Utjecaj vakuuma na elemente mokraćnog sedimenta

Štimac, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:340019

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Iva Štimac

Utjecaj vakuuma na elemente mokraćnog sedimenta

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Klinička biokemija organa i organskih sustava Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko–biokemijskog fakulteta i izrađen na Kliničkom zavodu za kemiju u KBC-u „Sestre milosrdnice“ u Zagrebu pod stručnim vodstvom nasl. izv.prof. dr. sc. Ana-Marie Šimundić.

Zahvala:

Zahvalj**u**jem se svojoj dragoj mentorici prof. dr. sc. Ana-Marii Šimundić i kolegici Aniti Horvat pod čijim je stručnim vodstvom izveden i napisan ovaj diplomski rad.

Po**s**ebno zahvaljujem svojim roditeljima i bratu koji su me tijekom cijelog školovanja podupirali i poticali me kako u lijepi**m** tako i u teškim trenucima.

Zahvaljujem se i svojim kolegicama i kolegama sa Farmaceutsko-**b**iokemijskog fakulteta koji su uljepšali i olakšali sve trenutke našeg zajedničkog školovanja.

Sadržaj

1.Uvod 1
1.1.Kvalitativna analiza mokraće 1
1.1.1.Organoleptički pregled 2
1.1.2.Kemijska analiza (analiza test trakom) 2
1.1.3.Mikroskopski pregled sedimenta mokraće 4
1.2.Klinički značaj kvalitativne analize mokraće 4
1.2.1.Klinički značaj organoleptičke analize 4
1.2.2.Klinički značaj kemijske analize 6
1.2.3.Klinički značaj pregleda sedimenta 9
1.3.Predanalitičke i analitičke značajke kvalitativne analize mokraće 16
2.Obrazloženje teme 18
3.Materijali i metode 19
3.1.Prikupljanje mokraće za ispitivanje 19
3.2.Kvalitativna analiza prikupljenih uzoraka 19
3.3.Obrada rezultata 20
4.Rezultati i rasprava 21
5.Zaključci 27
6.Literatura 28
7.Sažetak/Summary 30
8.Temeljna dokumentacijska kartica/Basic documentation card 32

1.Uvod

Mokraća je sterilan, otpadni produkt organizma kojim se izlučuju otpadne i štetne tvari metabolizma te suvišna tekućina. Bubrezi stvaraju mokraću glomerularnom filtracijom, reapsorpcijom tvari iz bubrežnih kanalića u krv te sekrecijom tvari iz krvi u bubrežne kanaliće. Stvaranje mokraće započinje filtracijom velike količine krvi kroz glomerularne kapilare u Bowmanovu čahuru i nastaje glomerularni filtrat koji u zdravih osoba ne sadrži proteine ni stanice, ali sadrži soli i organske molekule. Zatim dospjeva u bubrežne kanaliće redom kroz proksimalni kanalić, Henleovu petlju, distalni i sabirni kanalić te sabirnu cijev i izlučuje se kao mokraća. Tubularna reapsorpcija vrlo je selektivna pa se tako npr. glukoza i aminokiseline u potpunosti reapsorbiraju i u zdravih se ne pojavljuju u mokraći. Različiti ioni se reapsorbiraju ovisno o potrebama organizma, njihovo izlučivanje je promjenjivo pa tako i njihova količina u mokraći. S druge strane ureja i kreatinin se slabo reapsorbiraju i izlučuju u velikim količinama. O zdravlju bubrega i ostatka organizma, ovisi i konačni sastav mokraće. Osim izlučivanja organizmu nepotrebnih i štetnih tvari bubrezi stvaranjem mokraće nadziru ravnotežu vode i elektrolita, reguliraju acido-baznu ravnotežu, reguliraju arterijski tlak te sudjeluju u lučenju, metabolizmu i izlučivanju hormona. (*Guyton i Hall,2003*)

Kod zdrave osobe izluči se oko 1-2 litre mokraće na dan. Količina mokraće može jako varirati ovisno o količini uzimanja tekućine te stanju organizma. Tako poznajemo *oliguriju* ili smanjeno izlučivanje mokraće koje je može javiti kod različitih bubrežnih i srčanih bolesti. Potpuna nemogućnost mokrenja naziva se *anurija* te se može pojaviti kod opstrukcije mokraćnih putova te *poliurija* što označava prekomjerno mokrenje te ju nalazimo kod dijabetičara i pacijenata s dijabetes insipidusom. (*Čvorišćec, 2009*)

U zdravoj mokraći izluči se oko 60 g krutih sastojaka po danu, a to su razni organski i anorganski spojevi metabolizma, lijekovi i njihovi metaboliti, stanice te sastojci hrane (dodaci hrani). Mokraća je glavni put za uklanjanje ureje (iz metabolizma aminokiselina), kreatinina (iz mišićnog kreatina), mokraćne kiseline (iz nukleinskih kiselina), bilirubina (konačni produkt razgradnje hemoglobina) te metabolita različitih hormona koji organizmu nisu potrebni i u većoj količini su štetni. Sastav mokraće ovisi o dobi, prehrani, fizičkoj aktivnosti, hidriranosti organizma i drugim čimbenicima. Patološke promjene u organizmu, kao što su poremećaji metabolizma, endokrinog sustava, urogenitalnog trakta, cirkulacijski poremećaji ili maligne bolesti, mogu utjecati na sastav mokraće te poslužiti kao metoda probira. (*Čvorišćec, 2009*)

1.1.Kvalitativna analiza mokraće

Kvalitativna analiza mokraće je rutinska pretraga koja se koristi pri dijagnosticiranju bubrežnih i drugih oboljenja. Za točnost nalaza potrebno je pridržavati se predanalitičkih

smjernica i uputa za pripremu pacijenta i uzimanje uzorka mokraće kako bi uzorak dostavljen u laboratorij bio pogodan za analizu. Smjernice i upute propisuje „Hrvatska komora medicinskih biokemičara“.

Upute za uzimanje uzorka mokraće za kvalitativnu analizu

• Uzorak izbora je srednji mlaz prve jutarnje mokraće nakon noćnog sna, toalete vanjskog spolovila, prije doručka i drugih aktivnosti, pri čemu vrijeme od posljednjeg pražnjenja mjehura treba biti najmanje 4, a najviše 8 sati.

• Analizu se ne preporučuje raditi kod žena neposredno prije, za vrijeme i neposredno nakon menstruacije kao ni kod žena koje imaju vidljiv vaginalni iscjedak.

• Uzorak mokraće treba skupljati u čistu posudu sa širokim grlom koja je po mogućnosti za jednokratnu upotrebu.

• Ako se uzorak prenosi do mjesta obrade, posuda mora biti zatvorena.

• Pregled uzorka mokraće treba učiniti unutar 2 sata (najkasnije 4 sata) po uzimanju uzorka.

Kvalitativna analiza mokraće obuhvaća organoleptički pregled, fizikalno-kemijsku analizu i mikroskopski pregled mokraćnog sedimenta. Svi uzorci koji se zaprimaju prolaze kroz sve tri faze kvalitativne analize.

1.1.1.Organoleptički pregled

Organoleptički pregled mokraće zahtjeva opisivanje izgleda, boje i mirisa mokraće. On nam služi za orijentaciju, ali test trakom i pregledom sedimenta utvrđujemo uzrok zamućenja, promijene boje ili mirisa mokraće. Zdrav izgled mokraće opisuje se kao bistar i svijetlo žut, ali test traka i sediment mogu pokazati patološke promjene.

1.1.2. Kemijska analiza (analiza test trakom)

Kemijska analiza obuhvaća određivanje relativne volumne mase (RVM), pH te eritrocita, leukocita, proteina, glukoze, bilirubina, urobilinogena, ketonskih spojeva i nitrita test trakom. Analiza test trakom jednostavna je metoda te se može koristiti i kao pretraga uz bolesnika ili kod kuće. Izrađene su od celuloze i prozirne plastike na kojoj su na poljima impregnirani odgovarajući reagensi koji daju boju koja se uspoređuje sa skalom boja i pridružuje joj se polukvantitativan rezultat. Boja se uspoređuje sa skalom na kutiji ili automatski pomoću čitača traka refleksnom fotometrijom. Rezultat se izražava arbitrarnom jedinicom (negativno, 1/+, 2/++, 3/+++ ili 4/++++). (*Čvorišćec, 2009*)

Kemijska analiza se izvodi uranjanjem test trake u epruvetu s mokraćom, potom se izvadi i na filter papiru pokupi se višak tekućine i nakon 30 sekundi uspoređuje se sa skalom, odnosno određuje automatski u čitaču traka. Trake za kemijsku analizu potrebno je skladištiti i koristiti kako propisuje proizvođač kako bi rezultati bili točni.

Relativna volumna masa je fizikalna veličina koja ovisi o volumenu i koncentraciji otopljenih sastojaka u mokraći. Vrijednosti se kreću od 1,002-1,030. Određivanje RVM-a urometrom, danas je zamijenjeno test trakom mjerenjem ionske koncentracije na reagencijskom polju gdje anhidridna skupina polielektrolitne otopine hidrolizira i stvara aktivne karboksilne skupine. (*Čvorišćec, 2009*) Visoke koncentracije iona iz otopine oslobađaju ione iz polimera te oslobođeni vodikovi ioni smanjuju pH pri čemu indikator mijenja boju.

