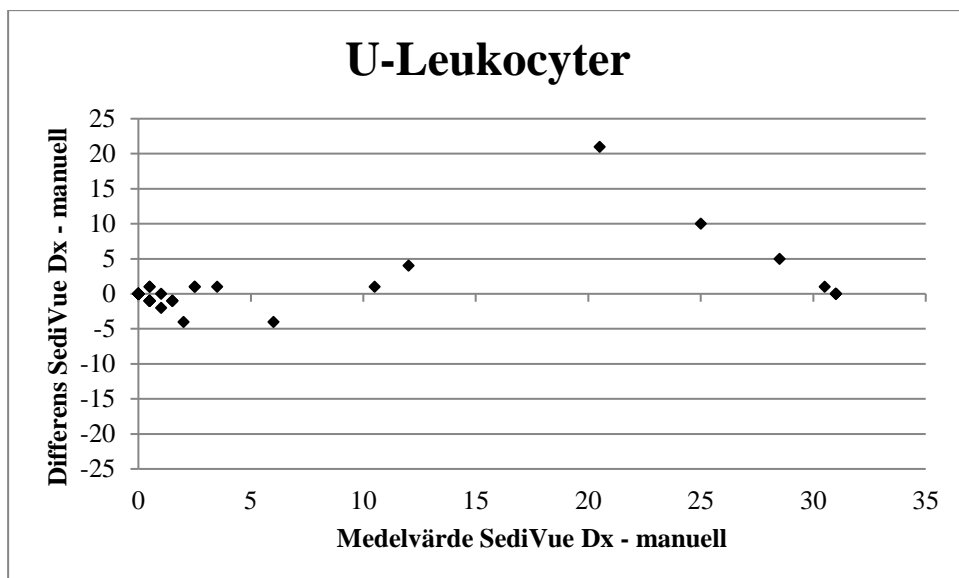
Avläsning SediVue Dx

De fotografier som SediVue Dx fotograferade på sedimentet hade bra kvalitet. Ibland hade kameran svårt att fokusera när det var större kontamineringsringar eller fett droppar. Det gjorde bilden något oskarp och fokus lades på kontamineringen och fett dropparna istället för bakgrunden som innehöll celler. Fotografierna som instrumentet fotograferat såg inte riktigt ut som den bild ögat gav vid bedömning i mikroskop. Detta gjorde att avläsaren var tvungen att träna sitt öga på fotografierna för att resultaten skulle tolkas rätt.

Avläsning av proverna analyserade med SediVue Dx skedde genom att jämföra resultatet i siffror med fotografierna för att se om sifferresultatet stämde överens med det som sågs på fotografierna. Vid granskning av fotografierna sågs ibland att oidentifierbara celler och debris hade markerats som leukocyter och erythrocyter samt fett droppar som räknats som erythrocyter. SediVue Dx hade även svårt att räkna leukocyter när bakgrunden blev fylld med debris eller bakterier. Det sågs också leukocyter, erythrocyter och epitelceller som ibland inte markerats och alltså inte identifierats. Av epitelcellerna så var det de platta epitelceller som vanligen inte identifierats.

Leukocyter

Resultatet visar att skillnaden i räkning av leukocyter i urinsediment mellan manuell bedömning och SediVue Dx var varierande (se Figur 6). Medianen av differensen är 0 leukocyter/hpf, vilket berodde på många prover med få eller inga leukocyter. Två av 41 resultat (4,9 %) visade på större skillnader, där SediVue Dx har beräknat betydligt fler leukocyter än den manuella bedömningen, differens 21 och 10 leukocyter/hpf.

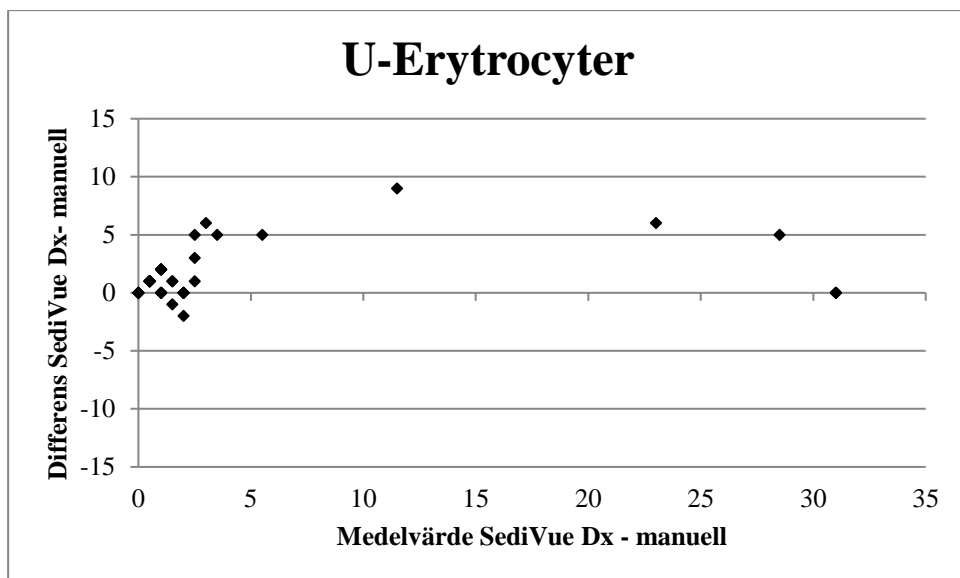


Figur 6: Bland-Altman-diagram gällande antalet leukocyter i urinsediment med SediVue Dx och manuell räkning i mikroskop. 29 stycken hundprover och 12 stycken kattprover. För manuell bedömning var det 17 prover som innehöll 0 leukocyter per synfält och 3 prover med >30 leukocyter per synfält. Resultatet för SediVue Dx var 22 prover respektive 6 prover. Prover med >30 leukocyter är benämnda som 31 leukocyter per synfält.

