



Slovensko združenje  
za klinično kemijo  
in laboratorijsko  
medicino

# PRIPOROČENI POSTOPKI ZA OSNOVNO ANALIZO URINA

**5**  
II. izdaja  
**2021**

Klementina Berce  
Alenka Grošel  
Alenka Trampuš Bakija

Ta priporočila izdaja in priporoča Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (SZKKLM). Priporočila so v skladu s predpisi Republike Slovenije, priporočili Mednarodnega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (IFCC – International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) in Evropskega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (EFLM – European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

**Uredniški odbor:** Saša Bratož (predsednica)  
Pika Meško Brguljan  
Evgenija Homšak

## PRIPOROČENI POSTOPKI ZA OSNOVNO ANALIZO URINA

**Pripravili:** Klementina Berce, Alenka Grošel, Alenka Trampuš Baki

**Zbirka:** Priporočeni postopki, številka 5, II. izdaja

**Izdalo:** Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (SZKKLM)

**Recenzent:** Mojca Završnik, Andrej Škoberne

**Lektorica:** Janja Korošec

**Tisk:** Demago d. o. o.

**Naklada:** 500

Predstavitev priporočenih postopkov za delo v klinično kemijskih laboratorijih Republike Slovenije ima namen, da se z obvezno uporabo le-teh doseže visoka stopnja kakovosti dela, upoštevajoč sistematizacijo dela, pribora in prostorov.

Priporočila je pregledal in odobril Razširjeni strokovni kolegij za laboratorijsko medicino – medicinsko biokemijo pri Ministrstvu za zdravje Republike Slovenije in se uporablja za delo v vseh medicinskih laboratorijih ter pri ostalih izvajalcih laboratorijske medicine.

Ljubljana, 28.12.2021

# **PRIPOROČENI POSTOPKI ZA OSNOVNO ANALIZO URINA**

mag. Klementina Berce, spec. med. biokem.  
dr. Alenka Grošel, spec. med. biokem.  
doc. dr. Alenka Trampuš Bakija, spec. med. biokem.

## *Spremna beseda recenzentov*

*Spoštovane kolegice, spoštovani kolegi,*

*pred vami je nova izdaja Priporočenih postopkov za osnovno analizo urina. Na njo smo vsi, ki smo kakorkoli aktivno udeleženi pri analizi urinskih vzorcev, nestrpno čakali.*

*Prenovljeni Priporočeni postopki za osnovno analizo urina bodo predvsem odličen učni pripomoček tistim, ki se z osnovno analizo urinskih vzorcev spopadajo prvič, kot tudi mentorjem, ki bi svojim mentorirancem radi ponudili kvalitetno literaturo tudi v slovenskem jeziku. Nedvomno ima izdaja nove verzije*

*pomembno vlogo pri poenotenju izvidov osnovne analize urina na vseh ravneh zdravstvene dejavnosti v Sloveniji.*

*S tem bo zagotovljena standardizacija vrednotenja rezultatov, kar je izrednega pomena za kakovostno obravnavo bolnikov.*

*Delovni skupini, ki se je spopadla z odgovorno nalogo prenovitve starih Priporočenih postopkov, izrekam vso pohvalo za potrpežljivost in vloženo delo, ki so jo njeni člani opravili, da je nova verzija lahko ugledala luč sveta.*

*Želim vam veliko uspeha pri analizi urinskih vzorcev.*

*Mojca Završnik, spec. med. biokem., EuSpLM*

*Spoštovani bralka, spoštovani bralec.*

*V rokah držite aktualne Priporočene postopke za osnovno analizo urina. Avtorice so opravile veliko delo. Priporočeni postopki so temeljito in skrbno obnovljeni. Ponovnemu premisleku in osvežitvi ni ušlo nobeno poglavje tega pomembnega besedila. Nekatere stvari ostajajo enake, v nekaterih delih pa so potrebne spremembe in napredek. Kot nefrolog se še predobro zavedam, kako velikega pomena je preiskava urina pri vseh bolnikih s sumom na bolezen ledvic oziroma bolezen sečil. Brez kakovostno in*

*pravilno izvedene preiskave urina ne moremo izvajati kakovostne nefrologije, kakovostne urologije. Preiskava urina je seveda popolnoma nenadomestljiva tudi v primarnem zdravstvu, v družinski medicini in pediatriji, kjer so bolniki z boleznijo ledvic oziroma sečil praviloma prvičkrat prepoznani. Ravno pravočasna, zgodnja in pravilna prepoznavna bolnikov je temelj kakovostnega zdravstva in najboljši obet za naše bolnike, zato potrebujemo kakovostno izvedeno osnovno preiskavo urina v vseh segmentih*

zdravstva, ne samo v sekundarnih ali terciarnih bolnišnicah, temveč tudi v zdravstvenih domovih po vsej Sloveniji. V Priporočenih postopkih je jasno opredeljeno, katere in na kakšen način izvedene preiskave morajo biti na voljo v primarnem zdravstvu, katere pa tudi v bolnišnicah. Predstavljena so tudi priporočila, kako naj se poroča o najdbah pri pregledu urinskega sedimenta. Velik napredek v Sloveniji bi pomenilo poenotenje poročanja o sedimentu urina, zato pozivamo vse laboratorije, da uskladijo svoje načine poročanja z aktualnimi priporočili. Pomemben napredek moramo doseči tudi pri določanju proteinurije. Osnovna preiskava urina je ena zadnjih temeljnih laboratorijskih preiskav, pri kateri določamo analite kvalitativno, s testnim lističem. Meritev proteinurije samo in izključno s testnim lističem ni več sprejemljiv pristop z vidika klinika, saj testni listič po eni strani prepozna samo albumin v urinu, po drugi strani pa poda le kvalitativno oceno velikosti proteinurije, pa še ta je močno pogojena s koncentriranostjo urina. Zaradi navedenega moramo težiti k bolj natančnemu določanju proteinurije, ki ostaja zelo pomemben kazalec prisotnosti in aktivnosti ledvične bolezni. Meritev pro-

teinurije v gramih na dan v zbranem 24-urnem urinu še vedno predstavlja zlati standard kvantifikacije proteinurije. Nadomestilo tovrstnega pristopa je ocena dnevne proteinurije iz enkratnega vzorca urina, praviloma iz vzorca drugega jutranjega urina, s pomočjo formule. Ta pristop ima pomembne slabosti, saj v določenih situacijah, predvsem pri visoki proteinuriji, precej napačno oceni dejansko proteinurijo, je pa nedvomno bolj natančen način določitve proteinurije, kot zgolj meritev s testnim lističem.

Spoštovane kolegice in kolegi laboratorijske medicine in klinične kemije. Dovolite mi, da se vam na koncu zahvalim za vaše dosedanje natančno in potrpežljivo delo. Pravilno izvedene in s sodobnostjo usklajene laboratorijske preiskave so za klinika osnovno orodje pri obravnavi vseh bolnikov, tudi bolnikov z boleznimi sečil. Verjamemo, da bo preiskava urina ohranila svoje temeljno mesto pri obravnavi teh bolnikov, napredek k bolj natančnim meritvam ključnih elementov urina ter usklajenost pri poročanju o rezultatih izvida urina pa bosta še izboljšala kakovost obravnave bolnikov v Sloveniji.

asist. dr. Andrej Škoberne, dr. med.  
Klinični oddelek za nefrologijo  
Univerzitetni klinični center Ljubljana  
Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

## KAZALO

<b>1. UVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2. PRIPRAVA PREISKOVANCEV IN URINSKIH VZORCEV ZA ANALIZO</b> .....	<b>9</b>
<b>3. OSNOVNE URINSKE PREISKAVE</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1. Organoleptične in fizikalne preiskave urina</b> .....	<b>10</b>
3.1.1. Organoleptične preiskave urina .....	10
3.1.2. Fizikalne preiskave urina .....	10
<b>3.2. Kvalitativne kemijske preiskave urina</b> .....	<b>12</b>
3.2.1. Proteini (albumini) v urinu .....	13
3.2.2. Glukoza v urinu .....	14
3.2.3. Ketonske spojine v urinu .....	14
3.2.4. Žolčna barvila v urinu .....	15
3.2.5. Nitriti (bakterije) v urinu .....	16
3.2.6. Levkociti v urinu .....	16
3.2.7. Kri v urinu .....	17
3.2.8. pH urina .....	18
3.2.9. $\beta$ -humani horionski gonadotropin .....	18
<b>3.3. Podajanje rezultatov testnih trakov</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4. Orientacijske referenčne vrednosti osnovne kemijske in fizikalne analize urina</b> .....	<b>20</b>
<b>3.5. Moteči vplivi na določanje posameznih analitov</b> .....	<b>20</b>
3.5.1. Askorbinska kislina v urinu .....	23
<b>3.6. Mikroskopska analiza urina</b> .....	<b>23</b>
3.6.1. Mikroskopski pregled sedimenta .....	23
<b>3.7. Prepoznavanje in navajanje rezultatov pregleda urinskega sedimenta</b> .....	<b>33</b>
<b>3.8. Referenčne vrednosti</b> .....	<b>35</b>

<b>4. DOLOČANJE ŠTEVILČNE KONCENTRACIJE ERITROCITOV IN LEVKOCITOV V NATIVNEM URINU</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1. Avtomatizirani sistemi</b> .....	<b>36</b>
<b>4.2. Določanje številčne koncentracije eritrocitov in levkocitov v nativnem urinu po Stansfeld – Webbu (SW)</b> .....	<b>37</b>
<b>5. KVANTITATIVNE ANALIZE PRI PROTEINURIJI</b> .....	<b>38</b>
<b>5.1. Ocena dnevne proteinurije (oDP)</b> .....	<b>38</b>
<b>6. KVALITATIVNA MIKROBIOLOŠKA ANALIZA URINA</b> .....	<b>39</b>
<b>7. ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI OSNOVNE ANALIZE</b> .....	<b>40</b>
<b>8. LITERATURA</b> .....	<b>41</b>

## 1. UVOD

Urin je ultrafiltrat plazme, ki ga tvorijo ledvice. Osnovna funkcija ledvic je odstranjevanje presnovnih produktov (predvsem dušikovih spojin, odvečne količine vode, soli, toksinov) in zadrževanje oziroma reabsorpcija organizmu potrebnih snovi (krvnih proteinov, glukoze, aminokislin, elektrolitov).