Reakcija (pH) mokraće temelji se na načelu smjese indikatora tj. na „proteinskoj greški indikatora". Dio trake impregniran je smjesom metilnog crvenila i bromotimolskog plavila pa tako ovisno o pH mokraće dobivamo raspon boja narančaste-zelene-plave. Referentni interval pH mokraće je od 5-9 jer bubrezi sudjeluju u održavanju acido-bazne ravnoteže te prema potrebi izlučuju više ili manje kiselih i bazičnih sastojaka. (*Čvorišćec, 2009*)

Proteini u mokraći dokazuju se proteinskom greškom indikatora. Aminoskupine proteina vežu se na anionske skupine indikatora što dovodi do promijene boje. Može detektirati 0,25-0,30 g/L. Testna traka osjetljiva je na albumin, ali manje na ostale proteine kao što je Bence-Jonesov protein pa se njega prisutnost mora dokazati drugom metodom, a preporuča se određivanje lakih lanaca imunoglobulina u serumu. (*Čvorišćec, 2009*)

Od šećera u mokraći test trakom određuje se **glukoza** reakcijom s glukoza oksidazom koja glukozu oksidira u glukonsku kiselinu pri čemu nastaje vodikov peroksid koji oksidira indikator impregniran na test traci i dolazi do obojenja te se nastala boja mjeri refleksnom fotometrijom. (*Čvorišćec, 2009*)

Ketonski spojevi u mokraći dokazuju se Legalovom reakcijom s natrijevim nitroprusidom koji u alkalnom mediju s acetoctenom kiselinom stvara crveno obojeni spoj. Reakcija dokazuje aceton i acetoctenu kiselinu. (*Čvorišćec, 2009*)

Bilirubin u mokraći veže diazonijevu sol u kiseloj sredini te se nastala azo-boja mjeri refleksnom fotometrijom. (*Čvorišćec, 2009*)

Za dokazivanje **urobilinogena** izvodi se Erlihova reakcija s 3,2-dinitro-4-fluoro-4-diazonijevom soli s triazinskom soli ili p-dimetilaminobenzaldehidom. (*Čvorišćec, 2009*)

Dokaz **eritrocita i hemoglobina** u mokraći temelji se na peroksidativnom djelovanju hemoglobina gdje na test traci uz vodikov peroksid oksidira kromogen spoj u plavo zeleni produkt koji na žutom polju stvara sve prijelaze žute boje prema zelenoj. Eritrociti hemoliziraju na test traci pa obojenje nastaje u obliku zelenih točkica. (*Čvorišćec, 2009*)

Dokazivanje **nitrita** postiže se reakcijom aromatskog amina sulfanilamida s nitritima mokraće u kiselom. Nastali diazo spoj stvara 3-hidroksi-1,2,3,4-tetrahidro-7,8-benzokinolinom narančasto-crveni azoprodukt. (*Čvorišćec, 2009*)

Test trakom **leukocite** dokazujemo djelovanjem esteraze iz granulocita koja katalizira hidrolizu indoksil-estera, zatim nastali indoksil ulazi u reakciju s diazonijevom soli stvarajući obojeni ljubičasti spoj. (*Čvorišćec, 2009*)

1.1.3. Mikroskopski pregled sedimenta mokraće

Nakon kemijske analize slijedi centrifugiranje uzorka u epruveti ako je volumen uzorka dovoljan za pregled mokraćnog sedimenta, a obično se uzima 5-12 mL. Centrifugiranjem 5 min pri 1500 o/min odvajamo netopljive sastojke od topljivih, a zatim dekantiranjem dobivamo sediment na dnu epruvete spreman za daljnji mikroskopski pregled. Ručnim mikroskopiranjem se na objektno stakalce stavlja 14 µL sedimenta i prekriva se pokrovnim stakalcem te se odmah gleda pod mikroskopom. Najprije se gleda na manjem povećanju od 100 puta i traže se cilindri, zatim se detaljno pregleda na povećanju od 400 puta kako bi se identificirali drugi elementi sedimenta. (*Čvorišćec, 2009*)

Danas se koriste i analizatori s automatskim prepoznavanjem elemenata sedimenta koji se temelje na tehnologiji protočne citometrije. Ručno mikroskopiranje i protočna citometrija pokazuju dobru usporedivost rezultata, ali automatsko prepoznavanje ima bolji „*turn around time*“ odnosno skraćuje vrijeme analize što je za hitne pretrage osobito važno. (*Ma i sur, 2013*)

1.2.Klinički značaj kvalitativne analize mokraće

Obavljanjem cjelokupne analize uzorka mokraće moguće je otkriti poremećaje metabolizma ugljikohidrata, bolesti bubrega i urogenitalnog trakta te hemolitičke bolesti i bolesti jetre.

1.2.1.Klinički značaj organoleptičke analize

Izgled mokraće u zdravih ljudi obično je bistar pa mutna mokraća može upućivati na sadržaj leukocita (gnoj), proteina, epitelnih stanica te mikroorganizama što je znak patološkog stanja, ali može biti mutna od izlučivanja većih količina raznih soli ili sluzi. Ukoliko se u mokraći izluči veća količina masti izgleda kao mlijeko. (*Čvorišćec, 2009*)

Svježa mokraća zdravih ljudi nema neugodan miris (miris goveđe juhe) koji potječe od hlapljivih kiselina, ali s prisutnosti gnoja i bakterija postaje neugodan (amonijak, sumporovodik). Neugodan miris potječe i od hrane npr. šparoga. Mokraća može poprimiti neobičan miris pa tako npr. miris javorovog sirupa daju razgranate aminokiseline kod sindroma javorovog sirupa, a miris na voće ima mokraća sa povećanom koncentracijom acetona. Neki najčešći poremećaji i s tim vezane promjene mirisa mokraće navedeni su u Tablici 1.

Tablica 1. Promjene mirisa mokraće u nekih najčešćih metaboličkih poremećaja (*Priručnik za vježbe iz kolegija Opća klinička biokemija II*)

Spoj	Miris	Poremećaj
Feniloctena kis.	Plijesan	Fenilketonurija
Razgranate aminokis.	Javorov sirup	Sindrom javorovog sirupa
α-ketomaslačna kis.	Hmelj, pivovara	Sindrom „hmelja“
Izovalerijska kis.	Sir neugodna mirisa	Izovalerična acidurija
Maslačna kiselina	Sir neugodna mirisa	Maslačna acidurija
α-keto-p-maslača kis.	Pokvareni maslac	Hipermetioninemija

Boja mokraće obično je svijetlo žuta zbog prisutnosti mokraćnih pigmenata (urokroma, uroeritrina, urorozeina te indirubina) (*Čvorišćec, 2009*). Boju lako može promijeniti hrana npr. cikla koja joj daje crvenu nijansu te neki lijekovi. Zdravu boju mokraće mogu izmijeniti neka od sljedećih boja i uputiti na patološko stanje (Tablica 2.).

Tablica 2. Promjene boje mokraće u nekih patoloških stanja (*Čvorišćec, 2009*)

Boja	Uzrok
Crvenkasta ili čađava	Krv: akutni nefritis, krvarenje iz urogenitalnog sustava zbog infekcije, tumora ili kamenca Hemoglobin:propadanje eritrocita u alkalnoj mokraći, izlučivanje boje koja se oslobađa zbog intravaskularne hemolite Porfirini: idiopatska porfirinurija, nakon uzimanja lijekova Povećana količina uroeritrina:nakon fizičkog napora, kod akutnih vrućica Lijekovi i hrana
Smeđa ili tamnosmeđa	Methemoglobin: nakon različitih lijekova Homogentizinska kiselina kod alkaptonurije Dihidroksifenoli: nakon aromatskih lijekova i otrova (karbolna kis. ili lizol)

	Melanogen: melanosarkom
Žuta ili smeđa sa zelenkasnom nijansom	Žučni pigment
Prljavo zelena, mutna poput mlijeka	Lijekovi npr. metilensko plavilo Višak mokraćnog indikana kod tifusa i gangrene Fosfati u alkalnoj mokraći, mast, gnoj

1.2.2.Klinički značaj kemijske analize

Klinički značaj određivanja pH

Zdrava osoba izlučuje mokraću od slabo kisele do slabo lužnate reakcije, pH 5,0-9,0, a na to utječe prehrana, probava te razna bolesna stanja i lijekovi. Prehrana s mnogo mesa odnosno proteina mokraću čini kiselijom jer razgradnjom proteina nastaju sumporna i fosforna kiselina koje se izlučuju u obliku sulfata i fosfata. Vegetarijanska prehrana čini mokraću alkalnijom zbog nastanka ugljične kiseline koja se izlučuje u obliku karbonata. Kiselija mokraća javlja se kod bolesnika s malignim bolestima i visokom temperaturom zbog pojačane razgradnje proteina te kod dehidracije. Mokraća kod osoba koje povraćaju ili imaju proljev je alkalna zbog gubitka klorovodične kiseline te osobe s respiratornom alkalozom i urinarnom infekcijom također. Povećan ili smanjen pH može povećati rizik nastanka mokraćnih kamenaca te je alkalna mokraća povezana s nastajanjem kamenaca kalcijevog karbonata, kalcijevog fosfata i magnezijevog fosfata, a kiseli pH mokraće povezan je s nastajanjem kamenaca ksantina, cistina, urata i kalcijevog oksalata. (*Čvorišćec, 2009*) Kod dijabetesa, gladovanja i dijabetičke ketoacidoze pH je također kiseo. Neki od lijekova koji utječu na pH mokraće su acetazolamid, kalijev citrat, tiazidni diuretici, amonijev klorid i dr. (*Nall, 2012*) Određivanje pH potrebno je obaviti u svježoj mokraći zbog djelovanja bakterija na ureju iz čega se stvara amonijev karbonat koji daje lužnatu reakciju. (*Čvorišćec, 2009*)

Klinički značaj određivanja relativne volumne mase

Relativna volumna masa mokraće je fizikalna veličina koja ovisi o volumenu i koncentraciji otopljenih sastojaka u mokraći. (www.labtestsonline.org) Vrijednosti se kreću od 1,002-1,030 jer volumen i otopljeni sastojci mogu jako varirati, ovisno o potrebama i stanju organizma. Što je volumen mokraće veći to je RVM manji i obrnuto. Prva jutarnja mokraće je koncentriranija pa je i njen RVM veći, nego kod dnevne mokraće. Međutim kod bolesnika sa šećernom bolesti RVM je visok bez obzira na veći volumen mokraće zbog izlučivanja glukoze. (*Čvorišćec, 2009*)Povećane vrijednosti javljaju se kod bolesnika sa šećernom bolesti, dehidracije (mokraća je koncentrirana), tumora hipofize (pojačano luči antidiuretski hormon), smanjenog protoka krvi kroz bubrege (npr. u bubrežnoj arterijskoj stenozi ili hipotenziji, bolestima srca), glukozuriji i proteinuriji.