Av de prover som bedömts i SediVue Dx med den tidigare programvaran med intervallresultat, var det 10 av 21 prover (47,6 %) där manuella bedömningen fick resultat inom SediVue Dx intervall. Av de prover som inte stämde överens var det 7 prover som skilde 1-2 leukocyter mellan bedömningarna. De andra 3 proverna skilde det 4-9 leukocyter där SediVue Dx räknat fler celler än den manuella bedömningen.

Erythrocyter

Även skillnaden i räkning av erythrocyter mellan manuell bedömning och SediVue Dx var liten (se Figur 7). Medianen för differensen mellan de två metoderna för räkning var 1 erythrocyt/hpf, vilket berodde på många prover med inga eller få erythrocyter. I 7 av 41 prover (17,1 %) var skillnaden mellan manuell bedömning av urinsedimentet och SediVue Dx inom 5-9 erythrocyter/hpf. Vanligaste anledningen till skillnad i bedömning var att SediVue Dx räknat debris och fett droppar som erythrocyter.



Figur 7: Bland-Altman-diagram gällande antalet erythrocyter i urinsediment med SediVue Dx och manuell räkning i mikroskop. 29 stycken hundprover och 12 stycken kattprover. För manuell bedömning var det 19 prover som innehöll 0 erythrocyter per synfält och 3 prover med >30 erythrocyter per synfält. Resultatet för SediVue Dx var 4 prover respektive 4 prover. Prover med >30 erythrocyter är benämnda som 31 erythrocyter per synfält.

Vid prover som den manuella räkningen bedömt innehålla mindre än 1 erythrocyt/hpf angav ofta SediVue Dx 1-2 erythrocyter/hpf. Detta sågs i 11 av 19 prover.

Av prover som bedömts med den tidigare programvaran i SediVue Dx, med intervallresultat, var det 15 av 21 prover (71,4 %) där manuella bedömningen fick resultat inom SediVue Dx intervall. Av de prover som inte stämde överens var det 5 prover där differensen var 1-2 erythrocyter och 1 prov där differens var 4 erythrocyter.

Bakterier

Vid manuell bedömning av urinsedimentet var det 26 av 62 urinprover som markerades för att kontrollera bakterieförekomst med utstryk. Av de 26 proverna som markerats var det 6 prover där bakterieförekomst tydligt kunde identifieras i mikroskop genom manuell bedömning. SediVue Dx identifierade 15 prover med misstänkt bakterieförekomst med rekommendation att kontrollera med utstryk eller bakterieodling, varav 5 av dessa prover gav en tydlig bild av bakterieförekomst på fotografierna. Alla de proverna hade också markerats vid den manuella bedömningen för kontroll, med undantag för ett prov. Färgade utstryk av urin bekräftade därefter att 13 prover innehöll bakterier, varav 7 prover indikerats av både SediVue Dx och manuella bedömningen, 5 prover endast av manuell bedömning och 1 prov hade inte indikerats av någon av de två metoderna.

Bakterieodling utfördes på 13 kattprover och 39 hundprover från katter och hundar utan tecken på urinvägssjukdom, varav bakterier påvisades i 12 respektive 32 prover. De flesta prover hade sparsam växt av bakterier, men det var 5 prover med måttlig till kraftig växt av potentiellt patogena bakterier.

Andra celltyper

Epitelceller

Vid den manuella bedömningen indikerades 38 av 62 prover för epitelceller. Av de proverna var det 11 prover som endast innehöll platta epitelceller, 1 prov endast runda epitelceller och resterande indikerade båda epitelcellstyperna. SediVue Dx hade 25 av 62 prover som indikerade epitelceller, varav 19 prover endast för runda epitelceller och de övriga 6 proverna för båda epitelcellstyperna. SediVue Dx har generellt svårt att identifiera platta epitelceller. 34 av 38 urinprover skiljer sig i räkning av platta epitelceller mellan metoderna. Vid granskning av fotografierna som SediVue Dx tagit ses det också att de platta epitelcellerna inte alltid markeras och därmed inte inkluderats i räkningen. Runda epitelceller har SediVue Dx lättare att räkna men de felmarkerades ibland som platta epitelceller eller markerades inte alls. För 41 av 62 urinprover överensstämde räkningen av de runda epitelcellerna med den manuella bedömningen. För de prover som det skilde sig i bedömningarna i runda epitelceller hade SediVue Dx räknat fler än den manuella räkningen.