Kri se ultrafiltrira v glomerulih, nastane primarni urin, ki se koncentrira v tubulih (99 % vode se reabsorbira, izmenjajo se nekateri ioni, izloči se amonijak) in kot sekundarni urin prehaja v mehur.

Urin je biološka snov, ki je lahko dober kazalec presnovnih procesov ter vodnega, elektrolitskega in kislinsko-bazičnega ravnotežja v organizmu. Tudi motnje v delovanju ledvic in sečnih poti se pogosto kažejo v spremenjenem videzu, kemični sestavi in mikrobiološki vsebnosti urina. Prav zaradi tega in ker je vzorec lahko dosegljiv v velikih količinah, je urin najprimernejša biološka snov za odkrivanje motenj v delovanju ledvic in sečnih poti ter za kasnejše spremljanje uspešnosti zdravljenja. Osnovna urinska analiza (skupina kvalitativnih in kvantitativnih preiskav) je pomembna na vseh nivojih zdravstvene oskrbe. Standardizacija postopkov je temeljna za odpravljanje morebitnih napak v vsakdanji laboratorijski praksi, za uporabo usklajenih referenčnih intervalov, usklajene razlage rezultatov in poenoteno obravnavo kliničnih stanj.

Glede na obseg in zahtevnost izvedbe zdravstvenih storitev lahko za laboratorije v zdravstveni dejavnosti opredelimo minimalni obseg preiskav.

1. **Nivo 1:** zdravstveni dom, postaja; zasebna zdravstvena ordinacija s koncesijo, ki izvaja preiskave s področja medicinske biokemije ob preiskovancu
  - kvalitativna osnovna urinska analiza in pregled urinskega sedimenta se izvajata rutinsko;
  - osnovna urinska analiza se izvaja s testnim trakom kot laboratorijska preiskava ob preiskovancu (POCT – Point of Care Testing).



## 2. **Nivo 2:** bolnišnica

- poleg preiskav osnovne urinske analize in pregleda sedimenta se izvaja še kvantitativna določitev posameznih analitov v urinu.

## 3. **Nivo 3:** specializirana ustanova (klinični center, inštitut)

- izvaja preiskave z nivoja 2 in druge specialne preiskave.

Ob vsaki preiskavi navajamo, za kateri nivo je priporočena.

## 2. PRIPRAVA PREISKOVANCEV IN URINSKIH VZORCEV ZA ANALIZO

Preiskovancu moramo pred odvzemom urina povedati, zakaj je treba odvzeti urin in mu dati ustna ter/ali pisna navodila o postopku za odvzem. Predanalizni in biološki (*in vivo*) dejavniki (izločanje urina, prehranjevanje in stradanje, telesni napor in počitek, inkubacijski čas v mehurju in okužba) lahko značilno vplivajo na izide laboratorijskih analiz.

Najboljši urinski vzorec je svež in zadostno koncentriran, da lahko zaznamo diagnostično pomembne analite in formirane elemente. Čas od odvzema vzorca do analize je lahko največ dve uri.

Ker se urin preko dneva precej spreminja (npr. prvi jutranji urin je praviloma najbolj koncentriran, naslednji vzorci pa so precej bolj razredčeni), je zelo pomembno, da vemo, kateri vzorec urina preiskujemo ter katerega priporočamo za analizo.

Tako pri ambulantnih preiskovancih kot tudi hospitaliziranih bolnikih priporočamo analizo drugega jutranjega urina, ki je najbolj primeren za večino rutinskih analiz. V Sloveniji je po zgledu razvitih dežel izdan priporočeni postopek za odvzem, zbiranje, hranjenje, stabiliziranje in dostavljanje urina.

### 3. OSNOVNE URINSKE PREISKAVE

Osnovne (rutinske) analize urina so hitre, preproste, zanesljive in poceni. Te najštevilčnejše preiskave so temelj laboratorijske diagnostike za odkrivanje bolezni ledvic in sečnih poti ter spremljanje uspešnosti zdravljenja.

Osnovna analiza urina je sestavljena iz:

- organoleptičnih in fizikalnih preiskav,
- kvalitativnih in kvantitativnih kemijskih preiskav,
- mikroskopske kvalitativne (pregled sedimenta) in kvantitativne (določanje številčne koncentracije celic) analize urina.

#### 3.1. Organoleptične in fizikalne preiskave urina

##### 3.1.1. Organoleptične preiskave urina

Barve, vonja in bistrosti urina ne opisujemo, nas pa te lastnosti opozarjajo na nekatera bolezenska stanja.

Urin zdravega človeka je običajno jantarno rumene barve zaradi pigmenta urokrom. Na barvo in vonj vplivajo prehrana, nekatera zdravila in bolezenska stanja (krvavitve, žolčna barvila, melanin).

Ima značilen vonj po goveji juhi zaradi hlapne kisline v urinu. Starejši vzorci urina imajo lahko vonj po amonijaku zaradi razgrajene sečnine.

Urin je običajno bister. Moten lahko postane zaradi obarjanja amorfnih kristalov ali sluzi, zaradi povečanja števila bakterij, kar je lahko odraz nepravilno hranjenega vzorca, prevelikega časovnega razmika med odvzemom in analizo ali pa okužbe sečil. Motnost urina povzročajo tudi levkociti, eritrociti in različni paraziti.

##### 3.1.2. Fizikalne preiskave urina

Mednje uvrščamo določanje koncentriranosti urina z merjenjem relativne gostote (specifične teže), merjenje znižanja zmrzišča ali osmolnosti in merjenje prevodnosti. Slednji preiskavi ne sodita v osnovno urinsko analizo.

### 3.1.2.1. Relativna gostota (specifična teža) urina

Izrazimo jo kot gostoto in je odvisna od količine topljencev v določeni volumski enoti, pri čemer je gostota vode 1,000. Relativna gostota urina se pri zdravih ljudeh giblje med 1,005 in 1,040.

Klinično nam relativna gostota predstavlja oceno koncentracije urina v ledvicah, ki je lahko povezana tudi s hidracijo preiskovanca.

Relativno gostoto urina določamo posredno s testnim trakom ali refraktometrom.

- Določanje s testnim trakom (gl. 3.2. Kvalitativne kemijske preiskave) temelji na merjenju spremembe pH; rezultat odraža le oceno koncentracije urina. Pri pacientih s povečanim vnosom proteinov je treba izmeriti osmolalnost urina.
- Določanje z refraktometrom (sestavni del nekaterih urinskih analizatorjev) temelji na merjenju loma svetlobe (indeks refrakcije) na meji urina z zrakom.

Oba postopka za določanje relativne gostote dajeta primerljive rezultate ob upoštevanju navodil proizvajalca.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.1.2.2. Osmolalnost

Osmolalnost ali znižanje zmrzišča izraža število osmotsko aktivnih spojin (disociiranih in nedisociiranih) in je običajno soodvisna z relativno gostoto. K osmolalnosti urina največ prispevajo ioni natrija, kalija, amonijaka in sečnina. Pri zvišanju drugih parametrov v urinu, npr. glukoze in proteinov, merjenje relativne gostote ni zanesljivo za oceno koncentriranosti vzorca. Zato je v takih primerih merjenje osmolalnosti smiselno pri oceni koncentracijske zmožnosti ledvic.

Metoda temelji na merjenju znižanja zmrzišča. Rezultate v miliosmolih (mOsmol) preračunamo in izrazimo v SI enotah milikelvinih na enoto teže [ $mK = mOsmol/kg \times 1,855$ ].

Če osmolalnost izdajamo na podlagi izračuna iz koncentracij drugih izmerjenih analitov (natrijev ion, glukoza, sečnina), s tem podajamo le njeno oceno.

Priporočilo za nivo: 2, 3

### 3.1.2.3. Prevodnost

Prevodnost je novejši parameter, ki smo ga začeli določati v medicinskih laboratorijih s prihodom novejših analizatorjev. Soroden je z osmolalnostjo, kajti oba sta odvisna od prisotnosti soli in med seboj dobro korelirata. S kreatininom bolje korelira prevodnost. Rezultate izražamo v milisimensih na dolžinsko enoto (mS/cm). Ker gre za novejši parameter, njegova klinična uporabnost še ni dovolj preverjena.