Smanjene vrijednosti obično je javljaju kod pacijenata s diabetes insipidusom, kod prevelike hidracije organizma, kada zbog bolesti bubrezi gube sposobnost koncentriranja mokraće te kod korištenja diuretika. (*www.nlm.nih.gov*)

Klinički značaj određivanja eritrocita i hemoglobina

Pronalazak krvi u mokraći patološki je znak osim u žena s menstruacijom, ali takav uzorak nije prikladan za analizu. Uzrok hematurije često su mokraćni kamenci, upalni procesi u bubrezima ili mjehuru te infektivne i maligne bolesti. Hematurija može biti vidljiva okom ili vidljiva pregledom sedimenta. (*Čvorišćec, 2009*) Kod muškaraca pojava krvi u mokraći može biti zbog povećane prostate. (*Krucik, 2012*) Rjeđa stanja koja uzrokuju hematuriju su srpasta anemija, hemofilija, talasemija, alergijske reakcije, ciroza jetre i dr. (*www.limeta.net.hr*)

Klinički značaj određivanja leukocita

U mokraći zdravih osoba nalazimo 10 leukocita po mikrolitru, odnosno 1 po vidnom polju, ako se mokraćni sediment gleda pod povećanjem od 400 puta . (*Čvorišćec, 2009* Leukociturija znak je upalnog procesa u bubrezima (npr. pijelonefritis) i infekcije donjih mokraćnih putova. Bubrežni i mokraćni kamenci mogu oštetiti tkivo te izazvati upalne procese. (*Robin, 2014*) Često se javlja uz bakteriuriju, međutim abakterijska leukociturija katkad je jedini pokazatelj tuberkuloze bubrega ili mokraćnog sustava. (*Čvorišćec, 2009)* Prolazna leukociurija može se javiti kod trudnica. (*www.plivazdravlje.hr*) Test traka može dati pozitivan rezultat na leukocite kojih u pregledu sedimenta nema, što znači da su se vjerojatno raspali stajanjem mokraće jer test traka reagira s leukocitnom esterazom iz liziranih leukocita. (*www.library.med.utah.edu*)

Klinički značaj određivanja nitrita

U urinu zdrave osobe nema nitrita, ali stajanjem na sobnoj temperaturi, zbog rasta bakterija, nitrati prelaze u nitrite. Nitrati se normalno nalaze u mokraći, a potječu od dodataka hrani i proteina, dok nitriti u mokraći ukazuju na infekciju urogenitalnog trakta gram negativnim bakterijama, najčešće *E. coli*. Za potvrdu infekcije radi se mikroskopski pregled sedimenta i urinokultura jer ne reduciraju sve bakterije nitrate u nitrite. (*Čvorišćec, 2009*)

Klinički značaj određivanja ketonskih spojeva

Zajednički naziv za aceton, acetoctenu kiselinu i β hidroksimaslačnu kiselinu su ketonski spojevi koji nastaju iz masnih kiselina β oksidacijom. U mokraći zdrave osobe izluči ih se na dan oko 1,96-4,9 mmol/L. (*Čvorišćec, 2009*) Prekomjerno se stvaraju u šećernoj bolesti kod dijabetičke ketoacidoze i kod poremećene intestinalne apsorpcije te bolesti

pohrane glikogena. Njihova koncentracija u mokraći raste kod dužeg gladovanja te zbog prehrane bez ugljikohidrata i dužeg povraćanja, hipertireoidizma, anoreksije, opeklina, vrućice, trudnoće, teškog fizičkog napora, alkoholizma i dr. (*www.nlm.nih.gov*) Ketonski spojevi u urinu 24 sata nakon prebacivanja s inzulina na oralne hipoglikemike znak je lošeg odgovora na uzeti lijek. (*www.en.wikipedia.org*)

Klinički značaj određivanja bilirubina

Bilirubin se u mokraći pojavljuje u patološkim stanjima ako se hemoglobin pojačano razgrađuje pa se nedovoljno uklanja iz cirkulacije, zatim kod bolesti jetre kada ga ona ne može metabolizirati, kod hepatotoksičnih lijekova ili kod opstrukcije žuči. Kod takve mokraće karakteristična je žuta pjena, a stajanjem intenzivna žuta boja prelazi u zelenkastu (biliverdin). (*Čvorišćec, 2009; www.patient.co.uk*)

Klinički značaj određivanja urobilinogena

Urobilinogen se stvara u crijevima redukcijom bilirubina bakterijama. Nastali urobilinogen se enterohepatičkom cirkulacijom dijelom vraća u krvotok, a ostali dio se izlučuje stolicom u obliku sterkobilina. Većina vraćenog urobilinogena jetrom se izlučuje ponovno u crijeva, a oko 5% izluči se bubrezima u mokraću. (*Guyton i Hall, 2003*)

Kod nekih bolesti jetre (rani hepatitis, toksični hepatitis) urobilinogen se ne vraća u jetru jer je njena funkcija oslabljena nego se u većoj mjeri uklanja bubrezima.(*Goljan, 2010*) Kod hemolitičke žutice jetra ne gubi funkciju, ali ne može prihvatiti toliku količinu bilirubina koji nastaje zbog povećanog raspada eritrocita pa se posljedično stvara i više urobilinogena u crijevima, a zbog enterohepatičke cirkulacije veća količina urobilinogena izlučuje se mokraćom. (*Guyton i Hall, 2003)* Opstrukcija žučnih vodova smanjuje koncentraciju urobilonogena u mokraći ili on skroz izostaje jer bilirubin ne dolazi do crijeva. (*Simerville i sur, 2005*)

Klinički značaj određivanja proteina

Proteini u mokraći su u koncentraciji < 20 mg/L. Prolazak proteina u mokraću može biti raznih uzroka i izvora. Sve bubrežne bolesti povezuju se s proteinurijiom (npr. nefrotski sindrom, glomerulonefritis, maligna hipertenzija, lupus erimatosus, otrovanja teškim metalima, bakterijski pijelonefritis, terapija nefrotoksičnim lijekovima). Bolesti kod kojih se u mokraći pronalaze proteini su i multipli mijelom, tromboza bubrežne vene, dijabetes melitus, tumor mjehura, uretitis ili prostatitis, odbacivanju transplantata, preklampsije, reumatoidnog artritisa, Fabryjeve bolesti i mnogih drugih. (*Čvorišćec, 2009; Martel, 2012*) Minimalna albuminurija od 20-200 mg/L rano otkriva disfunkciju glomerularne filtracije te njome pratimo

učinak terapije kod šećerne bolesti tipa 1 i 2 te kod esencijalne hipertenzije. (*Pollak i Sypniewska, 2007*)Za detekciju minimalne albuminurije koristi se kvantitativna metoda određivanja albumina. (*www.hkmb.hr*)

Proteini u mokraći pojavljuju se kod trudnica, teškog fizičkog rada, dugog stajanja te kod djece, ali te proteinurije su prolazne. (*Čvorišćec, 2009*)

Klinički značaj određivanja glukoze

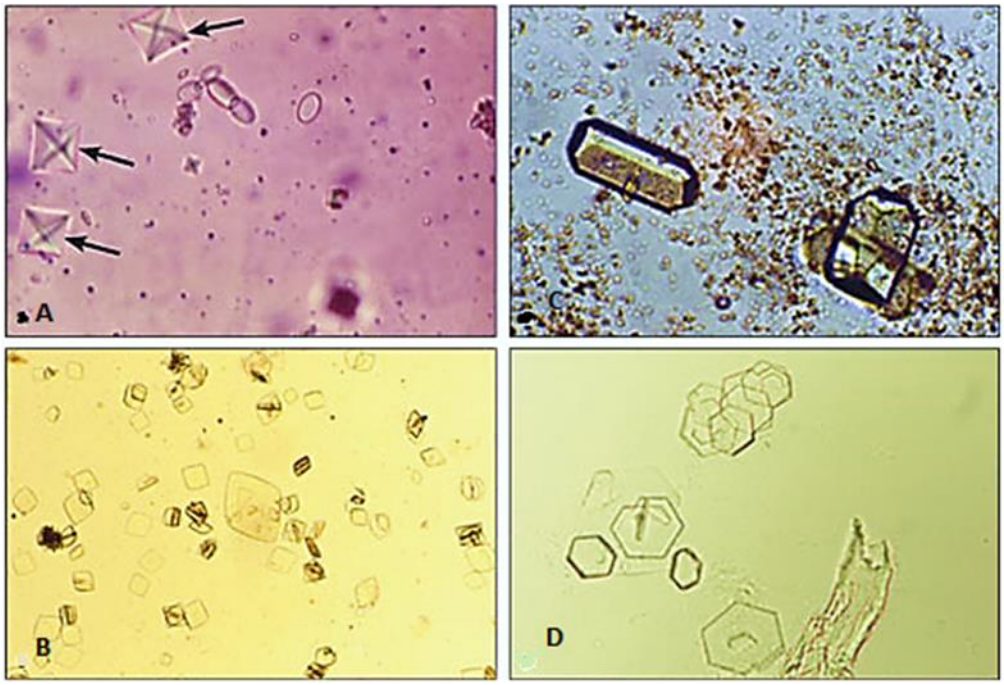
Glukoza se u potpunosti reapsorbira u tubulima pa se kod zdravih osoba ne detektira u mokraći jer je njena koncentracija 0-0,8 mmol/L. Međutim, kod serumskih koncentracija glukoze viših od 10 mmol/L (bubrežni prag) glukoza se izlučuje mokraćom i možemo ju dokazati test trakom. Njen dokaz u mokraći upućuje na šećernu bolest ili drugi poremećaj u regulaciji koncentracije glukoze u krvi. Kod trudničkog dijabetesa glukoza je prisutna u mokraći. Pozitivan rezultat testa glukoze u urinu, a uredan nalaza glukoze u krvi upućuje na bubrežnu glikozuriju. (*Čvorišćec, 2009*)