Kristaller

I 16 av 62 urinprover sågs kristaller vid manuell bedömning och 7 av 62 prover vid bedömning av SediVue Dx. 6 av 7 prover från SediVue Dx stämde överens med manuell bedömning. Ett prov från SediVue Dx indikerade kristaller som inte identifierat vid den manuella bedömningen. I detta fall beror det på att SediVue Dx benämnt platta epitelceller som struvita kristaller då de veckat sig och fått ett liknande utseende.

Cylindrar

Vid manuell bedömning indikerade 8 av 62 prover cylindrar, 5 av 62 prover med SediVue Dx. Endast ett prov stämmer överens mellan manuell bedömning och SediVue Dx. SediVue Dx har ibland svårt att identifiera cylindrar om de inte är tydliga. Instrumentet markerade för ”suspected presence” om slem eller andra strukturer liknande cylindrar finns i provet.

Precision

Två prover kördes 2 respektive 3 gånger för att se om SediVue Dx gav samma värde vid upprepade körningar av samma prov. Resultatet för första provet var 14 respektive 12 leukocyter samt 4 respektive 3 erythrocyter. För andra provet var resultatet 7, 6 och 6 leukocyter samt 8, 8 och 7 erythrocyter. Skillnaden mellan körningarna var alltså 1-2 leukocyter och 1 erythrocyt.

Användarvänlighet

SediVue Dx har under studien varit lättanvänd och okomplicerad. Allt från underhåll i form av påfyllning av kassetter, rengöring av instrumentet till körning av prover har varit smidigt och lätt. IDEXX Laboratories har utvecklat instruktioner för många funktioner rörande SediVue Dx som både finns i pappersformat och i instrumentet som hjälp. Instruktionerna är lätta att förstå och följa. Instrumentet indikerar även när det behöver rengöras, när påfyllning av kassetter behövs eller när en kontroll ska utföras.

Spädning av urinprov kan vara komplicerat att utföra men också att ta med i beräkning vid bedömning av urinsedimentet. SediVue Dx har en funktion som tar hänsyn till spädning om man anger andelen vätska som provet späts med innan det körs i instrumentet. Det finns även instruktioner för utförande av spädning i instrumentet och i pappersformat som hjälp vilket gör spädningen enklare att utföra.

DISKUSSION

Studier som hittills utförts på SediVue Dx är framför allt publicerade kongressammanfattningar, kongressaffischer, förutom tillverkarens värdering av instrumentet. I en studie av Alleman *et al.* (2016) utvärderades totalt 300 prover med SediVue Dx med manuell bedömning av sedimentet som kontroll. I studien var 104 stycken prover positiva för röda blodkroppar och 71 stycken positiva för vita blodkroppar via manuell bedömning och proverna räknades som positiva om de innehöll ≥ 6 leukocyter och/eller erythrocyter/hpf. Alleman *et al.* kom fram till att bedömningen av proverna med SediVue Dx var bra till utmärkt. De identifierade också falskt positiva och falskt negativa resultat, men då dessa resultat var inom differensintervall på 4-8 leukocyter eller erythrocyter/hpf så ansågs dessa resultat inte ha någon klinisk signifikans.

En annan studie av Hernandez *et al.* (2016) utvärderades 392 urinprover från både hund och katt. För att ett prov skulle räknas som positivt för röda och/eller vita blodkroppar var gränsvärdet ≥ 5 celler/HPF. I studien utvärderas SediVue Dx med manuell bedömning av sedimentet som kontroll. De kom fram till att SediVue Dx identifierade antal leukocyter och erythrocyter i urinsedimentet av klinisk signifikans.

Nyligen publicerades en studie av Hernandez *et al.* (2018) där SediVue Dx prestanda utvärderades med manuell bedömning som kontroll. Fokuset av utvärderingen låg på leukocyter, erythrocyter, platta och runda epitelceller samt struvit- och kalcium oxalat dihydratkristaller. I studien utvärderades 530 urinprover från hund och katt. De kom fram till viss skillnad i bedömning av urinsediment mellan de två metoderna men att den kliniska tolkningen av resultaten skulle bli densamma. Författarna drog även slutsatsen att fotografierna från SediVue Dx kan minska behovet av manuell bedömning, men att framtida programvaror för instrumentet behöver utvärderas för att se om förbättringar i igenkänning av celler sker.

Syftet med den nu utförda studien var att undersöka om SediVue Dx kunde ersätta manuell bedömning av urinsediment. Detta utvärderades med fokus på leukocyter, erythrocyter och bakterieförekomst. I studien användes 62 urinprover från hund och katt.

Resultatet för denna utvärdering talar för att SediVue Dx i de flesta fall angav antal leukocyter och erythrocyter snarlikt med den manuella bedömningen, vilket även tidigare studier av Hernandez *et al.* (2016), Alleman *et al.* (2016) och Hernandez *et al.* (2018) kommit fram till. Resultatet visade att vid räkning av leukocyter var det endast 2 av 41 prover (4,8 %) som det sågs tydliga skillnader i bedömning mellan manuell räkning och SediVue Dx. Dessa skillnader berodde på att SediVue Dx har räknat debris som leukocyter. Hernandez *et al.* (2018) identifierade också problem för SediVue Dx att räkna leukocyter vid mycket debris eller erythrocyter men då framför allt i kattprover.