## 3.2. Kvalitativne kemijske preiskave urina

Kvalitativne kemijske preiskave temeljijo na kemiji trdnih nosilcev – testnih trakov (lističev). To so plastični trakovi, ki vsebujejo kemijsko reaktivna polja z reagenti v suhi obliki. Na vsakem od teh polj se določa en analit. Ob stiku z urinom se reagenti raztopijo. Med analitom v vzorcu in raztopljenimi reagenti steče kemijska reakcija, pri kateri pride do obarvanja. Intenziteto obarvanja ali spremembo barve ocenimo s prostim očesom ali izmerimo reflektometrično (odboj svetlobnega žarka od reakcijskega produkta na nosilcu).

Z osnovno analizo lahko določamo v urinu koncentracijo vodikovih ionov (pH), relativno gostoto, proteine, glukozo, ketone, bilirubin, urobilinogen, hemoglobin, levkocite, nitrite in kreatinin.

Pri delu s testnimi trakovi upoštevamo navodila proizvajalca, postopek pa je naslednji:

1. testni trak potopimo za približno 1 sekundo v svež, dobro premešan urin;
2. odvečni urin odstranimo tako, da potegnemo testni trak po robu epruvete ali vsebnika; traka ne pivnemo na staničevini;

3. primerjamo barvo testnih polj z barvami iz priložene tabele v skladu z navodili proizvajalca ali
4. reflektometrično izmerimo sestavine urina z analizatorjem;
5. rezultate izrazimo, kot je navedeno v tabeli 1.

Testni trakovi morajo biti zaščiteni pred vlago, neposredno svetlobo in toploto. Hranimo jih v zaprti, temni posodi, vendar ne v hladilniku. Posamezen trak vzamemo iz embalaže tik pred uporabo.

### 3.2.1. Proteini (albumini) v urinu

Celokupni proteini v urinu so:

- plazemski proteini z visoko molekulsko maso (albumin, transferin, intaktni imunoglobulin itd.);
- plazemski proteini z nizko molekulsko maso ( $\alpha_1$ -mikroglobulin, lahke verige imunoglobulinov itd.);
- proteini, ki pridejo v urin s fiziološkim izločanjem iz ledvičnih tubulnih celic (Tamm-Horsfallov protein (THP)) in
- proteini, ki pridejo v urin iz drugih delov sečil.

Testni trak je občutljiv za albumine pri koncentraciji 0,20 g/L. Manj je občutljiv za mukoproteine in proteine z nizko molekulsko maso ter neobčutljiv za monoklonske imunoglobuline oziroma njihove lahke verige (Bence-Jones proteini).

Analizno polje testnega traku vsebuje pH-indikator. Proteini v urinu se vežejo na indikator in spremenijo njegovo barvo.

Vsak laboratorij, tudi na primarni ravni, mora za opredelitev proteinurije imeti možnost kvantitativne določitve proteinov (g/l) in kreatinina (mmol/l) v urinu, kar omogoča izračun ocene dnevne proteinurije in določitev dejanske proteinurije v 24-urnem urinu.

Vztrajna proteinurija je praviloma posledica bolezni ledvic. Intermitentna proteinurija je lahko posledica bolezni srca, krvnega obtoka, povišanega krvnega tlaka, vnetja mehurja, sečil, prostate, bolezni urogenitalnega

trakta ali pa posledica nepravilnosti v sintezi imunoglobulinov.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.2.2. Glukoza v urinu

Filtrirana glukoza se iz primarnega urina reabsorbira v tubulih do določene meje (ledvični prag). Če se v plazmi koncentracija glukoze zviša nad okvirno 10 mmol/L (sladkorna bolezen, prekomerno uživanje glukoze), tubuli ne zmorejo več reabsorbirati vse glukoze, zato presežek preide v končni urin. Pojav imenujemo glukozurija. Do glukozurije ob nižjih koncentracijah glukoze v plazmi lahko pride tudi zaradi motnje delovanja tubulov, ko se zniža ledvični prag in zmanjša reabsorpcija glukoze. Takšno stanje imenujemo renalna glukozurija.

Določanje temelji na dvostopenjski encimski reakciji določitve glukoze (glukoza oksidaza in peroksidaza).

S tem testom ne zaznamo drugih sladkorjev (galaktoze, fruktoze, laktoze, pentoze).

V posameznih primerih lahko naključno odkrijemo sladkorno bolezen, nosečniško sladkorno bolezen ali boleznimotene resorpcije glukoze v tubulih, ki je posledica okvare proksimalnih tubulov, do katere lahko pride zaradi monoklonskih imunoglobulinov ali drugih vzrokov (npr. prirojeni Fanconijev sindrom, nefrotski sindrom, ...).

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.2.3. Ketonske spojine v urinu

Ketonske spojine (aceton, acetoacetat in  $\beta$ -hidroksibutirat) so normalni produkti presnove maščob. Kadar telo ni sposobno izkoriščati ogljikovih hidratov kot vira energije (zaradi pomanjkanja inzulina ali premalo hrane), jih nadomesti z razgradnjo maščob. Ketonurija (ketonske spojine v urinu) je lahko posledica diabetične acidoze, stradanja, prekomernega bruhanja, nosečnosti, hipotermije ali večjih telesnih naporov.

Analiza temelji na dokazovanju ketonov po Legalu. Test je specifičen za acetoacetat, ne zazna pa  $\beta$ -hidroksibutirata.

Določanje ketonov je pomembno pri diagnosticiranju ketoacidoze.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

#### 3.2.4. Žolčna barvila v urinu

Bilirubin je produkt razgradnje hemoglobina. Nastaja v celicah retikuloendotelijskega sistema jeter, od koder prehaja v kri in od tam v urin. Analiza temelji na vezavi bilirubina z diazonijevo soljo v močno kislem mediju; nastane azobarvilo.

Bilirubin se na svetlobi hitro pretvori v biliverdin, ki je zelene barve. Urinski vzorci ne smejo biti izpostavljeni sončni svetlobi.

Količina bilirubina v urinu je pri zdravem človeku majhna. Povečano izločanje bilirubina najdemo predvsem pri obstrukciji žolčnih vodov in drugih vzrokih zaolestazo, pri hemolitični anemiji pa običajno ne, saj je v slednjem primeru povišan predvsem nekonjugirani bilirubin, ki se ne izloča z urinom. Zaradi dobre diagnostike jetrnih bolezni z določitvijo jetrnih encimov v krvi preiskava izgublja pomen.

Urobilinogen nastane v črevesju z bakterijsko razgradnjo bilirubina in se v majhnih količinah izloča z urinom.

Postopek določanja urobilinogena s testnim trakom lahko temelji na Ehrlichovi reakciji ali na reakciji z azospojinami, pri kateri merimo nastanek obarvanih diazo barvil.

Določanje urobilinogena v urinu je lahko v pomoč pri diagnostiki v primerih zapore črevesja, pri katerih se količina urobilinogena poveča, in pri zdravljenju s širokospektralnimi antibiotiki, pri katerem pa zaradi spremenjene normalne bakterijske flore urobilinogen ne nastaja. V praksi ta preiskava izgublja svoj pomen.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.2.5. Nitriti (bakterije) v urinu

Preiskava temelji na ugotavljanju aktivnosti nitratreduktaze, ki je prisotna v večini bolezenskih po Gramu negativnih bakterij (npr. *Escherichia coli*), in na pretvorbi nitrata (normalna sestavina urina) v nitrit.

Metoda temelji na reakciji diazo spojin.

Pomen določanja nitritov je v odkrivanju Gram negativnih bakterij v urinu. Pozitivno reakcijo na nitrite lahko zaznamo le ob zadostnem vnosu nitratov s hrano (z zelenjavo), z najmanj 4-urnim zadrževanjem urina v mehurju in brez antibakterijskega zdravljenja vsaj tri dni pred testiranjem. S to preiskavo ne moremo dokazati nekaterih patoloških bakterij, ki ne vsebujejo omenjene reduktaze (*Enterococcus* spp. in *Staphylococcus* spp.), in zato dobimo lažno negativne rezultate. Sama bakteriurija še ne pomeni okužbe sečil. Diagnozo okužbe postavi zdravnik ob ustreznih kombinaciji klinične slike in laboratorijskih preiskav.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.2.6. Levkociti v urinu

Levkociti (nevtrofilni granulociti in makrofagi) vsebujejo indoksilesterazo, ki jo izkoriščamo za dokaz teh celic v urinu. Limfociti tega encima ne vsebujejo.

Analizna reakcija temelji na encimski aktivnosti esteraze in s tem na spremembi barve diazonijeve soli.

Levkociti v urinu so posledica okužbe sečil ali pa se pojavijo ob vnetjih v področju sečil, ki so posledica drugih vzrokov.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3



### 3.2.7. Kri v urinu

Hemoglobin se v urinu lahko nahaja v eritrocitih (hematurija) ali v raztopljeni, prosti obliki (hemoglobinurija).

Urin, ki vsebuje eritrocite, je moten in rdečerrjavo obarvan. Po centrifugiranju je supernatant bister in rumene barve, v sedimentu pa najdemo eritrocite.

Urin, ki vsebuje hemoglobin, je bister in rdečerrjav. Po centrifugiranju supernatant ostaja rdečerrjavo obarvan, v sedimentu pa ni eritrocitov.

Eritrocite in hemoglobin določamo z ugotavljanjem psevdopero-ksidazne aktivnosti hema, ki v prisotnosti peroksida oksidira razne kromogene (polifenole in aromatske amine). Reakcija je pozitivna tudi pri prisotnosti mioglobina v urinu.

Če so v urinu prisotni hemoglobin, mioglobin ali hemolizirani eritrociti, se na testnem traku pojavi enakomerno zeleno obarvanje, če pa so prisotni nepoškodovani eritrociti, se na testnem polju pojavijo le zelena točkasta obarvanja. Test je veliko občutljivejši za prosti hemoglobin kot za eritrocite.