1.2.3.Klinički značaj pregleda sedimenta

Pregledom mokraćnog sedimenta nailazimo na netopljive sastavnice mokraće koje nam daju određen dijagnostički značaj te nam daju podatke koje kemijskom analizom nisu vidljivi. Za ovu analizu treba iskustvo u prepoznavanju i razlikovanju tvorbi kako bi dobili točan nalaz. Mokraćni sediment sastoji se od neorganiziranog i organiziranog dijela. Neorganizirani dio čine razne soli u kristalnom ili amorfnom obliku, a organizirani dio čine stanice i cilindri. (*Čvorišćec, 2009*)

Klinički značaj pronalaska kristala soli

O pH i temperaturi ovisi koji kristali soli će se taložiti u sedimentu. Iz kisele mokraće tako se talože kristali i soli mokraćne kiseline i kalcijev oksalat, a iz alkalne fosfati i karbonati. Najčešće u sedimentu pronalazimo kristale mokraćne kiseline, kalcijeve, amonijeve ili triplfosfate, kalcijev oksalat i karbonat te rijeđe kalcijev sulfat. Ti kristali su prisutni kod zdravih osoba, ali postoje i oni koji se javljaju kod disfunkcije organa, zbog kamenaca ili infekcije urinarnog trakta. Od kristala kojih nema u zdravoj mokraći su tirozin u obliku igličastih kristala i leucin u obliku pužića koji će se pojaviti kod većih oštećenja jetre. Zatim, žuti kristali bilirubina i rjeđe pločasti kristali kolesterola. Neki lijekovi mogu stvarati kristale kao npr. sulfonamidi. (*Čvorišćec, 2009*)



Slika 1. A) kristali kalcijevog oksalata povećanje 100 puta (oblik pisma), B) kristali mokraćne kiseline povećanje 100 puta, C) kristali trilp fosfata (oblik lijesa) povećanje 400 putai amorfnog fosfata, D) kristali cistina povećanje 100 puta(oblik šesterokuta), Urynalisis: A Comprehensive Review, Simerville i sur.



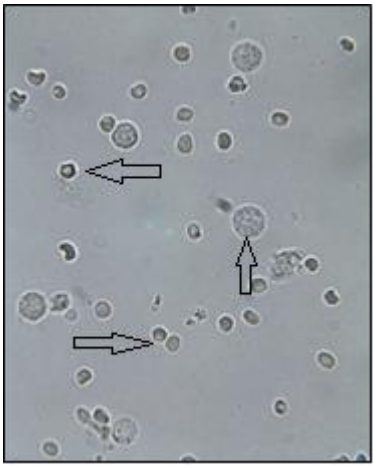
Slika 2. Oblik pužića kristala leucina, www.studydroid.com i igličasti kristali tirozina, www.quizlet.com

Klinički značaj pronalaska leukocita

Leukociti su stanice promjera 7-10 µL i veći su od eritrocita te imaju jezgru koju možemo i bolje uočiti dodatkom kapi 10% octene kiseline. U većem broju ih nalazimo kod urogenitalnih infekcija. U alkalnoj mokraći se raspadaju pa ih takve možemo vidjeti kao gustu sluzavu masu s jezgrama. Često uz leukocite nalazimo i bakterije. (*Čvorišćec, 2009*)

Klinički značaj pronalaska eritrocita

Male bikonkavne stanice bez jezgre su eritrociti. Mogu poprimiti izgled kotačića ako nabubre ili biti isprekidanog ruba ako se stisnu u koncentriranoj mokraći. Mogu biti dismorfičnog oblika (akantociti ili G stanice) pa uputiti na glomerularno krvarenje ili izomorfični koji upućuju na krvarenje u urogenitalnom sustavu zbog ozljede tkiva solima ili infekcijom. (*Čvorišćec, 2009*) Hematurija se može javiti kod intenzivnog vježbanja (maraton) i uzimanja nekih lijekova. (*Ellis, 2012*)



Slika 3. Eritrociti i leukociti u mokraćnom sedimentu, povećanje 400 puta, www.images.1233.tw

Klinički značaj pronalaska epitelnih stanica

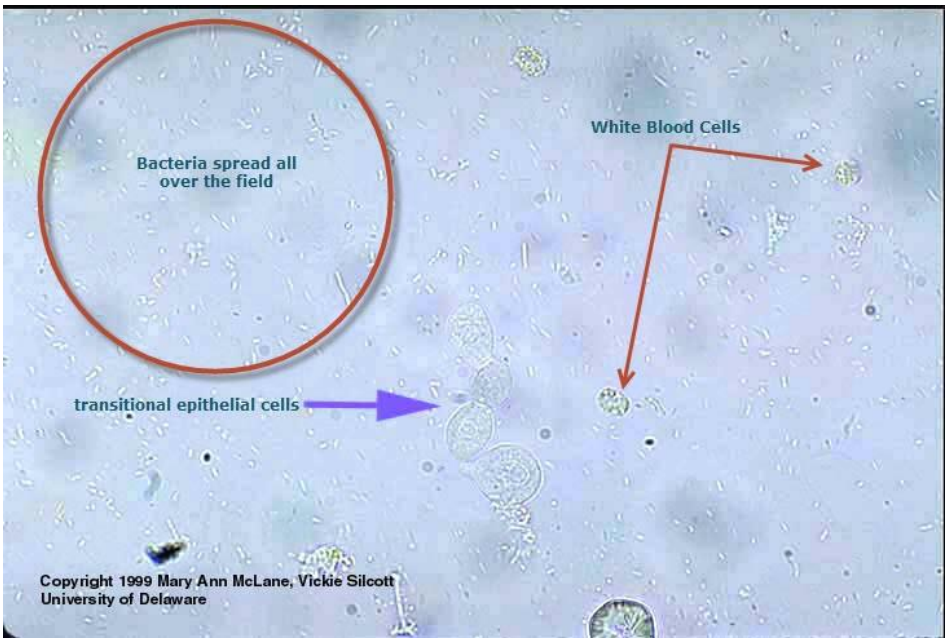
Epitelne stanice su veće od leukocita, one imaju jezgru i mogu biti granulirane. Razlikujemo, tri vrste epitelnih stanica: stanice bubrežnog epitela, stanice epitela odvodnih mokraćnih putova i stanice epitela vanjskih genitalnih organa. Stanice bubrežnog epitela su male, nešto veće od leukocita, okrugle ili poligonalne, imaju veliku jezgru i fino granuliranu protoplazmu te ih ne nalazimo često u sedimentu. Ako im je izvor bubreg mogu biti u izduženim nakupinama. Stanice odvodnih mokraćnih putova su okrugle ili vretenaste s jezgrom. Najčešće nalazimo velike pločaste stanice iz vanjskih dijelova spolnih organa, poligonalna oblika s jasno izraženom jezgrom. (*Čvorišćec, 2009*)Ukoliko postoji upala ili neki maligni proces broj epitelnih stanica raste u mokraći pa se njihovom klasifikacijom može locirati mjesto problema. Povećan broj bubrežnih stanica može biti znak nefrotičkog sindroma ili druge bubrežne bolesti, a povećan broj stanica odvodnih mokraćnih putova znak infekcije mjehura. (*www.labtestsonline.org*)



Slika 4. A)Stanica vanjskih dijelova genitalnih organa, B) stanica epitela odvodnih mokraćnih putova i C) stanica bubrežnog epitela, povećanje 400 puta, www.uoitclinicalbiochemistry.weebly.com

Klinički značaj pronalaska bakterija, gljivica i parazita

Bakterije su znak infekcije urogenitalnog trakta ako se radi o svježoj mokraći i lako se prepoznaju pod mikroskopom jer su pokretljive. Najčešća infekcija je s *E. coli* jer se ona nalazi prirodno u probavnom sustavu čovjeka. (*DiMaria i Solan, 2012*) Infekcije urogenitalnog trakta češće su u žena jer imaju kraću uretru te pokretna *E. coli* lakše ulazi u sustav. (*Robin, 2014*) Bakterije mogu biti štapićastog ili okruglog oblika, ali za potvrdnu dijagnozu potrebna je urinokultura kojom saznajemo vrstu mikroorganizma. (*Čvorišćec, 2009*) Gljivice vidimo kao nakupine ili pojedinačne tvorevine, s pupovima ili nitima, ovisno o vrsti te ih se često može zamijeniti za eritrocite. Upravo zato je potrebno iskustvo u pregledu sedimenta. Gljivice često potječu iz vaginalnog iscjetka iz kojeg se radi daljnja analiza kako bi se otkrio uzročnik gljivične infekcije. Parazite i njihova jajašca također možemo pronaći u mokraći zaražene osobe. (*www.library.med.utah.edu*)



Slika 5. Bakterije u urinu, leukocit i stanice epitela odvodnih mokraćnih putova, povećanje 400 puta, McLane i Silcott, 1999.