Resultatet för erythrocyterna visade att inget prov hade stora skillnader mellan de två bedömningsmetoderna. I 7 av 41 prover (17,1 %) sågs en skillnad på 5-9 erythrocyter per hpf. Detta berodde på att SediVue Dx hade räknat debris och fett droppar som erythrocyter, vilket också bekräftades i studien av Hernandez *et al.* (2018) där de tar upp fett droppar som ett problem i analysen. Skillnaderna kan också bero på vilken del av provet som analyseras. Vart i provröret som urinen aspireras kan spela roll och därför måste provet blandas noga innan det körs i SediVue Dx (Idexx Laboratories, 2018b). Prover med stor skillnad mellan manuell bedömning och SediVue Dx har i denna studie kontrollräknats manuellt i mikroskop en extra gång för att minska risken för felräkning av bedömaren.

SediVue Dx flaggade för misstänkt förekomst av bakterier i 53,8 % av proverna som bekräftats med färgade utstryk. De prover som instrumentet missat att markera för bakterier har det varit mycket celler och debris i bakgrunden vilket kan ha försvårat bedömningen. Det går därför inte att utesluta bakterieförekomst även om SediVue Dx inte indikerar misstanke för bakterier, speciellt inte om prover innehåller mycket celler och debris. Att utvärdera om bakterier finns i urinsediment vid manuell bedömning är svårt då de liknar debris och cellrester (Stockham & Scott, 2007). Bakterier är också svåra att centrifugera ned i sedimentet i rätt koncentrationer för att upptäcka dem. Detta problem uppstår även vid bedömning för SediVue Dx som dessutom centrifugerar urinen med mindre kraft. Enligt en studie av O'Neil *et al.* (2013) fanns det risk för falskt positiva och falskt negativa svar vid manuell bedömning av bakterier i urinsediment. Detta på grund av att fett droppar eller debris räknats som bakterier samt att identifiering av icke levande bakterier kan ha skett. Färgat utstryk på urinsediment bör istället utföras för att bekräfta bakterier i urinsediment, vilket har utförts i denna studie. Denna studie jämförde även färgat utstryk med bakterieodling där bakterier påvisades i de flesta urinproverna, dock ofta i sparsam växt. Detta indikerar att bakterieodling på urinen alltid bör utföras vid misstanke av urinvägsinfektion eller vid förekomst på utstryk för att kvantifiera bakterieförekomst samt bestämma typ av bakterie.

I studien studerades även övriga celltyper och strukturer i sedimentet. SediVue Dx har svårt att identifiera platta epitelceller vilket också bekräftas i studien av Hernandez *et al.* (2018). 38 urinprover bedömdes innehålla platta epitelceller vid manuell bedömning. I 34 av dem skilde sig bedömningen med SediVue Dx. Vid bedömning av fotografierna kan det ses att SediVue Dx inte markerat platta epitelceller och därmed inte räknat dem. Runda epitelceller har SediVue Dx lättare att räkna. Av totalt 62 urinprover analyserade, överensstämde SediVue Dx resultat för runda epitelceller i 42 prover med den manuella bedömningen. Vid räkningar av kristaller identifierade manuella bedömningen 16 prover, alla innehållande struvita kristaller. SediVue Dx identifierade sex av dessa prover (37,5 %) och indikerade även struvita kristaller i dessa. 10 prover identifierades inte av SediVue Dx vilket troligtvis berodde på mycket debris och amorfa salter i bakgrunden samt kristallernas gruppformationer på fotografierna vilket gjort dem svåra att identifiera. Detta tyder på att det inte kan uteslutas att kristaller förekommer i provet även om SediVue Dx inte indikerar detta. För cylindrar var det endast 1 prov av 8 där manuell bedömning och SediVue Dx stämde överens vilket kan tyda på att både SediVue Dx och den som bedömde manuell har svårt att identifiera cylindrar.

SediVue Dx har i denna studie bra precision. Av de prover som kördes flera gånger i instrumentet stämde leukocyter och erythrocyter med en skillnad på 0-2 celler. Resultatet beror troligtvis på att urinprover med mindre antal celler har använts i studien. Skulle fler prover med mer cellinnehåll användas för bedömning av precision är det troligt att ett resultat med större skillnad mellan körningarna skulle fås. Denna slutsats dras då det diskuterats i denna studie att SediVue Dx har svårighet att räkna celler på fotografierna när bakgrunden blir mindre tydlig, mer kontaminering fås och ett större antal celler finns med på bilderna. Det är dock troligare att ett automatiskt instrument skulle ha bättre precision än ett manuellt då antalet felkällor som kan uppstå minskas. Ett automatiskt system utför analysen lika varje gång med hjälp av en programvara till skillnad från en manuell bedömning där personer utför bedömningen på olika sätt beroende på erfarenhet och mänsklig faktor. I en studie av Chase *et al.* (2018) utvärderades bland annat precisionen hos olika metoder att undersöka urinsediment manuellt. Detta utfördes med hjälp av 2 stycken testvätskor som liknar urinsediment, en vätska för leukocyter och en för erythrocyter. Testerna analyserades 10 gånger efter varandra. De kom fram till att metoden, som är använd i denna studie och vanligen används i laboratorier, har en variationskoefficient på 23,2 %. Chase *et al.* (2018) kom fram till att fler studier med urinprover istället för testvätskor bör utföras för att undersöka om resultatet är relevant för kliniska urinprover. I studien av Hernandez *et al.* (2018) utvärderades SediVue Dx variationskoefficient till under 20 % (4,5 - 19,3%) vilket indikerar att detta automatiska urininstrument har en bättre precision än manuell bedömning.