Vzrokov za hematurijo je veliko in so lahko posledica bolezni ledvic (npr. glomerulonefritisi, intersticijski nefritisi, ...) ali pa bolezni drugih del sečil (npr. sečni kamni, malignom mehurja ali drugih predelov sečil ...).

Hemoglobinurija se lahko pojavlja pri hudi hemolitični anemiji ter po transfuziji nekompatibilne krvi.

Mioglobin v urinu je značilen za mišično nekrozo (rabdomiolizo, polimiozitis).

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.2.8. pH urina

Ledvice sodelujejo pri vzdrževanju acidobaznega ravnotežja v organizmu tako, da po potrebi izločajo z urinom odvečne kisle ali bazične spojine. Vrednost pH urina je odvisna od prehrane, presnove, bolezni, nanjo pa vplivajo tudi zdravila in njihovi presnovki. Zdravi ljudje izločajo šibko kisel do šibko alkalen urin, z razponom pH med 4,5 in 8,0. Koncentrirani jutranji vzorec urina je pri zdravih ljudeh praviloma kisel, urinski vzorci otrok pa so pogosto alkalni. Bakterije, ki izločajo ureazo, lahko zvišajo pH urina.

Testno polje na traku vsebuje dve indikatorski barvili v območju pH med 5,0 in 9,0. Indikatorja v stiku z urinom spremenita barvo.

Določanje je potrebno za diagnozo acidobaznih motenj, pri spremljanju specifičnih bolezni in stanj ter pri analizi izločanja nekaterih zdravil.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.2.9. $\beta$ –humani horionski gonadotropin

Humani horionski gonadotropin (hCG) je hormon, ki ga izločajo celice trofoblasta zarodka in kasneje v nosečnosti posteljica. Njegova koncentracija v urinu je nižja kot v krvi in narašča v prvih 10 tednih po zanositvi. Koncentracija hormona v urinu je odvisna tudi od količine zaužite tekočine. Zato se za testiranje priporoča odvzem prvega jutranjega urina, ki je najbolj koncentriran. V krvi in urinu se nahaja več oblik molekule hCG. Imunološki testi so običajno specifični za  $\beta$  verigo hormona, čeprav reagirajo tudi z drugimi oblikami molekule. Občutljivost kvalitativnih urinskih testov je običajno med 20 in 50 IU/L. Večina testov zazna nosečnost 14 dni po ovulaciji oz. 28+7 dni od prvega dne zadnje menstruacije.

Analiza temelji na vezavi monoklonskih protiteles z  $\beta$  podenoto hCG. Pozitivne rezultate lahko dobimo tudi pri izvenmaternični nosečnosti in nekaterih malignih obolenjih. Povišana koncentracija hormona je

prisotna še nekaj časa po porodu, po splavu ali ob dajanju injekcij hCG. Ob zgodnjem testiranju negativni rezultat ne izključuje nosečnosti. Kvalitativni test je namenjen odkrivanju nosečnosti. Test ni namenjen diagnostiki nenormalnih nosečnosti ali kot tumorski označevalec.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

### 3.3. Podajanje rezultatov testnih trakov

Rezultate parametrov, ki jih s testnim trakom določimo in so navedeni v tabeli 1, podamo v izvid v poljubnih enotah (poE),

**Tabela 1:** Podajanje rezultatov testnih trakov

analit	enota	negativen rezultat	pozitiven rezultat
PROTEINI (ALBUMINI) GLUKOZA KETONI BILIRUBIN UROBILINOGEN LEVKOCITI HEMOGLOBIN NITRITI	poE*	0	1, 2, 3, 4, ... s številkami izražena različna stopnja pozitivnega rezultata
β - HCG	poE*	0	1

\* poE – poljubne enote.

**Priporočilo:** vsak laboratorij mora imeti kvantitativno opredeljene poljubne enote pri posamezni preiskavi, npr. 1 poE ustreza od 0,1 do 0,3 g/L po proizvajalcu.

Občutljivosti za posamezen analit podaja proizvajalec testnih trakov. Ostale analite (relativno gostoto, pH), ki se določajo na trdih nosilcih, podajamo po navodilih proizvajalca.

### 3.4. Orientacijske referenčne vrednosti osnovne kemijske in fizikalne analize urina

Fiziološko se spreminjata le pH urina in relativna gostota, ostalih analitov pa v urinu zdravih ljudi ne najdemo (tabela 2).

**Tabela 2:** Orientacijske referenčne vrednosti enkratnega urinskega vzorca za preiskave testnega traku

parameter/analit	referenčne vrednosti
pH	4,5 – 8,0 <sup>(5)</sup>
relativna gostota	1,005 – 1,040 <sup>(5)</sup>
proteini	0
glukoza	0
ketoni	0
bilirubin	0
urobilinogen	0
levkociti	0
hemoglobin	0
nitriti	0

### 3.5. Moteči vplivi na določanje posameznih analitov

Prisotnost različnih snovi v urinu povzroča motnje pri določanju posameznih analitov na testnem traku in podajanje lažnih rezultatov. Naloga vsakega laboratorija je, da pred uporabo preveri, katere interference navaja proizvajalec testnih trakov. Seznam interferenc v tabeli 3 se lahko razlikuje od tistih, ki jih navaja proizvajalec testnih trakov.

**Tabela 3:** Najpogostejše interференce pri določanju analitov na testnem traku

analit	lažno pozitivni rezultati	lažno negativni rezultati
pH	porast bakterij lahko povzroči prehod v alkalen urin	prisotnost formaldehida
relativna gostota	visoka koncentracija proteinov (> 1g/L proteinov v urinu)	zelo alkalen urin
proteini (albumini)	vidno krvav urin, zelo alkalen urin (pH 9), prisotnost zdravil (fenazopiridina, polivinilpirolidona, klorheksidina) ali belila, visoka relativna gostota	proteini, ki niso albumini, nizke koncentracije albumina
glukoza	oksidirajoče snovi (npr. belilo, peroksidi in oksidirajoči detergenti na steklovinu)	visoke koncentracije ketonov, askorbinske kisline, zelo visoka relativna gostota, nizka temperatura, star vzorec urina, številna zdravila in vnetja sečil
ketoni	različni pigmenti, zdravila ali spojine, ki močno obarvajo urin presnovki nekaterih zdravil (npr. presnovki levdope), prisotnost sestavin fenilketonov in ftaleina	ne zazna $\beta$ -hidroksibutirata, ki je pogosto zvišan pri sladkorni bolezni in prehranskih motnjah; nepravilno hranjeni vzorci (star vzorec urina), ker se acetoacetat pretvori v hlapni aceton
bilirubin	prisotnost zdravil (fenazopiridin, presnovki klorpromazina)	večje količine askorbinske kisline, visoke koncentracije nitritov, izpostavljenost svetlobi lahko zniža koncentracijo bilirubina

analit	lažno pozitivni rezultati	lažno negativni rezultati
urobilinogen	p-aminosalicilna kislina, sulfonamidi, p-aminobenzoična kislina, zelo topel urin, prisotnost fenazopiridina, metil dopa, prokain, klorpromazin, močno obarvan urin	prisotnost formalina, presežek nitritov, star vzorec urina
nitriti	prisotnost rdečih barvil in drugih kromogenov, nepravilno hranjeni vzorec (rast bakterij <i>in vitro</i> , onesnaženje)	uživanje hrane brez zelenjave (odsotnost nitratov), kratkotrajna inkubacija urina v mehurju, prisotnost nereducirajočih patoloških mikroorganizmov, velika količina po Gramu pozitivnih bakterij, ki pretvarjajo nitrite v dušik, zvišana koncentracija askorbinske kisline, antibiotiki, visoka relativna gostota
levkociti	kontaminacija iz nožnice, oksidirajoči detergenti (hipoklorit), formaldehid, Na azid, formalin, močno obarvan urin, (bilirubin), nitrofurantoin	visoka koncentracija glukoze, oksalne kisline, cefalosporinov, tetraciklinov, visoka relativna gostota urina, visoka koncentracija proteinov (albumin), askorbinske kisline in nekatera zdravila (gentamicin), zakasnela analiza
hemoglobin	oksidirajoče snovi (npr. belilo hipoklorit), bakterijska peroksidaza kot produkt raznih mikrobov pri okužbah sečil, menstrualna kri	kaptopril, formalin, zvišani nitriti, zvišana relativna gostota, zvišana koncentracija askorbinske kisline, zakasnela analiza

### 3.5.1. Askorbinska kislina v urinu

Askorbinska kislina ali vitamin C se skozi ledvice izloča v nespremenjeni obliki, delno lahko tudi v obliki oksalata.

Askorbinska kislina lahko kot reducent vpliva na določanje številnih analitov v urinu s testnim trakom, npr. glukoze, bilirubina, nitritov, levkocitov in eritrocitov. Za pravilno vrednotenje rezultatov testnega traku priporočamo prepoznavanje interference askorbinske kisline. V ta namen uporabimo lahko testni trak z dodatnim poljem za askorbinsko kislino ali testni trak, ki zmanjša vpliv te interference.

Zelo visoke koncentracije askorbinske kisline, izločene skozi ledvice, lahko vodijo v hiperoksalurijo in v ledvične kamne.