Slika 6. Pseudohife i pupanje gljivica, povećanje 400 puta, www.quizlet.com

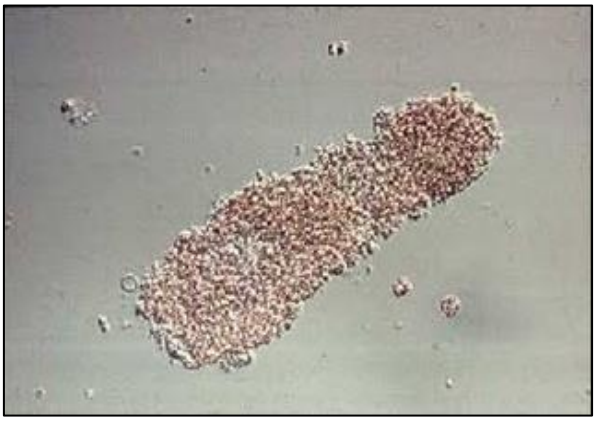
Klinički značaj pronalaska cilindara

Cilindri su zapravo odljevi sabirnih cjevčica bubrega i u zdravog čovjeka možemo naći par hijalinih cilindara, ostali tipovi znak su patološke promijene bubrega. Nastaju zadržavanjem proteinske ili hijaline mase u lumenu tubula koja se stvrdne u cilindrične tvorevine onog dijela bubrega u kojem su nastali. Odraz su stanja tubula jer ako su uski, tubuli su zdravi, ako su širi znači da su tubuli izgubili epitel što nije dobar znak. Krajevi cilindara obično su zaobljeni. Prema građi i obliku razlikujemo hijaline, stanične, fino granulirane, grubo granulirane, masne i voštane cilindre. (*Čvorišćec, 2009*)

Hijalini cilindri prozirni su i teže vidljivi, oštrih kontura i homogene strukture, mogu biti duljine vidnog polja ili kraći, a posljedica su dehidratacije, fizičke aktivnosti ili uzimanja diuretika. (*www.nlm.nih.gov*) Hijalini cilindri nastaju u lumenu tubula koagulacijom Tamm-Horsfallovog mukoproteina. (*Bardales, 2002*)Granulirani cilindri sadrže proteinska zrnca od degradiranog epitela koji se lijepi na hijalinu masu te mogu biti fino ili grubo granulirani, svijetložute do tamnosmeđe boje s tamnosmeđim izraženim granulama i nalazimo ih u raznim bolestima bubrega. Od staničnih cilindara razlikujemo epitelne, eritrocitne i leukocitne cilindre ovisno o stanicama koje se nalijepe pa se tako eritrocitni cilindri pronalaze u bolestima glomerula bubrega. Leukocitne cilindre obično pronalazimo u akutnoj upali bubrega. Stanični cilindri koji dugo ostanu u bubregu prelaze u granulirane te voštane cilindre koji su znak uznapredovale bubrežne bolesti ili zatajenja bubrega, veliki su i homogeni te jako lome svjetlost. Cilindri sa bubrežnim epitelnim stanica viđeni su kod bubrežne tubularne nekroze, virusne infekcije bubrega i odbacivanja transplantata. Masne cilindre rjeđe nalazimo u sedimentu, na svojoj površini imaju kapljice masti koje jako lome svjetlost, a razlog njihovog nastanka je masna degeneracija tubularnog epitela i komplikacija nefrotičkog sindroma. (*Čvorišćec, 2009; www.nlm.nih.gov*)



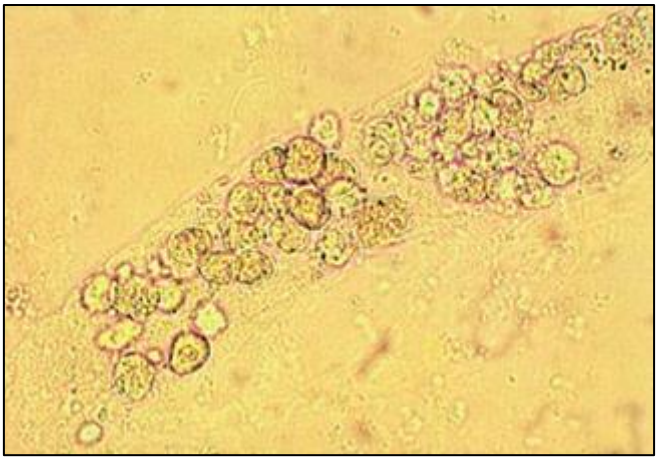
Slika 7. Hijalini cilindar, povećanje 400 puta, www.liveonearth.livejournal.com



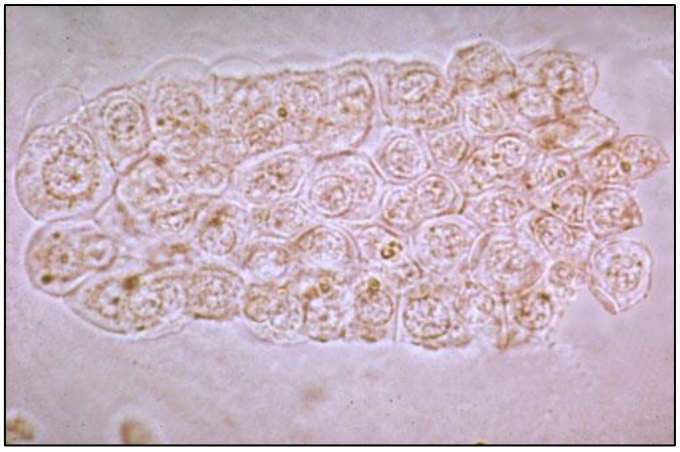
Slika 8. Granulirani cilindar, povećanje 400 puta, www.gopixpic.com



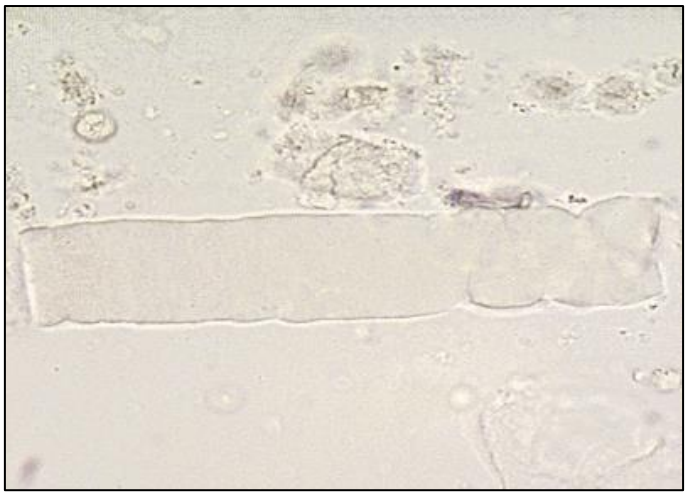
Slika 9. Eritrocitni cilindar, povećanje 400 puta, www.liveonearth.livejournal.com



Slika 10. Leukocitni cilindar, povećanje 400 puta, www.uoitclinicalbiochemistry.weebly.com



Slika 11. Stanični cilindar (bubrežne epitelne stanice), povećanje 400 puta, www.library.med.utah.edu



Slika 12. Voštani cilindar, povećanje 400 puta, www.pixshark.com



Slika 13. Masni cilindar, povećanje 400 puta, www.quizlet.com

1.3.Predanalitičke i analitičke značajke kvalitativne analize mokraće

Mokraća, iako je otpadni produkt organizma, može značajno poslužiti u interpretiranju ostalih laboratorijskih nalaza i postavljanju konačne dijagnoze pa je zbog svog neinvazivnog i jednostavnog prikupljanja te dijagnostičkog značaja česta pretraga u laboratorijima. Upravo zbog toga potrebno je stalno kontrolirati kvalitetu te analize i stalno je poboljšavati, a prostora za to ima u predanalitičkoj fazi laboratorijske analize u kojoj dolazi do značajnog utjecaja ljudskog faktora.

Analitička faza pretraga značajno je smanjila pogreške standardizacijom analitičkih tehnika, instrumenata i reagensa, a predanalitička i postanalitička faza su ranjivije i potrebno je stalno unapređivanje. Niz pogrešaka skriva se kod izbora metoda pripreme pacijenta, uzorkovanja, transporta i očuvanja integriteta uzorka prije same analize.

Predanalitika, kao važan dio nastanka kvalitetnog laboratorijskog nalaza, određuje kvalitetu uzorka jer prateći smjernice pravilnog uzorkovanja, obilježavanja, transporta i pohrane istog, daje uzorak spreman za analitički dio laboratorijske analize. Predanalitički dio laboratorijske analize mokraće ugrožava analitički jer uzorak mokraće najčešće prikupljaju pacijenti koji se ponekad zbog različitih razloga ne pridržavaju uputa za prikupljanje i transport uzoraka. Važno je i vrijeme u kojem je obavljena analiza jer stajanjem mokraća mijenja sastav (raste pH, razmnožavaju se bakterije, leukociti se raspadaju itd.) (*Čvorišćec, 2009*) Nadalje, i sama izrada mokraćnog sedimenta podložna je brojnim pogreškama, ukoliko se ne provodi na ispravan način.

Izvori pogrešaka pri izradi mokraćnog sedimenta

Ovdje ljudski faktor ne prestaje jer se urin iz čašica za prikupljanje pretače u epruvete za kemijsku analizu test trakama. Zatim, kod pregleda sedimenta važan je volumen uzorka koji se preporuča od 5-12 mL pa nije standardiziran te volumen sedimenta koji će biti pregledan. Zatim, centrifugiranjem može doći do raspada eritrocita i leukocita od 20-80% (*Delanghe i Speeckaert, 2014*), a uvjeti preporučenog centrifugiranja ne poštuju se uvijek. To su samo neki od primjera predanalitičkih pogrešaka na kojima se radi i nastoji ih se umanjiti.