SediVue Dx har en programvara som bedömer urinsedimentet och den uppdateras kontinuerligt med mer provunderlag (Josefin Linder, Idexx Laboratories, personlig kontakt, 2018). Tidigare studier på SediVue Dx har genomförts med en tidig programvara (SW 1.0.0.0 och 1.0.1.3) innehållande mindre provunderlag och med intervallresultat istället för antal per hpf (Alleman *et al.*, 2016; Hernandez *et al.*, 2016; Hernandez *et al.*, 2018). Det gör att denna studie blir något mindre jämförbar med de tidigare då denna använt sig av specifikt antal och därmed kunnat utvärdera instrumentet mer exakt gällande leukocyter och erythrocyter. Även programvaran för denna studie är uppdaterad med fler prover vilket gör att SediVue Dx sannolikt är bättre på att identifiera celler än i tidigare versioner.

SediVue Dx som instrument är lättanvänt och behagligt att jobba med då det har en enkel design och tydliga instruktioner som är lätta att följa. Instrumentet ger också bilder av bra kvalitet på urinsedimentet som sparas och kan tittas på senare om det önskas. Problem uppstår dock i analysen om provet innehåller mycket fett droppar eller större debris. Kameran i instrumentet kan då ha svårt att fokusera, vilket gör bilderna suddiga, men även att fokuset riktas mot fett dropparna. Det gör att fett dropparna ibland räknas som celler istället för att fokusera på bakgrunden där de faktiska cellerna ligger. Detta kan ge falskt positiva resultat vilket gör det viktigt att titta på bilderna och inte bara på resultatet i siffror. Resultatet i siffror som SediVue Dx ger är alltså endast vägledande. Fotografierna som instrumentet tar måste läsas av för att kontrollera resultatet men också för att se om det finns något som SediVue Dx inte har upptäckt vid räkningen. Detta är också något som Idexx rekommenderar att avläsaren gör. I denna studie upptäcktes det förutom att fett droppar ibland räknades som erythrocyter även att SediVue Dx ibland missade att räkna celler eller benämnde celler fel och räknade kontaminering som celler. Kontroll av bilderna är alltså viktigt för korrekt tolkning av resultatet. Det finns dock en risk att

användaren av instrumentet väljer att förlita sig på siffrorna då de är lättillgängliga och bildgranskning tar tid och kräver viss kompetens. I en studie av Zaman *et al.* (2010) utvärderades SediMAX, ett instrument från humanvården med liknande funktion som SediVue Dx. Resultatet av studien var att upp till 20-25 % av proverna skulle ha behövt bildgranskning och ersätter därför inte den manuella bedömningen, vilket stämmer överens med resultatet i denna studie. Två andra urininstrument från humanvården har utvärderats i studier, Iris iQ200 och Sysmex UF-100 (Fenili & Pirovano, 1998; Linko *et al.*, 2006). Även i dessa studier kom författarna fram till att instrumenten inte kunde ersätta manuell bedömning av urinsediment men troligen minska mängden urinsediment som skulle behöva undersökas manuellt. Detta för att instrumenten i stor utsträckning kunde identifiera celler relaterade till urinvägsinfektion, leukocyter, erythrocyter och epitelceller.

Som Barlough *et al.* (1981) och Osbourne & Stevens (1999b) indikerade är manuell bedömning av urinsedimentet i mikroskop tidskrävande och den del i urinanalysen som tar längst tid. SediVue Dx centrifugerar, fotograferar och räknar sedimentet på cirka 3 minuter (Idexx Laboratories, 2018), vilket sparar tid för den som analyserar. Denne behöver inte preparera sedimentet genom centrifugering och inte heller titta själv i mikroskop, utan endast bedöma de fotografier som SediVue Dx har tagit fram. En annan fördel med att analysera urinen med SediVue Dx är den volym som instrumentet kräver. Endast 165 µl ocentrifugerad urin behövs för en körning (Idexx Laboratories, 2018). En standardvolym som används vid manuell bedömning av urinsediment är 5 ml urin som sedan centrifugeras (Sink & Weinstein, 2012). Den urinvolymen kan ibland vara svår att samla men med SediVue Dx kan urinprover av mindre volymer analyseras.

Flertalet veterinärer anser sig inte ha kompetens att titta på urinsediment, utan väljer istället att skicka urinprover till ett laboratorium med den typen av kompetens. Detta gör att tiden från provtagning till analys blir lång och vi får en ökad risk för bakterietillväxt eller bakteriedöd, kristallbildning och lysering av celler (Stockham & Scott, 2008; Wamsley & Alleman, 2007). Om provet inte skickas med kylförvaring fås också en suboptimal förvaring som kan påverka ovan nämnda faktorer (Stockham & Scott, 2008). Istället för att skicka urinprovet kan ett alternativ vara att köra det färskt urinprovet i SediVue Dx. Eftersom SediVue Dx fotograferar urinsedimentet kan veterinären istället be en kollega med kompetens att undersöka bilderna senare eller skicka bilderna till någon mer erfaren. Då provet analyserats färskt är den negativa tids- och förvaringsaspekten eliminerad och provets resultat kan tolkas mer korrekt.