## 3.6. Mikroskopska analiza urina

### 3.6.1. Mikroskopski pregled sedimenta

Mikroskopski pregled urinskega sedimenta je kvalitativna analiza formiranih (neraztopljenih) in s centrifugiranjem koncentriranih sestavin urina. Te so eritrociti, levkociti, cilindri, bakterije, glive, paraziti, epitelne celice, soli v kristalni ali amorfni obliki, sluz (mukopolisaharidi) in maščobe (lipidi).

Urinski sediment je ključni del urinske analize in ga je treba pregledati zaradi morebitne prisotnosti delcev, ki jih s testnim trakom ne zaznamo.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

#### 3.6.1.1. Priprava urinskega sedimenta za mikroskopiranje

Postopek priprave in mikroskopskega pregleda sedimenta urina mora biti standardiziran. Vsak laboratorij mora imeti jasna lastna navodila za izvajanje preiskave.

Priporočeni potrošni material za pripravo sedimenta in mikroskopsko analizo urina je:

- koničasta epruveta s pokrovčkom za centrifugiranje urina,
- nastavek in pipeta za enostaven prenos sedimenta urina,
- predmetno (objektno) in krovno stekelce ali plastična ploščica za mikroskopiranje,
- barvilo za pregled sedimenta v svetlem polju (po potrebi).

## Volumen urina

Centrifugiramo 9 do 12 mL svežega, dobro premešanega urina.

V nekateri kliničnih primerih je količina lahko manjša (pri pediatričnih vzorcih in anuriji, ki je lahko posledica različnih bolezenskih stanj). Volumen izmerimo, v izvidu pa podamo opombo, da rezultati veljajo za izmerjeno količino.

## Centrifugiranje

Priporočeni čas centrifugiranja je 5 minut pri RCF 400 *g*.

Relativna centrifugalna sila (Relative Centrifugal Force, RCF, izražena tudi z *g*) je odvisna od rotacijske hitrosti centrifugiranja (Revolutions per minute, RPM, obrati/minuto) in od polmera centrifuge (razdalje med osjo rotorja in dnom horizontalno postavljenega nosilca epruвет v centrifugi).

Hitrost centrifugiranja (obr/min) izračunamo iz enačbe:

$$RCF = 1,118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$$

iz tega

$$RPM = \sqrt{\frac{RCF}{1,118 \times 10^{-5} \times r}}$$

*r* = polmer centrifuge (cm)



## **Odstranitev supernatanta**

Za odstranitev supernatanta priporočamo aspiracijo z uporabo avtomatske pipete. V epruveti ohranimo standardizirano količino (0,5 mL) sedimenta za nadaljnjo analizo. Pri uporabljeni količini urina 10,0 mL odstranimo 9,5 mL supernatanta.

## **Resuspenzija (ponovno premešanje)**

Homogeno razporeditev delcev v mikroskopskem preparatu zagotovimo s ponovnim mešanjem sedimenta po odstranitvi supernatanta. Mešanje je najbolje opraviti s pipeto oziroma avtomatsko pipeto, saj želimo doseči popolno homogeno razporeditev delcev.

## **Prenos vzorca na predmetno steklo ali plastično ploščico za mikroskopiranje**

Mikroskopske preiskave urina izvajamo z vedno enako količino sedimenta. Pri klasični metodi predmetnega in krovnega stekla s pipeto kanemo točno določeno količino sedimenta na predmetno steklo in ga prekrijemo s krovnim steklom določene dimenzije. Pri uporabi krovnih stekel 22 x 22 (24 x 32) mm uporabimo 30 (50)  $\mu$ L sedimenta urina. Na sediment namestimo krovno stekelce, brez pritiska, saj se sediment sam porazdeli pod stekelcem in ne izteka ob robovih krovnega stekelca. Pri uporabi mikroskopske ploščice s komorami lahko uporabimo Pasteurjevo pipeto, saj je volumen urina v posamezni komori vedno enak.

## **Mikroskop**

Za oceno sedimenta uporabimo fazno-kontrastni mikroskop (barvanje sedimenta ni potrebno), ki mora biti opremljen z manjšo (100 $\times$ ) in večjo (400 $\times$ ) povečavo. Porazdelitev delcev v preparatu in vsebnost redkih elementov (cilindrov, epitelnih celic) opazujemo najprej pod manjšo povečavo. Nato pod večjo povečavo pregledamo 20, najmanj pa 10 vidnih polj.

Z navadnim svetlobnim mikroskopom ne moremo zanesljivo prepoznati bakterij, eritrocitov in hialinih cilindrov. Zato svetlobni mikroskop lahko uporabimo samo v primeru, če sediment supravitalno barvamo (npr. metoda Sternheimer-Alcian modro ali Sternheimer-Malbin). Sediment običajno obarvamo s kapljo barvila, ga ponovno premešamo in pregledamo, kot je opisano zgoraj.

### 3.6.1.2. Ocena različnih sestavin urinskega sedimenta

Če ima laboratorij možnost kvantitativne določitve posameznih delcev v nativnem urinu, priporočamo podajanje števila delcev na L (liter) urina. V nasprotnem primeru v urinskem sedimentu preštejemo delce/celice v vsaj 10 vidnih poljih. Rezultat navedemo kot povprečje (zaokrožimo na celo število).

Na primer: v enem vidnem polju najdemo 0 eritrocitov, v 9 poljih pa po 3 v vsakem polju. Povprečno število je 2,7 oziroma zaokroženo 3 eritrocite/vidno polje.

Če je v vidnem polju več kot 50 celic, navedemo to kot »nad 50« eritrocitov ali levkocitov.

#### Eritrociti

Pri eritrocitih opišemo njihov videz. Glede na obliko jih delimo na:

- izomorfne, ki so podobni eritrocitom v krvi; v to skupino sodijo tudi eritrocitne sence;
- dismorfne (slika 1), ki imajo značilno nenormalno obliko. V skupino dismorfnih eritrocitov sodijo tudi akantociti, ki so različnih velikosti in značilno deformirani, z mehurčastimi izrastki v obliki ušes.

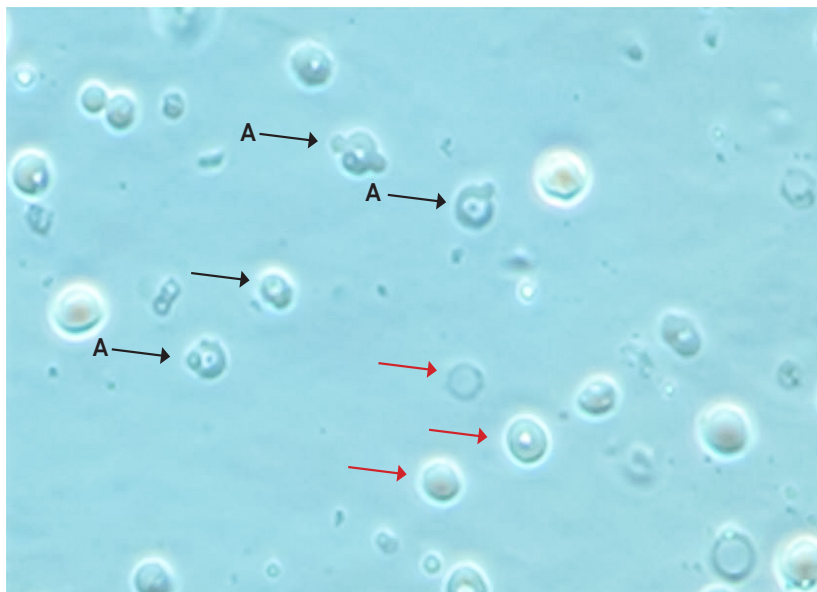
Dismorfizem eritrocitov določamo samo z uporabo fazno kontrastnega mikroskopa.

Prisotnost izomorfnih eritrocitov govori v prid eritrocituriji, ki je posledica urološke bolezni.

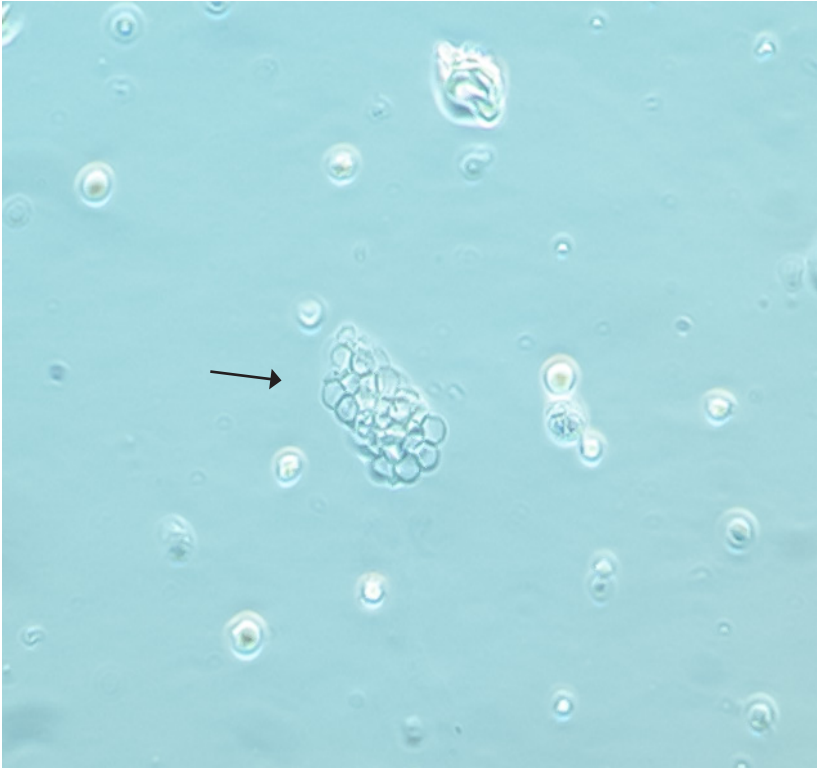
Odsotnost dismorfizma sicer ne izključuje glomerulne eritrociturije, vendar je pri izolirani neglomerulni eritrocituriji verjetnost »urološke« eritrociturije večja.