Jedan od pokušaja standardiziranja volumena za kemijsku analizu i pregled mokraćnog sedimenta je uvođenje vakuumskih epruveta koje iz čašice za prikupljanje mokraće uzimaju točno određen volumen uzorka (10,5 mL) te smanjuju mogućnost kontaminacije i štite laboratorijsko osoblje od izravnog kontakta s potencijalno infektivnim uzorcima. Standardizacija volumena uzorka podigla bi kvalitetu pretrage i umanjila predanalitičku pogrešku. Međutim, postavlja se pitanje utječe li vakuum na sastavnice mokraćnog sedimenta pri uvlačenju u epruvetu te mogu li uzorci uzeti tim, sada već proširenim, načinom dati pouzdan nalaz.

2. Obrazloženje teme

Istraživanje je provedeno u KBC-u „Sestre milosrdnice“ u svrhu poboljšanja predanalitičke faze rutinske kvalitativne analize mokraće. Uvođenjem vakuumskih epruveta i pridruženih čašica za prikupljanje uzoraka mokraće nastoji se poboljšati predanalitička faza smanjenjem pogrešaka i kontaminacije, ali i zaštititi laboratorijsko osoblje od potencijalno infektivnih uzoraka. Međutim, nije dovoljno poznato kako vakuum utječe na elemente mokraće, a posebice na stanice, njihove nakupine i cilindre. Postoji mogućnost da prilikom aspiracije vakuumom, zbog razlike tlakova, dolazi do raspadanja elemenata sedimenta pa se vakuumske epruvete preporučuju samo za kemijsku analizu mokraće. (*Lippi, 2013*)

Cilj je bio ispitati postoji li utjecaj vakuuma na spomenute elemente tj. mijenja li se, i kako, sastav mokraće ako se umjesto pretakanja iz čašice u epruvetu koriste vakuumske epruvete. Svaki uzorak pristigao iz Dnevne bolnice na Zavodu za nefrologiju i dijalizu u KBC-u Sestre milosrdnice podijeljen je pretakanjem i vakuumom u epruvete za analizu i analiziran je rutinskom kvalitativnom analizom mokraće, a statističkom obradom rezultata dobiven je Kappa koeficijent. Unutar skupina u kojih je Kappa bio manji napravljen je Chi-kvadrat test.

3. Materijali i metode

Ovo prosječno istraživanje provedeno je u KBC „Sestre milosrdnice“, tijekom svibnja, lipnja i srpnja 2014. godine. Uzorci su prikupljeni u Dnevnoj bolnici na Zavodu za nefrologiju i dijalizu u KBC-u Sestre milosrdnice gdje se liječe bolesnici sa raznim bubrežnim bolestima, arterijskom hipertenzijom, kroničnim i akutnim zatajenjem bubrega i nadoknađuje im se bubrežna funkcija, educira ih se i provodi brza obrada te se time skraćuje vrijeme čekanja pretraga. (*www.kbcsm.hr*) Uzorak je prva jutarnja mokraća, a analiza je napravljena unutar 2 sata od uzorkovanja.

Za uzorkovanje su korištene čašice za prikupljanje mokraće i vakuumske epruvete VACUETTE® tvrtke Greiner Bio-One International (Kremsmünster, Austrija). Igla u otvoru čepa čašice probija čep epruvete i zbog vakuuma u epruveti, koji uvlači sadržaj čašice, dobivamo točno određen volumen uzorka koji ulazi u daljnju analizu. Zatvoreni sustav sprječava kontaminaciju i polijevanje potencijalno infektivnog uzorka i tako štiti djelatnike laboratorija te ubrzava i pojednostavljuje pretakanje iz čašica u epruvete.

3.1. Prikupljanje mokraće za ispitivanje

Pacijentima je dana sterilna čašica za prikupljanje uzoraka mokraće koja u čepu ima zatvoreni sustav za uvlačenje mokraće iz čašice u epruvetu u kojoj se izvodi daljnja analiza. Svi uzorci koji se zaprimaju prolaze kroz sve tri faze kvalitativne analize i dostavljeni su na Kliničkom zavod za kemiju unutar 2 sata od uzorkovanja. Prikupljena su 163 uzorka na kojima je napravljena analiza.

3.2. Kvalitativna analiza prikupljenih uzoraka

Svaki uzorak promiješan je te pretočen iz čašice u epruvetu i uvučen vakuum-epruvetom. Napravljena je kvalitativna analiza mokraće iz obje epruvete za svaki uzorak. Kemijska obrada uzoraka obavljena je test trakama *Combur^{10} TEST M.* Nakon centrifugiranja uzoraka, 10 min na (1500 rpm), sedimenti su ručno pregledani svjetlosnim mikroskopom. Sediment je pripremljen centrifugiranjem 5-12 mL pretočenog uzorka i 10,5 mL uzorka uzetog vakuumom. Nakon dekantiranja 1-2 kapi sedimenta iz epruveta stavljeno je na objektno stakalce i prekriveno pokrovnim stakalcem. Sediment je pažljivo pregledan ručnim mikroskopiranjem pod većim (400 puta) i manjim (100 puta) povećanjem. Broj elemenata se izražava po vidom polju, ali preporuča se izražavanje u SI jedinicama kao broj elemenata sedimenta n * 10^6/L. (Tablica 3.) Dobiveni su rezultati analize uzoraka uzetih vakuumom i bez vakuuma. (Tablica 4, poglavlje „Rezultati“)

Tablica 3. Referentni intervali elemenata sedimenta kod odraslih

Elementi sedimenta	Referentne vrijednosti (broj čestica po vidnom polju)	Referentne vrijednosti SI (x 10^6/L)
Leukociti	0-2 (povećanje 400 x)	0-10
Eritrociti	0 (povećanje 400 x)	0-10
Stanice pločastog epitela	0-1 (povećanje 400 x)	0-2
Male epitelne stanice	0-1 (povećanje 400 x)	0-2
Hijalini cilindri	0 (povećanje 100 x)	0-2
Nehijalini cilindri	0 (Povećanje 100 x)	0
Bakterije	0/neg (povećanje 400 x)	0
Gljivice	0/neg (povećanje 400 x)	0
Sluz	0/neg (povećanje 400 x)	0
Kristali	0/neg (povećanje 400 x)	0
Soli	0/neg (povećanje 400 x)	0

3.3. Obrada rezultata

Pronađeni elementi sedimenta, rezultati kemijske i organoleptičke analize statistički su obrađeni te je dobiven Kappa koeficijent. Kappa koeficijent pokazuje postoji li razlika u dvije skupine rezultata kvalitativne analize izvedene na uzorcima uzetim vakuumom i bez vakuuma. Što je kappa koeficijent veći to je slaganje između dvije skupine rezultata bolje. (Slika 14)

Value of Kappa	Level of Agreement	% of Data that are Reliable
0-.20	None	0-4%
.21-.39	Minimal	4-15%
.40-.59	Weak	15-35%
.60-.79	Moderate	35-63%
.80-.90	Strong	64-81%
Above .90	Almost Perfect	82-100%

Biochemia Medica 2012;22(3):276-82

Slika 14. Interpretacija Kappa koeficijenta, Biochemia Medica, 2012.

4. Rezultati i rasprava

Kao što je opisano u prethodnom poglavlju „Materijali i metode“ rezultati kvalitativne analize mokraće za uzorak A (vakuum) i uzorak B (bez vakuuma) statistički su obrađeni (Tablica 4.) te je dobiven koeficijent Kappa koji pokazuje slaganje između ispitivanih skupina rezultata. Ako koeficijent Kappa iznosi više od 0,90 slaganje je skoro savršeno. Za neke parametre bilo je potrebno dodatno napraviti Chi-kvadrat test čiji su rezultati također prikazani u nastavku. (Tablica 5.)

Tablica 4. Statistička obrada rezultata kvalitativne analize mokraće

Parametar	**Uzorak A (vakuum) N=163**	**Uzorak B (bez vakuuma) N=163**	**Kappa (95% CI)**
Vizualni pregled			
Boja (N, %)			
Svijetlo žut	134 (82%)	134 (82%)	1,000 (1,000-1,000)
Žut	29 (18%)	29 (18%)	
Izgled (N, %)			
Bistar	115 (71%)	115 (71%)	1,000 (1,000-1,000)
Mutan	48 (29%)	48 (29%)	
Test traka			
Relativna volumna masa (kg/L)	1,015 (1,010-1,015)	1,014 (1,010-1,015)	0,742 (0,675-0,810)
pH (pH jedinice)	6,0 (5,0-6,5)	6,0 (5,0-6,5)	0,924 (0,887-0,961)
Proteini (neg. do 3+)			
neg.	113 (69%)	114 (70%)	0,969 (0,941-0,996)
1+	16 (10%)	13 (8%)	
2+	13 (8%)	15 (9%)	
3+	21 (13%)	21 (13%)	

Glukoza (norm. do 3+)			
norm.	143 (88%)	144 (88%)	0,966 (0,918-1,000)
1+	10 (6%)	10 (6%)	
2+	7 (4%)	6 (4%)	
3+	3 (2%)	3 (2%)	
Ketoni (neg. do 3+)			
neg.	161 (99%)	160 (98%)	0,797 (0,409-1,000)
1+	2 (1%)	3 (2%)	
2+	0	0	
3+	0	0	
Urobilinogen (norm. do 3+)			
norm.	162 (99%)	162 (99%)	1,000 (1,000-1,000)
1+	1 (1%)	1 (1%)	
2+	0	0	
3+	0	0	
Bilirubin (neg. do 3+)			
neg.	162 (99%)	162 (99%)	1,000 (1,000-1,000)
1+	0	0	
2+	1 (1%)	1 (1%)	
3+	0	0	
Nitriti (neg. do 1+)			
neg.	155 (95%)	155 (95%)	1,000 (1,000-1,000)
1+	8 (5%)	8 (5%)	
Eritrociti (neg. do 3+)			
neg.	105 (64%)	108 (66%)	0,954 (0,922-0,986)
1+	20 (12%)	19 (12%)	
2+	14 (9%)	11 (7%)	