Denna studie har sina begränsningar. De flesta provprepareringar, manuella avläsningar och bedömningar i studien har utförts av en person med tidigare begränsad erfarenhet att bedöma urinsediment. Denna person kan dock representera en veterinär som inte är van att bedöma urinsediment vilket kan ge en bra bild över hur instrumentet skulle fungera på en veterinärklinik med ovana användare.

I studien har det till stor del analyserats prover från hundar och katter utan symptom från urinvägarna. De 62 prover som analyserats har varit relativt cellfattiga och många bedömningar har utförts på få eller inga celler i provet. Detta gör att skillnaden mellan bedömningarna automatiskt blir liten. Selektion av prover från endast individer utan symptom på sjukdom från urinvägarna har gjort att proverna inte innehållit mycket celler. Det har därför inte uppstått

problem vid avläsning och har även gett färre centrifugeringar. Då SediVue Dx behöver en god kontrast med bakgrunden för att kunna räkna celler hade vi troligen behövt späda och köra om fler urinprover, om vi kört mer patientprover med instrumentet. För utvärdering av höga celltal krävs även spädning vid manuell bedömning.

Studien har varit tidsbegränsad och samarbete med insamling av urinprover skedde från två andra studentprojekt. Detta har gjort att mängden prov varit begränsad. För att kunna dra mer slutsatser om SediVue Dx förmåga att analysera urinsediment bör fler prover med mer cellinnehåll användas. Fler studier på SediVue Dx bör därför utföras.

KONKLUSION

SediVue Dx ersätter inte den manuella bedömningen av urinsediment då man fortfarande måste bedöma bilderna som instrumentet fotograferar av sedimentet för att tolka resultatet. Det finns dock en användning av instrumentet på kliniker som saknar kompetens att läsa av urinsediment eller har jourverksamhet. Detta genom att analysera ett färskt urinprov, vilket eliminerar felkällor vid bedömning som kan uppstå under förvaring och fördröjning av analys, och minska tiden från provtagning till korrekt behandling av patient. Fotografierna på sedimentet kan senare bedömas av kollega med kompetens eller skickas till person med kompetens att bedöma dem.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

I denna studie har ett urininstrument, SediVue Dx, utvärderats. Instrumentet kan bedöma den del av urinen som kallas för urinsediment. Fokus för utvärderingen har varit räkning av vita och röda blodkroppar samt förekomst av bakterier. Detta för att se om instrumentet kan ersätta dagens manuella bedömning i mikroskop. Resultatet i studien visar att SediVue Dx inte ersätter manuell bedömning i mikroskop men att det har många andra fördelar som gör att instrumentet är användbart på veterinärkliniker som saknar kompetens att bedöma urinsedimentet själva. Instrumentet var i många fall bra på att räkna antalet vita och röda blodkroppar, även om fall med felaktiga resultat förekom.

Bakgrund

Analys av urin är en viktig diagnostisk metod för att bekräfta sjukdom i urinen, utvärdera behandlingar och även upptäcka sjukdomar som individen ännu inte uppvisat tecken på. Denna undersökning hjälper till att utvärdera njurarnas funktion och förmåga att koncentrera urin. I analysen ingår kontroll av urinens färg och genomskinlighet, koncentration, kemisk analys av urinen via en urinsticka samt bedömning av urinsediment i mikroskop. Bedömning av sedimentet är den del i analysen som tar längst tid men även kan ge olika svar beroende på vem som tittar på sedimentet. Detta för att människor har ett olika tränat öga och, trots utarbetad metod för analys, även kan preparera och analysera urinen olika, vilket skapar en felkälla. Om ett instrument skulle kunna utföra denna analys korrekt kan delar av den mänskliga faktorn som felkälla elimineras och dessutom spara tid för både den som analyserar men också för patienter som väntar på provsvar.

Urinsediment

Urinsediment består av celler och andra strukturer som kan finnas i urinen och är en bottensats som bildas vid centrifugering av urin. De celler och strukturer som kan identifieras är vita och röda blodkroppar, kristaller, cylindrar, bakterier samt epitelceller. Epitelceller är celler som täcker kroppens ytor, på insidan och utsidan. Sedimentet undersöks för att se om det finns en ökning av celler, vilket kan tyda på sjukdom. En mindre mängd celler kan ses i urinen hos friska individer men vid ökning bör vidare undersökning utföras.

Mikroskopisk bedömning

En mikroskopisk bedömning av urinsediment utförs genom att först centrifugera urinen i ett provrör för att separera urinsedimentet från resterande urin. Det behövs ca 5 ml urin som standard för att undersökningen ska bli så optimal som möjligt. Därefter förs urinsedimentet på ett objektglas som används för att titta på sedimentet i mikroskop. Urinsedimentet bedöms med två olika förstoringar och därefter beräknas medelantal celler per synfält.