Oceno stopnje dismorfizma podajamo v skladu s potrebami naročnika. Stopnjo dismorfizma podajamo v obliki odstotka dismorfnih celic, glede na vse eritrocite (med dismorfne eritrocite sodijo tudi akantociti), dodatno pa moramo podati še odstotek akantocitov glede na vse eritrocite. O glomerulni eritrocituriji govorimo, ko je več kot 40 % dismorfnih eritrocitov ali več kot 5 % akantocitov. Pri nižjem odstotku gre verjetno za neglomerulno eritrociturijo. Najdba vsaj enega eritrocitnega cilindra vedno pomeni prisotnost glomerulne eritrociturije. Poročanje o izluženih eritrocitih ni priporočljivo, saj nima nikakršnega kliničnega pomena in je zato za klinika moteče in zavajajoče.

Posebnost priporočila za določevanje dismorfizma: nivo 2 in 3



Slika 1. Izomorfni (rdeče puščice) in dismorfni (črne puščice; A = akantocit) eritrociti (fazno kontrastni mikroskop, 400x)



Slika 2. Eritrocitni cilinder (fazno kontrastni mikroskop, 400x)

Slike so avtorsko zaščitene. Reprodukcija je dovoljena samo s privolitvijo avtoric.

### Levkociti

Morfoloških sprememb levkocitov ne opisujemo. Diferenciacija posameznih vrst je smiselna le v specializiranih laboratorijih.

Levkociturija je najpogosteje posledica okužbe sečil. Takrat najdemo lahko levkocite v skupinah in bakterije. Večinoma so v urinu najštevilčnejši levkociti nevtrofilci. Pri okužbi zgornjih sečil so v sedimentu urina lahko prisotni levkocitni cilindri. Levkociturija ni vedno odraz okužbe, ampak je lahko povezana z imunološkim vnetjem, na primer

pri različnih avtoimunskih boleznih ledvic. Če pri ženskah poleg levkocitov najdemo veliko ploščatih epitelnih celic ali sluzi, predstavljajo najdbe verjetno kontaminacijo z izločki iz nožnice.

Ker levkociti v urinu pri nekaterih bolezenskih stanjih začnejo razpadati po eni uri po odvzemu, je priporočeno, da urinski sediment analiziramo v dveh urah po odvzemu.

## Cilindri

Cilindri so elementi cilindrične oblike, sestavljeni iz Tamm-Horsfallovega proteina. Tvorijo se v Henlejevi zanki in distalnem tubulu, zaradi česar imajo obliko odlitka tubula. Njihov nastanek pospešujejo kisel pH, visoka osmolarnost in prisotnost ultrafiltriranih proteinov. V alkalnem urinu so cilindri redko prisotni. THP je lahko edina sestavina cilindra (hialini), lahko pa so v ali na THP vezani drugi elementi. Zelo pomembno je diferencirati med elementi, ki so v cilindru in elementi, ki so nalepljeni na površino cilindra. Elementi, ki so v cilindru, nedvoumno prihajajo iz ledvičnih tubulov, torej so povezani z boleznimi ledvic. Te elemente prepoznamo tako, da je njihov videz oster takrat, ko je oster tudi rob cilindra, kar pomeni, da se nahajajo v sredini cilindra. Značilno za elemente v cilindrih je tudi, da nimajo tako imenovanega haloja (svetline) okoli elementa. Elementi, ki so nalepljeni na površino cilindra, nimajo nobene zveze z ledvično patologijo, saj se običajno nalepijo na površino kasneje, na primer v času inkubacije urina v mehurju. Posebej je to značilno za bakterije, velja pa tudi za druge elemente. Elementi, ki so na površini, niso izostreni sočasno z ostrim robom cilindra in imajo pogosto okoli elementa svetlino.

Cilindri imajo diagnostičen pomen glede na njihovo sestavo.

- Hialini cilindri: pri zdravih osebah je prisotnost hialinih cilindrov pogosta. Prisotni so v večjem številu po telesnem naporu, dehidraciji, po izpostavljenosti mrazu, pri akutnem srčnem popuščanju in pri povišani telesni temperaturi. Cilindri v urinu so lahko prisotni pri vseh nefropatijah, tudi pri tistih, za katere so značilni cilindri drugega tipa.

- Granulirani cilindri so cilindri, v katerih so ujeti manjši ali večji delci propadajočih celic in proteinov. So kazalec številnih glomerulnih in tubulnih bolezni.
- Eritrocitne cilindre najdemo pri vseh nefropatijah, ki povzročajo hematurijo, in so absolutni označevalec glomerulne eritrociturije.
- Levkocitni cilindri so prisotni pri vnetjih ledvic, sistemskem lupus eritematozusu, tubulointersticijskem nefritisu, akutnem pielonefritisu.
- Epitelni cilindri izražajo akutno okvaro tubulov pri glomerularnih nefropatijah, akutnih tubularnih nekrozah, intersticijskem akutnem nefritisu in drugih tubulopatijah.
- Maščobni cilindri so prisotni pri izraziti proteinuriji, predvsem pri nefrotskem sindromu.
- Voščeni cilindri so cilindri, pri katerih proteinska osnova še ni dokončno opredeljena. Najdemo jih predvsem pri glomerulonefritisu, diabetični nefropatiji in amiloidozi ledvic.
- Pigmentirani cilindri so granulirani cilindri, ki so obarvani zaradi kromogenih snovi; hemoglobinski in mioglobinski cilindri so rdečkaste barve, bilirubinski pa temno oranžne. Hemoglobinski cilindri lahko nastanejo iz razpadlih eritrocitov. Mioglobinske najdemo pri akutni ledvični okvari, povezani so z rabdomiolizo. Bilirubinske cilindre najdemo pri ikteričnih bolnikih z visoko koncentracijo konjugiranega bilirubina.
- Cilindri z vključki bakterij in glivic so znak za resno okužbo ledvic.
- Cilindri s kristali so klinično pomembni pri akutni uratni nefropatiji, pri zastrupitvi z etilenglikolom ali pri akutni oksalozi.
- Mešani cilindri so plevmorfni oblik in vsebujejo različne delce (eritrocite, levkocite, celice, lipide, kristale), ki so vključeni v THP.

Pregledamo preparat pri 100-kratni povečavi (celotno površino komorice ali vsaj približno 30 polj pri krovnem stekelcu) in preštejemo ter poimenujemo cilindre. Pomembno je, da prepoznamo vse različne vrste prisotnih cilindrov.

Posebnost priporočila: na nivoju 1 in 2 je pomembna predvsem prepoznavna vrste cilindrov. **Število cilindrov podajamo v skladu z navedbo v tabeli 5.**

Na nivoju 3 je smiselno opredeliti število cilindrov na vidno polje pri 100-kratni povečavi kot malo, številni in zelo številni v dogovoru in skladno s potrebami naročnika.

### Mikroorganizmi

V sedimentu moramo prepoznati bakterije, parazite in glivice.

Diagnostično pomembna je najdba številnih bakterij v vidnem polju. Ker je metoda razmeroma neobčutljiva (opazimo  $>10^8$  bakterij/L), je pri sumu na okužbo treba narediti mikrobiološko analizo urina (urinokulturo).

Vsebnost bakterij in glivic označimo: malo, številne in zelo številne. Pri parazitih navedemo ime parazita, npr. *Trichomonas vaginalis*, *Shystosoma* (jajčeca).

### Kristali

Diagnostično pomembni so kristali cistina, tirozina, levcina, holesterola, bilirubina in tripel fosfata (struvita). V izvidu jih je zato treba vselej navesti. Ostale kristale navajamo samo, ko so v večjih količinah (vidni v vsakem vidnem polju pri veliki povečavi).

Njihovo prepoznavanje ima vlogo pri diagnostiki prirojenih in pridobljenih bolezni urinarnega trakta, ki so posledica precipitacije kristalov, ter so povezane z oslABLjeno ledvično funkcijo ali tvorbo ledvičnih kamnov (kristali sečne kisline, kalcijevega oksalata, kalcijevega fosfata, magnezij-amonijevega fosfata, kalcijevega karbonata, kalcijevega sulfata,

amonijevega urata, amorfnih uratov, amorfnih fosfatov). Velikokrat kristali nastanejo zaradi določenih pogojev *in vitro* (sprememba temperature, sprememba pH, neustrezno shranjevanje vzorca) ali kot posledica načina prehranjevanja (premajhen vnos tekočine, nasičenje ob določeni hrani, prevelika koncentracija soli). Pri prepoznavanju vrste kristalov je treba upoštevati njihovo značilno obliko, pH urina in polarizacijo svetlobe, če je na voljo polarizacijski mikroskop (bolnišnice in terciarne ustanove). Pogosto najdemo kristale sečne kisline, kalcijevega oksalata in amorfnih uratov v kislem urinu ter amorfnih fosfatov, kalcijevega karbonata, kalcijevega fosfata in tripel fosfata (struvit) v alkalnem urinu. Če so ti kristali pri posamezniku stalno prisotni, lahko pomenijo motnjo v presnovi.