3+	24 (15%)	25 (15%)	
Leukociti (neg. do 3+)			
neg.	120 (74%)	124 (76%)	
1+	12 (7%)	10 (6%)	0,939 (0,900-0,978)
2+	8 (5%)	9 (6%)	
3+	23 (14%)	20 (12%)	
Sediment			
Eritrociti (Erc/v.p.)			
0-5	112 (69%)	116 (71%)	
6-15	25 (15%)	24 (15%)	0,870 (0,809-0,931)
16-50	15 (9%)	12 (7%)	
>50	11 (7%)	11 (7%)	
Leukociti (Lkc/v.p.)			
0-5	112 (69%)	115 (71%)	
6-15	23 (14%)	22 (14%)	0,881 (0,824-0,938)
16-50	12 (7%)	10 (6%)	
>50	16 (10%)	16 (10%)	
Leukociti u nakupinama (nakupina /v.p.)			
0	129 (79%)	128 (79%)	
1	23 (14%)	21 (13%)	0,663 (0,545-0,782)
2	3 (2%)	10 (6%)	
> 2	8 (5%)	4 (3%)	
Pločasti epitel (st. / v.p.)			
0-1	59 (37%)	62 (38%)	
2-5	72 (44%)	68 (43%)	0,635 (0,545-0,725)
6-10	15 (9%)	19 (12%)	

> 10	17 (10%)	14 (9%)	
Male epitelne stanice (st. / v.p.)			
0-1	138 (85%)	134 (82%)	0,601 (0,434-0,767)
>1	25 (15%	29 (18%)	
Hijalini cilindri (cil. / v.p.)			
0	130 (80%)	128 (78%)	0,844 (0,752-0,936)
1-5	27 (16%)	27 (16%)	
6-10	1 (1%)	3 (2%)	
>10	5 (3%)	5 (3%)	
Nehijalini cilindri (cil. / v.p.)			
0	130 (80%)	127 (78%)	0,851 (0,758-0,944)
1-5	29 (18%)	31 (19%)	
6-10	2 (1%)	3 (2%)	
>10	2 (1%)	2 (1%)	
Bakterije (neg. do 3+)			
neg.	83 (51%)	83 (51%)	1,000 (1,000-1,000)
1+	36 (22%)	36 (22%)	
2+	20 (12%)	20 (12%)	
3+	24 (15%)	24 (15%)	
Kristali			
Ništa	50 (31%)	49 (30%)	0,988 (0,965-1,000)
Nešto, malo	105 (64%)	106 (65%)	
Dosta	8 (5%)	8 (5%)	
Sluz (neg. do 3+)			
neg.	68 (42%)	70 (43%)	0,970 (0,941-0,999)
1+	67 (41%)	66 (41%)	

2+	25 (15%)	23 (14%)	
3+	3 (2%)	4 (3%)	
Gljivice (neg. do 3+)			
neg.	156 (96%)	156 (96%)	1,000 (1,000-1,000)
1+	5 (3%)	5 (3%)	
2+	2 (1%)	2 (1%)	
3+	0	0	

Tablica 5. Rezultati statističke obrade Chi-kvadrat testom

Parametar	P
Eritrociti	0,935
Leukociti	0,970
Nakupine leukocita	0,158
Pločasti epitel	0,8135
Male epitelne stanice	0,8135
Hijalini cilindri	0,7975
Nehijalini cilindri	0,7531

Možemo zapaziti da je koeficijent manji od 0,90 kod nekih parametara sedimenta, a to znači veću razliku između skupina. Eritrociti, leukociti i nakupine leukocita, zatim pločasti epitel, male epitelne stanice i cilindri po tom kriteriju razlikuju se u epruveti uzetoj s vakuumom i onoj bez vakuuma. Međutim, napravljena je dodatna statistička analiza Chi-kvadrat testom kako bi se vidjelo postoji li statistički značajna razlika između kategorija. (Tablica 5.) Chi-kvadrat test pokazao je da ne postoji statistički značajna razlika (P≥0,05) niti u jednoj od skupina rezultata kod kojih je Kappa koeficijent bio manji od 0,90.

Neslaganje ovih parametara možemo pripisati nereproducibilnosti promatrača koji je promatrao sediment te je neslaganje očekivano veće kod onih parametara koji se rjeđe pronalaze u sedimentu. Reproducibilnost automatskih metoda pregleda sedimenta je veća nego kod ručnog mikroskopiranja. (*Delanghe i Speeckaert, 2014*)

Ketoni u mokraći imaju Kappa koeficijent koji bi uputio na razliku, ali je broj uzoraka s pozitivnim ketonima premalen da bi se rezultati mogli usporediti.

Ostali parametri koji su ispitani pokazuju skoro savršeno ili savršeno slaganje što je i očekivano za parametre kemijske i organoleptičke analize kao i za bakterije, gljivice, sluz i kristale.

Neke studije pokazale su da vakuumske epruvete značajno smanjuju hijaline i stanične cilindre u usporedbi s običnim epruvetama. Uočeno je da se stanični cilindri raspadaju i oslobađaju stanice od kojih su građeni pa se zato povećava broj eritrocita (povećanje >25%) i leukocita u sedimentu. Kod uzoraka sa sniženom osmolalnošću liza eritrocita bila je također povećana ako je uzorak uzet vakuumom. (*Delanghe i Speeckaert, 2014*)

Ovo istraživanje pokazalo je da nema statistički značajne razlike i nije se složilo s nekim prethodnim istraživanjima koja tvrde da vakuum treba izbjegavati za pregled sedimenta. Dakle, vakuumske epruvete nisu oštetile dijagnostički važne elemente sedimenta čija prisutnost otkriva stupanj oštećenja bubrega. Istraživanja na većem broju uzoraka uvijek su dobrodošla kako bi se dodatno istražilo ovo područje predanalitike i tome treba težiti jer je na tom području potrebno stalno uklanjati pogreške.

5. Zaključci

- Iako je koeficijent Kapa kod eritrocita, leukocita, nakupina leukocita, zatim pločastih stanica, malih epitelnih stanica te hijalinih i nehijalinih cilindara na prvi pogled uputio na neslaganje rezultata, Chi-kvadrat test pokazao je da nema statistički značajne razlike između skupina pa možemo zaključiti za je uzimanje uzorka vakuumom jednako dobro kao i bez vakuuma.

- Nema razlike kod gljivica, bakterija, kristala i soli kod pregleda sedimenta ako je uzorak uzet vakuumom ili bez njega.

- Nema razlike kod organoleptičke i kemijske analize mokraće ako je uzorak uzet vakuumom ili bez njega.

- Epruvete s vakuumom su dobre jer održavaju integritet uzorka, a k tome i doprinose sigurnosti osoblja jer umanjuju rizik od kontaminacije uzorka i kontakta laboratorijskog osoblja s potencijalno infektivnim uzorkom.

6. Literatura

1. Bardales RH. Nonurothelial elements present in urine. U: Practical Urologic Cytopathology, New York, Oxford University Press, 2002, str. 11-38.
2. Čvorišćec D, Štraus B. Funkcija bubrega. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čepelak I, urednice, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 472-503.
3. Čepelak I, Štraus B. Uvodni dio. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čepelak I, urednice, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 3-17.
4. Delanghe J, Speeckaert M. Preanalytical requirements of urinalysis. *Biochem Medica*, 2014, 24 , 89-104.
5. DiMaria C, Solan M. Pyelonephritis, 2012., http://www.healthline.com, pristupljeno 25.11.2014.
6. Ellis ME. What causes blood in urine? 47 possible conditions, 2012., http://www.healthline.com, pristupljeno 23.11.2014.
7. Urine specific gravity test, 2013., http://www.nlm.nih.gov, pristupljeno 23.11.2014.
8. Goljan EF. Rapid Review Pathology, 3. izdanje, 2010, str. 360-361.
9. Guyton AC, Hall JE. Stvaranje mokraće u bubrezima. U: Madicinska fiziologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2003, 279-312.
10. Urinalysis: Three Types of Examinations, http://labtestsonline.org, pristupljeno 23.11.2014.
11. Eritrociti u urinu, http://limeta.net.hr, pristupljeno 21.11.2014.
12. Infekcije mokraćnog sustava, http://www.plivazdravlje.hr, pristupljeno 23.11.2014.
13. Urinalysis, http://library.med.utah.edu, pristupljeno 23.11.2014.
14. Ketones urine test, http://www.nlm.nih.gov, 2013, pristupljeno 23.11.2014.
15. Ketonuria, http://en.wikipedia.org, pristupljeno 23.11.2014.
16. Bilirubinuria, http://www.patient.co.uk, pristupljeno 23.11.2014.
17. http://quizlet.com, pristupljeno 27.11.2014.
18. http://www.images.1233.tw, pristupljeno 27.11.2014.
19. http://www.studydroid.com, pristupljeno 27.11.2014.
20. http://www.images.1233.tw, pristupljeno 27.11.2014.
21. Microscopic urinalysis, http://uoitclinicalbiochemistry.weebly.com, pristupljeno 28.11.2014.
22. Urinalysis notes, 2010, http://liveonearth.livejournal.com, pristupljeno 28.11.2014.
23. http://www.gopixpic.com, pristupljeno 28.11.2014.
24. http://www.pixshark.com, pristupljeno 28.11.2014.
25. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije, 2004, http://hkmb.hr, pristupljeno 2.12.2014.