SediVue Dx

SediVue Dx är ett instrument som med hjälp av mikroskop och en kamera fotograferar av urinsedimentet och automatiskt räknar cellerna på bilderna med hjälp av en programvara. Instrumentet centrifugerar urinen och analyserar urinsedimentet inom 3 minuter och använder sig endast av en liten mängd urin, 165 µl. Därefter anges ett resultat med både siffror per synfält men också bilder som ska granskas för att dels se att resultatet i siffror är korrekt men också för

att se om det finns något i sedimentet som instrumentet inte har identifierat. SediVue Dx identifierar röda och vita blodkroppar, epitelceller, cylindrar, kristaller och bakterier.

Studiens utförande

I studien jämfördes manuell bedömning av urinsediment med bedömning av SediVue Dx. Totalt användes 62 urinprover i studien från katt och hund som i de flesta fall var spontankastade. Urinen samlades med en behållare när hunden kissar. 51 av proverna kom från två studentprojekt som tagit urinprover från patienter på Smådjurskliniken, Universitetsdjursjukhuset på SLU i Uppsala och 11 var patientprover inkomna till Kliniskt kemiskt laboratorium på Universitetsdjursjukhuset. Proverna skulle innehålla minst 3 ml urin för att inkluderas i studien och analyserades inom 4 timmar från insamling.

Först fördes 0,5 ml urin över i ett mindre rör för att kunna analyseras i SediVue Dx. För resterande del av urinen utfördes kontroll av dess koncentration samt kemisk analys med urinsticka. Därefter centrifugerades urinen för att koncentrera sedimentet till botten. Sedimentet undersöktes sedan manuellt i mikroskop i 12 synfält och resultatet skrevs ned med ett snittresultat per synfält för vita och röda blodkroppar, epitelceller, cylindrar, kristaller samt uppskattad förekomst av bakterier. För att bekräfta eventuell bakterieförekomst utfördes också utstryk på sedimenten som sedan färgades. Att göra utstryk innebär att sedimentet stryks tunt på ett objektglas som torkar och sedan färgas med speciella färger för att kunna se bakterier och celler bättre.

Samtidigt som centrifugering av provet utfördes skedde analys i SediVue Dx med den sparade urinen (0,5 ml) men bedömning av instrumentets resultat och bilder utfördes efter den manuella bedömningen. Fotografierna från SediVue Dx utvärderades på för att bedöma om sifferresultatet stämde, om instrumentet bedömde cellerna korrekt på fotografierna samt om det fanns celler den inte identifierat. Om det var stor skillnad mellan manuella bedömningen och SediVue Dx bedömning utfördes ytterligare en kontroll av sedimentet manuellt i mikroskop för att minska eventuell felräkning. Annars drogs slutsatsen att instrumentet bedömt sedimentet felaktigt.

Resultat

Studien visade att SediVue Dx ofta är bra på att räkna vita och röda blodkroppar. SediVue Dx är något bättre på att räkna vita blodkroppar än de röda. Medianen för skillnaden i bedömning av vita blodkroppar är 0 vita blodkroppar/synfält och för röda blodkroppar en röd blodkropp/synfält, delvis för att många prover innehållit få eller inga vita och röda blodkroppar. Det förekom också enstaka prover där skillnaden i bedömningarna manuellt och SediVue Dx uppgick till 21 celler. Orsaker är dels att instrumentet har haft svårt att räkna celler på grund av mycket cellrester och skräp i bakgrunden, men också att den har räknat skräp och fettdroppar som celler eller bedömt celler fel. I 7 av 12 prover markerade instrumentet för närvaro eller möjlig närvaro av bakterier. Detta gör att närvaro av bakterier inte kan uteslutas vid negativt prov från SediVue Dx.

Då en okulär bedömning av fotografierna för att kontrollera SediVue Dx resultat behövs ersätter instrumentet inte den manuella bedömningen. Det finns däremot ett bra användningsområde för

SediVue Dx hos mindre kliniker som saknar kompetens att bedöma urinsediment. Detta för att SediVue Dx skapar fotografier av sedimentet vilket gör att man kan spara bilderna till senare för bedömning av personer med kompetens. Dessutom kan färsk urinprover analyseras, vilket tar bort felkällor som vid fördröjd analys kan göra resultatet svårtolkat. En annan fördel är också att det inte behövs så mycket urin för att analysera provet, till skillnad från den manuella bedömningen.