V izvid navajamo najdbe posameznih vrst kristalov. Kristale zdravil navajamo, ne opredelimo pa vrste zdravila.

Posebnost priporočila: na nivoju 1 zadošča navedba vrste kristalov. Na nivoju 2 in 3 se njihova številčnost opredeli z malo in številni v dogovoru in skladno s potrebami naročnika.

### Epitelne celice

Glede na izvor in obliko poznamo tri vrste epitelnih celic.

- Ledvične tubulne epitelne celice so najmanjše epitelne celice, ki jih najdemo v urinu, in so praviloma nekoliko večje od levkocitov. Običajno imajo razmeroma veliko ter jasno omejeno jedro s številnimi nukleoli, oblika celice pa je lahko zelo različna (kvadratne, poligonalne, ...).
- Uroepitelne celice (prehodni epitel) so večje od tubulnih epitelnih celic in manjše od ploščatih epitelnih celic. So okrogle, kadar izvirajo iz površinskih plasti, ali vretenaste z značilnimi »repki«, kadar izhajajo iz globljih plasti epitela sečnih poti.
- Ploščate epitelne celice so največje epitelne celice, ki jih lahko najdemo v urinu in izvirajo iz zunanjih genitalnih organov.



Običajno so poligonalnih oblik in imajo, glede na citoplazmo, zelo majhno jedro. Njihovo prisotnost v urinu opisujemo le, če jih je v sedimentu veliko (številne in zelo številne), saj je to pomemben znak kontaminacije urina z izločki spolovil.

Posebnost priporočila: na nivoju 1 je smiselno ločevanje na majhne in velike okroglaste epitelne celice (kar sovpada s tubulnimi in uroepitelnimi celicami) in ploščate epitelne celice. V izvid zapišemo najdbo že ene same okroglaste epitelne celice.

Na nivoju 2 in 3 pa je primerno bolj natančno opisovanje vrste epitelnih celic, vključno z razlikovanjem med globokimi in povrhnjimi uroepitelnimi celicami.

### Maščobe

Pojavljajo se v urinu oziroma urinskem sedimentu bolnikov z nefrotskim sindromom, v manjših količinah pa tudi pri drugih ledvičnih boleznih. Vidimo jih kot proste maščobne kapljice ali z maščobo napolnjene odlučene tubulne epiteljske celice ter makrofage (maščobna ovalna telesa), maščobne cilindre in holesterolne kristale. Pri pregledu s polarizacijsko svetlobo dajejo maščobne kapljice značilno obliko malteškega križa. Z barvilom Sudan III se obarvajo opečnato rdeče. Njihovo prisotnost v urinu opišemo kot: prisotne proste maščobne kapljice, maščobna ovalna telesa, maščobni cilindri.

## **3.7. Prepoznavanje in navajanje rezultatov pregleda urinskega sedimenta**

Mikroskopist mora prepoznati sestavine urinskega sedimenta, ki so navedene v tabeli 4.

**Tabela 4:** Vsebina urinskega sedimenta, ki jo moramo prepoznati

najdba	opis
krvne celice	eritrociti levkociti
cilindri	hialini granulirani eritrocitni levkocitni epitelni maščobni voščeni pigmentirani bakterijski
mikroorganizmi	bakterije glivice paraziti
kristali	amorfni urati in fosfati sečna kislina kalcijev oksalat holesterol cistin tripel fosfat
epitelne celice	ledvične tubulne uroepitelne (globoke in povrhnje) ploščate
drugo	sluz semenčice artefakti

Smiselno je poenoteno podajanje rezultatov pregleda urinskega sedimenta v izvid, primeri so podani v tabeli 5.

**Tabela 5:** Priporočeno navajanje rezultatov mikroskopskega pregleda urinskega sedimenta

sestavina urinskega sedimenta	Primeri priporočenega navajanje rezultatov
eritrociti	1/v.p.*; > 50/v.p.
levkociti	2/v.p.; > 50/v.p.
cilindri	0–2 granulirana cilindra/V.P.**
bakterije	malo/v.p.; številne/v.p.; zelo številne/v.p.
glivice	malo/v.p.; številne/v.p.; zelo številne/v.p.
paraziti	navede se ime parazita
kristali	navede se vrsta kristala <sup>#</sup>
epitelne celice	posamezne uroepitelne celice/v.p., številne ploščate epitelne celice/v.p., zelo številne ledvične tubulne epitelne celice/v.p.

\*v.p.- vidno polje pri 400 x povečavi

\*\*V.P.- vidno polje pri 100 x povečavi

<sup>#</sup> glej priporočilo

Pri določevanju sestavin urinskega sedimenta z avtomatskim analizatorjem podajamo rezultate kot število delcev /L.

### 3.8. Referenčne vrednosti

Orientacijske referenčne vrednosti za urinski sediment zdravih ljudi so navedene v tabeli 6. Razlikujejo se glede na uporabljen nosilec za pregled sedimenta.

**Tabela 6.** Orientacijske referenčne vrednosti za vsebnost sedimenta

najdba na vidno polje (v.p.)	povečava	plastična ploščica za mikroskopiranje sedimenta <sup>(*)</sup>	krovno/predmetno steklo
eritrociti	400x	< 3	< 2 <sup>(4)</sup>
levkociti	400x	< 5	< 5 <sup>(15)</sup>
cilindri	100x	≤ 2 hialina cilindra na komoro	≤ 1 hialini ali hialino granulirani
ledvične tubulne celice, uroepitelne celice, ploščate epitelne celice	400x	0	0 <sup>(4)</sup>
kristali, bakterije, glivice	400x	0	0 <sup>(4)</sup>

Opomba:

<sup>(\*)</sup> ORV so odvisne od prostornine komore na plastični ploščici za mikroskopiranje urinskega sedimenta (14).

Vsak laboratorij mora na osnovi lastnih rezultatov analiz urinskega sedimenta pri zdravih preiskovancih oceniti, kakšno je normalno število različnih delcev in celic v sedimentu. Referenčne vrednosti se zato lahko razlikujejo med laboratoriji.

## 4. DOLOČANJE ŠTEVILČNE KONCENTRACIJE ERITROCITOV IN LEVKOCITOV V NATIVNEM URINU

### 4.1. Avtomatizirani sistemi

Številčno koncentracijo eritrocitov in levkocitov določamo z avtomatiziranimi sistemi za urinski sediment.

Avtomatizirani sistemi, ki omogočajo tako osnovno urinsko analizo kot tudi analizo formiranih elementov urina v nativnem vzorcu, se v zadnjem času vse bolj uveljavljajo v rutinski praksi. Instrumenti uporabljajo različne tehnologije, najbolj sta uveljavljeni pretočna citometrija in tehnologija digitalnega zajema slike z ustrezno programsko podporo. Obe vrsti teh instrumentov, v primerjavi z mikroskopskim pregledom in štetjem celic urinskega sedimenta, dosegata sprejemljive rezultate za eritrocite, levkocite, epitelijske celice, nekatere vrste kristalov, bakterij, glivic in spermijev. V primeru klinično pomembnih parametrov, kot so lipidi in ledvične tubulne celice, ostaja mikroskopska ocena zlati standard. Podobno je z oceno vrste cilindrov, ko v primeru avtomatiziranih sistemov dobimo preveč lažno negativnih rezultatov (pretočna citometrija 15 do 40 %; digitalni slikovni sistem 60 %). Prednost uporabe avtomatiziranih sistemov je analiza velikega števila normalnih vzorcev v presejalne namene v kratkem času. Analiza z avtomatiziranimi sistemi je zelo uporabna za spremljanje učinka zdravljenja. Pred uvedbo takega sistema v rutinsko prakso mora laboratorij izpeljati vse postopke evaluacije, ki so v skladu s priporočili za uvedbo posamezne metode.

Priporočilo za nivo: 2, 3

#### **4.2. Določanje številčne koncentracije eritrocitov in levkocitov v nativnem urinu po Stansfeld – Webbu (SW)**

V laboratorijih, kjer nimajo možnosti kvantitativne določitve koncentracije omenjenih celic in imajo usposobljeno osebje, lahko preštejejo celice s števno komoro (opisano v prilogi 1).

Z določitvijo številčne koncentracije celic omogočimo lažjo oceno učinkovitosti zdravljenja.

## 5. KVANTITATIVNE ANALIZE PRI PROTEINURIJI

### 5.1. Ocena dnevne proteinurije (oDP)

Urin zdravega človeka vsebuje do 0,15 g proteinov dnevno. Vsak pozitiven rezultat albuminurije ali proteinurije na testnem traku (1 ali več) v naključnem vzorcu urina je treba potrditi s kvantitativno metodo.

Da se izognemo podcenjenosti ali precenjenosti proteinurije zaradi razredčitve ali koncentriranosti urina, uporabimo razmerje med proteini in kreatininom v urinu. Kreatinin je končni presnovni produkt, ki nastane v mišicah iz kreatina. Kreatinin se v veliki meri izloča s filtracijo skozi glomerule ledvic, zato je dober kazalec ledvične funkcije.

Ocena dnevne proteinurije je razmerje med koncentracijama proteinov in kreatinina v drugem jutranjem urinu.