26. http://kbcsm.hr, pristupljeno 29.11.2014.
27. Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D, Bowen RA, Church S, Delanghe J, Grankvist K, Kitchen S, Nybo M, Nauck M, Nikolac N, Palicka V, Plebani M, Sandberg S, Simundic AM. Preanalytical quality improvement: in quality we trust. *Clin Chem Lab Med*, 2013, 51, 229-241.
28. Povjerenstvo za stručna pitanja, 2005., http://www.hkmb.hr, pristupljeno 28.11.2014.
29. Ma J, Wang C, Yue J, Li M, Zhang H, Ma X, Li X, Xue D, Qing X, Wang S, Xiang D, Cong Y. Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. *Clin Lab*, 2013, 59, 1297-303.
30. Martel J. Protein Urine Test, 2012., http://www.healthline.com, pristupljeno 23.11.2014.
31. McHugh ML. Interrater reliability: the Kappa statistic, Biochem Medica, 2012, 22, 276-82.
32. McLane MA i Silcott V. 1999., http://www.medical-labs.net, pristupljeno 27.11.2014.
33. Nall R. Urine pH Level Test, 2012., http://www.healthline.com, pristupljeno 23.11.2014.
34. Pollak J, Sypniewska G. Mikroalbuminurija i rizik od srčano žilnih bolesti u bolesnika s šećernom bolesti i hipertenzijom. *Biochem Medica*, 2008, 18, 25-34.
35. Priručnik za vježbe iz kolegija „Opća klinička biokemija II“, www.fbf.hr, pristupljeno 23.11.2014.
36. Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. Urinalysis: A Comprehensive Review. *Am Fam Physician*, 2005, 71, 1153-1162.

7. Sažetak

Uvod

Mokraća je sterilan, otpadni produkt organizma kojim se izlučuju otpadne i štetne tvari metabolizma te suvišna tekućina, ali vrlo je važna za dijagnostiku niza bolesti. Kvalitativna analiza mokraće važna je rutinska analiza koja obuhvaća organoleptičku i kemijsku analizu te pregled mokraćnog sedimenta u potrazi za dijagnostički važnim elementima. U novije vrijeme u upotrebi su epruvete s vakuumom koje omogućuju prikupljanje mokraće točno određenog volumena uzorka (10,5 mL) te smanjuju mogućnost kontaminacije i štite laboratorijsko osoblje od izravnog kontakta s potencijalno infektivnim uzorcima. No, neka istraživanja ukazala su na moguć štetan utjecaj tih epruveta na kvalitetu mokraće i elemenata mokraćnog sedimenta. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati mijenja li se, i kako, sastav mokraće ako se umjesto pretakanja iz čašice u epruvetu koriste vakuumske epruvete.

Materijali i metode

Istraživanjem, koje je napravljeno u KBC-u „Sestre milosrdnice“ na Kliničkom zavodu za kemiju, analizirano je 163 uzorka prve jutarnje mokraće pristiglih iz Dnevne bolnice na Zavodu za nefrologiju i dijalizu. Za uzorkovanje su korištene čašice za prikupljanje mokraće i vakuumske epruvete VACUETTE® tvrtke Greiner Bio-One International (Kremsmünster, Austrija). Svaki uzorak promiješan je te pretočen iz čašice u epruvetu i uvučen vakuum-epruvetom. Kemijska analiza napravljena je test trakama Combur10 TEST M, a za pregled sedimenta uzorci su centrifugirani 10 min na 1500 rpm te je sediment pregledan svjetlosnim mikroskopom. Rezultati rutinske analize mokraće statistički su obrađeni, izračunom Kappa koeficijenta i Chi-kvadrat testom.

Rezultati

Nije bilo razlike između uzoraka uzetih vakuumom i onih uzetih bez vakuuma. Kappa koeficijent bio je veći od 0,90 kod većine parametara, a kod onih parametara koji su pokazali slabije slaganje među skupinama napravljen je Chi-kvadrat test i potvrđeno je da nema statistički značajne razlike.

Zaključak

Temeljem naših rezultata zaključujemo da vakuum ne razara elemente sedimenta ili mijenja sastav uzorka i može se koristiti u rutini. Upotrebom vakuumskih epruveta standardiziran je volumen (10,5 mL) koji ulazi u analizu za pregled sedimenta i osoblju koje rukuje uzorkom pojednostavljeno je uzorkovanje te je zaštićeno od potencijalno infektivnih uzoraka.

Summary

Introduction

Urine is sterile, waste product of the body that is used to secrete waste and metabolic endproducts and liquid excess, but it is very important for the diagnosis of many diseases. Qualitative analysis of urine is an important routine analysis which includes the organoleptic and chemical analysis and examination of the urinary sediment in search of diagnostic important elements. Vacuum tubes have been recently implemented into the routine practice. Their use enable the collection of urine sample of the specific volume (10.5 ml), reduces the contamination risk and protects laboratory staff from direct contact with potentially infectious samples. However, some studies have indicated the potential negative impact of these tubes on the quality of urine sample and urinary sediment elements. The aim of this study was to investigate whether the composition of urine changes if instead of pouring out of the cup in a test tube we use vacuum tubes.

Materials and methods

This study was done in Clinical Institute of Chemistry at the University Hospital Center "SESTRE MILOSRDNICE". We have analyzed a series of first morning urine samples (N=163) received from Daily hospital of the Clinical Institute of Nephrology and Dialysis. For sampling were used urine collection cups and vacuum tube VACUETTE® of Greiner Bio-One International (Kremsmünster, Austria). Each sample was mixed and poured out of the cup in a test tube and drawn by vacuum tube. Chemical analysis was performed using the test strip Combur10 TEST M and for the sediment samples were centrifuged 10 min at 1500 rpm. Sediment was observed by light microscopy. Results of routine urinalysis were statistically analyzed, calculating the Kappa coefficient and Chi-square test.

Results

There was no difference between samples taken with vacuum and those taken without vacuum. Kappa coefficient was higher than 0.90 for most parameters. For those parameters that showed less agreement among the groups. Chi-square test was made and it was confirmed that there was no statistically significant difference.

Conclusion

Based on our results, we conclude that the vacuum does not impair the elements of sediment or change the composition of the sample and can be used in routine. The use of vacuum tubes standardizes volume (10,5 ml) that enters the analysis of the sediment. Sampling is simplified and medical staff is protected from potentially infectious samples.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za Medicinsku biokemiju i hematologiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

UTJECAJ VAKUUMA NA ELEMENTE MOKRAĆNOG SEDIMENTA

Iva Štimac

SAŽETAK

Mokraća je otpadni produkt organizma, ali vrlo je važna za dijagnostiku niza bolesti. Kvalitativna analiza obuhvaća organoleptičku i kemijsku analizu te pregled mokraćnog sedimenta. U novije vrijeme u upotrebi su epruvete s vakuumom. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati mijenja li se, i kako, sastav mokraće ako se umjesto pretakanja iz čašice u epruvetu koriste vakuumske epruvete. Istraživanjem, koje je napravljeno u KBC-u „Sestre milosrdnice“ na Kliničkom zavodu za kemiju, analizirano je 163 uzorka prve jutarnje mokraće pristiglih iz Dnevne bolnice na Zavodu za nefrologiju i dijalizu. Za uzorkovanje su korištene čašice za prikupljanje mokraće i vakuumske epruvete VACUETTE® tvrtke Greiner Bio-One International (Kremsmünster, Austrija). Svaki uzorak promiješan je te pretočen iz čašice u epruvetu i uvučen vakuum-epruvetom. Kemijska analiza napravljena je test trakama Combur10 TEST M, a za pregled sedimenta uzorci su centrifugirani 10 min na 1500 rpm te je sediment pregledan svjetlosnim mikroskopom. Izračunom Kappa koeficijenta i Chi-kvadrat testom potvrdili smo da nije bilo razlike između uzoraka uzetih vakuumom i onih uzetih bez vakuuma. Temeljem naših rezultata zaključujemo da vakuum ne razara elemente sedimenta i može se koristiti u rutini. Upotrebom vakuumskih epruveta standardiziran je volumen (10,5 mL) koji ulazi u analizu za pregled sedimenta i osoblju koje rukuje uzorkom pojednostavljeno je uzorkovanje te je zaštićeno od potencijalno infektivnih uzoraka. Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 31 stranicu, 14 grafičkih prikaza, 5 tablica i 36 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: vakuum, mokraćni sediment

Mentor: **Dr. sc. Ana-Maria Šimundić**, *nasl. izv. prof. Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Olga Gornik**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Rad prihvaćen: ožujak 2015.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Medical Biochemistry and Hematology
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

IMPACT OF VACUUM ON ELEMENTS OF URINE SEDIMENT

Iva Štimac

SUMMARY

Urine is waste product of the body but it is very important for the diagnosis of many diseases. Qualitative analysis of urine includes the organoleptic and chemical analysis and examination of the urinary sediment. Vacuum tubes have been recently implemented into the routine practice. The aim of this study was to investigate whether the composition of urine changes if instead of pouring out of the cup in a test tube we use vacuum tubes. This study was done in Clinical Institute of Chemistry at the University Hospital Center "SESTRE MILOSRDNICE". We have analyzed a series of first morning urine samples (N=163) received from Daily hospital of the Clinical Institute of Nephrology and Dialysis. For sampling were used urine collection cups and vacuum tube VACUETTE® of Greiner Bio-One International (Kremsmünster, Austria). Each sample was mixed and poured out of the cup in a test tube and drawn by vacuum tube. Chemical analysis was performed using the test strip Combur10 TEST M and for the sediment samples were centrifuged 10 min at 1500 rpm. Sediment was observed by light microscopy. Results of routine urinalysis were statistically analyzed, calculating the Kappa coefficient and Chi-square test. There was no statistically significant difference between samples. Based on our results, we conclude that the vacuum does not impair the elements of sediment or change the composition of the sample and can be used in routine. The use of vacuum tubes standardizes volume (10,5 ml) that enters the analysis of the sediment. Sampling is simplified and medical staff is protected from potentially infectious samples. The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 31 pages, 14 figures, 5 tables and 36 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Vacuum, urine sediment

Mentor: **Dr. sc. Ana-Maria Šimundić**, *Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

Reviewers: **Dr. sc. Olga Gornik**, *Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta, *Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

The thisis was accepted: March 2015.