REFERENSER

- Alleman, R., Bilbrough, G., Hammond, J., McCrann, D.J., Myrick, C. & DeNicola, D.B. Qualitative evaluation of erythrocyte and leukocyte numbers with an in-clinic automated urine sediment microscopy system. *Kongressaffisch, ASVCP Annual Meeting*, 3-7 December, 2016, New Orleans, USA.
- Barlough, J.E., Osborne C.A. & Stevens, J.B. (1981). Canine and feline urinalysis: value of macroscopic and microscopic examination. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 178(1):61-63.
- Brobst, D. (1989), Urinalysis and associated laboratory procedures. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 19(5):929-949. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(89\)50105-0](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(89)50105-0)
- Callens, A.J. & Bartges J.W. (2015). Urinalysis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 45:621-637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2015.02.001>
- Chase, J., Hammond, J., Bilbrough, G. & DeNicola D.B. (2018). Urine sediment examination: Potential impact of red and white blood cell counts using different sediment methods. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(4):608-616. DOI: <https://doi.org/10.1111/vcp.12674>
- Chew, D., DiBartola, S.P. & Schenck, P.A. (2011). Urinalysis I: Chew, D., DiBartola, S.P. & Schenck, P.A. (red), *Canine and Feline Nephrology and Urology*. St. Louis: Saunders, 1-31.
- Cridge, H., Wills, R.W. & Lathan, P. (2018). Correlation between urine color and urine specific gravity in dogs; can urine color be used to identify concentrated urine? *The Canadian Veterinary Journal*, 59(2):178-180. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5764211/> [2019-01-04]
- Fenili, D. & Pirovano, B. (1998). The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 36(12):909–17. DOI: <https://doi.org/10.1515/CCLM.1998.158>
- Fry, M.M. (2010). Urinalysis. I: Bartges, J. & Polzin D. (red), *Nephrology and Urology of Small Animals*. Chichester: Wiley-Blackwell, 46-57.
- Grauer, G.F. (2011). Proteinuria: measurement and interpretation. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(3):121-127. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.04.002>
- Hammond, J., Moisan, L., Bilbrough, G. & DeNicola, D.B. (2015). Erythrocyte and leukocyte precision with an in-clinic automated urine sediment microscopy system. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(4): E1-E18. DOI: <https://doi.org/10.1111/vcp.12291>
- Hernandez, A.M, Bilbrough, G.E.A, DeNicola, D.B, Myrick, C. & Nabity, M.B. (2016). Comparison of the SediVue Dx™ Analyzer with manual microscopy for detection of red blood cells and white blood cells in urine sediments. *Kongressaffisch, ASVCP Annual Meeting*, 3-7 December, 2016, New Orleans, USA.
- Hernandez, A.M., Bilbrough, G.E D, DeNicola, D.B., Myrick, C., Edwards, S., Hammond, J.M., Myers, A.N., Heseltine, J.C., Russell, K., Giraldo, M. & Nabity, M.B. (2018). Comparison of the performance of the IDEXX SediVue Dx® with manual microscopy for the detection of cells and 2 crystal types in canine and feline urine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.15341>

- Holan, K.M., Kruger, J.M., Gibbons, S.N. & Swenson, C.L. (1997). Clinical evaluation of a leukocyte esterase test-strip for detection of feline pyuria. *Veterinary Clinical Pathology*, 26(3):126-131. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.1997.tb00723.x>
- Idexx Laboratories (2017-08-08). *SediVue Dx Urine Sediment Analyzer*. Tillgänglig: <https://www.idexx.com/en/veterinary/analyzers/sedivue-dx-analyzer/> [2018-09-27].
- Idexx Laboratories (2018). *SediVue Dx Urine Sediment Analyzer Operator's Guide*. [Broschyr]. Westbrook: Idexx Laboratories Inc. Tillgänglig: https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/c6/b2/c6b21e0b-1056-4a2c-ae43-a85eb3e47220/sedivue-ops-guide-en.pdf [2018-12-11].
- Linko, S., Kouri, T.T., Toivonen, E., Ranta, P.H., Chapoulaud, E. & Lalla, M. (2006). Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. *Clinica Chimica Acta*, 372(1):54–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.03.015>
- O'Neil, E., Horney, B., Burton, S., Lewis, J.P., MacKenzie, A., & Stryhn, H. (2013). Comparison of wet-mount, Wright-Giemsa and Gram-stained urine sediment for predicting bacteriuria in dogs and cats. *The Canadian Veterinary Journal*, 54(11):1061–1066. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3801283/> [2018-12-11].
- Osborne, C.A. & Stevens, J.B. (1999). The urinary tract in health: definitions of terms and concepts. I: Osborne, C. A., Stevens, J. B. (red). *Urinalysis: A Clinical Guide to Compassionate Patient Care*. Shawnee Mission: Bayer Corporation, 1-7.
- Osborne, C.A. & Stevens, J.B. (1999). Urine sediment: under the microscope. I: Osborne, C. A., Stevens, J. B. (red). *Urinalysis: A Clinical Guide to Compassionate Patient Care*. Shawnee Mission: Bayer Corporation, ss. 125-131.
- Reine, N.J. & Langston, C.E. (2005). Urinalysis interpretation: how to squeeze out the maximum information from a small sample. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20(1):2-10. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.ctsap.2004.12.002>
- Sink, C.A. & Weinstein, N.M. (2012). *Practical Veterinary Urinalysis*. Chichester: Wiley-Blackwell.
- Stockham, S.L. & Scott, M.A. (2008). Urinary system. I: Stockham, S.L. & Scott M.A (red), *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2. ed. Ames: Blackwell Publishing, 416-494.
- Wamsley, H. & Alleman, R. (2007). Complete urinalysis. I: Elliot, J & Grauer G.F. (red), *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*. 2. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 87-116.
- Winkel, P., Statland, B.E. & Jørgensen, K. (1974). Urine microscopy, an ill-defined method, examined by a multifactorial technique. *Clinical Chemistry*, 20(4):436-439.
- Zaman, Z., Fogazzi, G.B., Garigali, G., Croci, M.D., Bayer, G. & Kránicz, T. (2015). Urine sediment analysis: Analytical and diagnostic performance of sediMAX® - a new automated microscopy image-based urine sediment analyser. *Clinica Chimica Acta*, 11(3-4):147–154. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.10.018>