Izračunamo jo po enačbi:

$$\text{oDP} = \frac{\text{U-proteini} \times 8,8 \text{ g/dan}/1,73 \text{ m}^2}{\text{U-kreatinin}}$$

Izražamo jo v g/dan/1,73 m<sup>2</sup>. Je primerljiva z določitvijo proteinurije v 24-urnem zbranem urinu.

Vrednosti oDP nad 0,15 g/dan/1,73 m<sup>2</sup> kažejo na povečano izločanje proteinov.

Priporočilo za nivo: 1, 2, 3

## 6. KVALITATIVNA MIKROBIOLOŠKA ANALIZA URINA

Okužba sečil je pogosto bolezensko stanje, največkrat pa jo povzročijo *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, enterokoki in stafilokoki. Okužbe običajno najprej prizadenejo spodnja sečila (sečnico, mehur), lahko pa se širijo tudi v zgornja (sečevod, ledvice).

Urin v mehurju zdravega mladega človeka je sterilen. Neredko pri uriniranju preide v urin nekaj bakterij z zunanega dela genitalij. Njihovo število omejimo z odvzemom srednjega curka. Urin je hranljivo gojišče, idealno za razmnoževanje bakterij. Koncentracija bakterij se pri sobni temperaturi že v dveh urah tako poveča, da rezultati niso več točni, podvoji pa se v 15 do 20 urah.

Za kvalitativno določanje bakterij uporabljamo komercialno pripravljena gojišča na plastičnih nosilcih. Testne ploščice imajo na eni strani nanešen neselektivni agar, na katerem se razmnožujejo po Gramu pozitivne in negativne bakterije, na drugi strani pa selektivni agar, na katerem rastejo samo po Gramu negativne bakterije. Gojišče *E. coli* je namenjeno predvsem za detekcijo Gram negativnih beta-glukuronidazo producirajočih organizmov, od katerih je najbolj pogosta *Escherichia coli*.

Urin nanese na gojišče in inkubiramo v skladu z navodili proizvajalca. Številčno koncentracijo bakterij ocenimo s prostim očesom glede na gostoto kolonij po priloženi lestvici (od  $10^3$  do  $10^7$  CFU/mL; CFU – Colony Forming Unit).

Na splošno velja za pozitiven znak okužbe pri asimptomatskih bolnikih vsebnost bakterij (ki tvorijo kolonije) več ali enako kot  $10^5$  CFU/mL jutranjega urina (srednji curek). Gojišča, ki se zdijo na prvi pogled negativna, moramo dodatno osvetliti, da ne spregledamo morebitne prikrita rasti ali zelo majhnih kolonij.

Patološke vzorce v dogovoru z naročnikom pošljemo v specializiran mikrobiološki laboratorij, da tam določijo vrsto urinskih bakterij in njihovo občutljivost na antibiotike (antibiogram).

## 7. ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI OSNOVNE ANALIZE

Medicinski laboratorij, ki opravlja osnovno analizo urina, mora, v skladu z nacionalnimi in mednarodnimi priporočili, dobro laboratorijsko prakso ter Pravilnikom o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za opravljanje preiskav na področju laboratorijske medicine, imeti sledljiv in dokumentiran proces od odvzema vzorca do izdaje rezultata. Vsi delovni postopki morajo biti izpeljani in opisani po sistemu standardnih operacijskih postopkov z zagotovljeno sledljivostjo merjenih količin. Uporabljene morajo biti klinično preizkušene in strokovno podprte metode, ki so namenjene profesionalni uporabi oziroma diagnostiki *in vitro*.

Zagotovljeno mora biti redno izobraževanje kadrov in redna notranja (interni nadzor) in zunanja presoja (obvezna udeležba v nacionalnih ali mednarodnih ocenah) kakovosti dela in rezultatov.



## 8. LITERATURA

1. CLSI document GP16-A3. Urinalysis; Approved Guideline – Third Edition. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
2. Skitek M, Trampuš Bakija A. Priporočeni postopek za odvzem, zbiranje, hranjenje, stabiliziranje in transport urina, Slovensko združenje za klinično kemijo, Ljubljana 2001.
3. ECLM. European Urinalysis Guidelines. *Scan J Clin Lab Invest.* 2000; 60: 1-96.
4. Fogazzi GB. *The Urinary Sediment. An Integrated View.* Third Edition. Milano; Elsevier Masson, 2009.
5. Lindič J, Kovač D, Kveder R, Malovrh M, Pajek J, Rigler AA, Škoberne A. *Bolezni ledvic.* Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo: Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo. Ljubljana, 2014.
6. Wang JM, Wen CY, Lin CY, Li JY, Lee CH, Wu MF. Evaluating the performance of urine conductivity as screening for early stage chronic kidney disease. *Clin Lab.* 2014; 60(4): 635-43.
7. Urine anion and osmolal gaps in metabolic acidosis Emmet M. Urine anion and osmolal gaps in metabolic acidosis. Dostopno na: <https://www.uptodate.com/contents/urine-anion-and-osmolal-gaps-in-metabolic-acidosis> Dostop: 17. julij 2019.
8. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics.* 5<sup>th</sup> ed. St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders, 2012.
9. *Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.* *Kidney International Supplements,* 2013; 3(1).
10. Julian BA, Suzuki H, Suzuki Y, Tomino Y, Spasovski G, Novak J. Sources of Urinary Proteins and their Analysis by urinary Proteomics for the Detection of Biomarkers of Disease. *Proteomics Clin Appl.* 2009; 3(9): 1029-43.
11. Butterfield WJH, Keen H, Whichelow MJ. Renal Glucose Threshold Variations with Age. *Br Med J.* 1967; 4: 505-7.
12. Haber MH, Blomberg D, Galagan K, Gassy EF, Ward PCJ. *Colour atlas of the urinary sediment: an illustrated field guide based on proficiency testing.* Northfield, Ill.: College Of American Pathologists, 2010: 44.

13. Johnson RJ, Feehally J. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Second edition. Philadelphia, PA: Elsevier Mosby, 2003: 14-25.
14. Šter M, Žnidaršič J, Skitek M. Določitev referenčnih vrednosti in štetja celic po Stansfeld-Webbu v seču. *Farm Vest*. 2004; 55: 328-9.
15. Patel HP. The Abnormal Urinalysis. *Pediatr Clin North Am*. 2006; 53 (3): 325-37.
16. Fogazzi GB, Verdesca S, Garigali G. Urinalysis: Core Curriculum 2008. *Am J Kidney Dis*. 2008; 51(6): 1052-67.
17. Wald R. Urinalysis in the diagnosis of kidney disease. In: Lam AQ, editor. Dosegljivo na: <https://www.uptodate.com/contents/urinalysis-in-the-diagnosis-of-kidney-disease>. Dostop: 25. september 2018.
18. Lerma EV and Nissenson AR. Urinalysis. In *Nephrology Secrets*. Third Edition. Philadelphia, PA: Elsevier Mosby, 2012.
19. Cavanaugh C, Perazella MA. Urine Sediment Examination in the Diagnosis and Management of Kidney Disease: Core Curriculum 2019. *Am J Kidney Dis*. 2018; 73 (2): 258-72.
20. Skorecki K, Chertow GM, Marsden PA, Taal MW, Yu ASL. *Brenner & Rector's The Kidney*. Tenth edition. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016: 780-803.
21. McPherson RA, Pincus MR. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Edition 23. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2017, 442-80.
22. Lindič J, Flisar Ž, Krsnik M, Gorenjak M, Hojs R, Lainščak M, Meško PB, Možina B, Zaletel JV. Presejalne metode za kronično ledvično bolezen: Ocena proteinurije in albuminurije. *ISIS*, 2009; 4: 42-6.
23. Pravilnik o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za opravljanje preiskav na področju laboratorijske medicine. Uradni list Republike Slovenije, št.64/2004: 8129-32.
24. Pravilnik o spremembah in dopolnitvah Pravilnika o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za opravljanje preiskav na področju laboratorijske medicine. Uradni list Republike Slovenije, št. 1/2016: 14-5.

## Priloga 1

### **Določanje številčne koncentracije eritrocitov in levkocitov v nativnem urinu po Stansfeld – Webbu (SW)**

Z mikroskopom in števno komoro (npr. Bürker-Türkova) preštujemo eritrocite in levkocite v nativnem urinu. Analiziramo le sveže vzorce.

Urin dobro premešamo tako, da zamašeno epruveto desetkrat obrnemo. S Pasteurjevo ali drugo pipeto napolnimo komoro. Levkocite in eritrocite najprej prepoznamo pri večji povečavi (400×), nato pa jih preštujemo pri manjši (100×) povečavi svetlobnega mikroskopa. Pri zelo številnih celicah urin redčimo s fiziološko raztopino in razredčitev upoštevamo v izračunu.

Rezultate podamo kot število celic  $\times 10^6/L$  urina.

Primer izračuna:

$$\text{število celic } (10^6/L) = \frac{\text{število celic na določeni površini} \times \text{razredčitev}}{\text{volumen dela komore, kjer smo šteli}}$$

V laboratorijskih postopkih mora imeti vsak izvajalec preiskave opredeljeno površino/volumen in način štetja celic.

V nativnem urinu so orientacijske referenčne vrednosti številčne koncentracije eritrocitov do  $10 \times 10^6/L$ , za levkocite pa do  $15 \times 10^6/L$ .

Štetje v komori zahteva dodatno znanje in izkušnost, zato to preiskavo izvaja le ustrezno usposobljeno osebje.

**Priporočilo za nivo: 1, 2, 3 , če je osebje usposobljeno**









