بسم الله الرحمن الرحیم

The Pre-analytical Errors and Challenges of Routine Urinalysis

Dr. Amin Solouki

Faculty Member at Varastegan Institute for Medical Sciences

PhD, Hematology and transfusion medicine (SBMU)

MSC, Hematology and blood banking (IBTO)

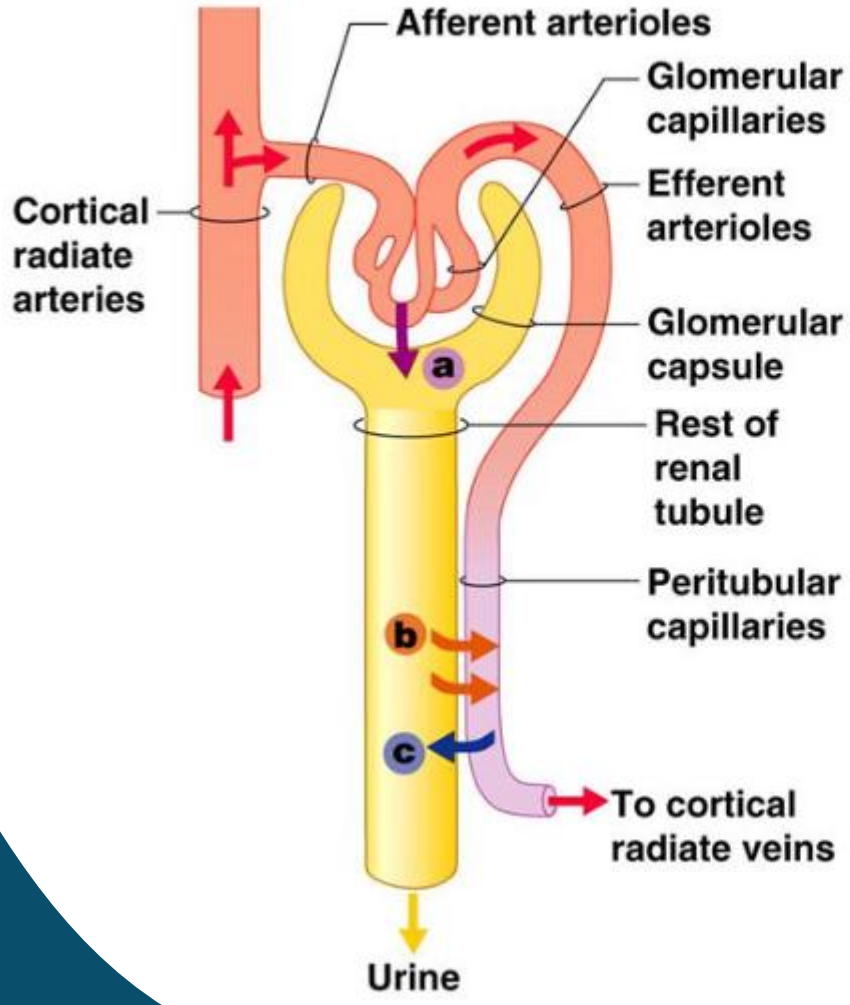
BS, Medical Laboratory Science (GMU)

Amin_Solouki

AminSolouki

Urine production

Urine Formation



KEY:

a → **Glomerular Filtration:** Water and solutes smaller than proteins are forced through the capillary walls and pores of the glomerular capsule into the renal tubule.

b → **Tubular Reabsorption:** Water, glucose, amino acids, and needed ions are transported out of the filtrate into the tubule cells and then enter the capillary blood.

c → **Tubular Secretion:** H^+, K^+, creatinine, and drugs are removed from the peritubular blood and secreted by the tubule cells into the filtrate.

Composition of human urine

- ✓ Water – 96%
- ✓ Urea – 2%
- ✓ Uric acids, creatinine, pigments- 0.3%
- ✓ Inorganic salts – 2%
- ✓ Pale yellow color due to urobilinogen, … (which is a breakdown product of hemoglobin)

انواع نمونه های ادرار

۱- نمونه اول صبح: نمونه ایده آل ادرار

نمونه ای که در طی ۸ ساعت شب در مثانه جمع شده است و دارای غلظت و ثبات ترکیبی مناسب جهت تست کامل و کشت ادرار و تست های مختلف بر پایه ادرار می باشد.

این تغلیظ جهت جلوگیری از پاسخ های منفی کاذب در آزمون های حاملگی و ارزیابی پروتئینوری ضروری است.

نمونه ناشتا: با نمونه صبحگاهی فرق دارد. در نمونه ناشتا، دور ریختن ادرار صبحگاهی و پس از مدتی ناشتایی، نمونه جمع آوری می شود که برای کنترل گلوکز مناسب است.

انواع نمونه های ادرار

۲-نمونه ادرار تصادفی (رندوم)

در هر زمان از شبانه روز جمع آوری می گردد و صرفا در زمانهای اورژانس کاربرد دارد و شدیدا وابسته به وضعیت هیدراتاسیون بیمار می باشد. برای آزمونهای غربالگری روزمره برای کشف ناهنجاریهای واضح کاربرد دارد. معایب آن متغیر بودن رقت ادرار است.

۳-نمونه ی ۲ ساعت پس از غذا

تخلیه ادرار قبل از خوردن غذای معمولی، سپس جمع آوری تا ۲ ساعت پس از خوردن غذا بیشتر برای کنترل گلوکز در بیماران دیابتی بکار می رود.

۴-نمونه ی آزمون تحمل گلوکز

به همراه نمونه های خون ناشتا، نیم ساعت، یک ، دو و سه ساعته ، نمونه گیری ادرار انجام می شود. عمدتا از نظر کتون و گلوکز آزمایش می شوند.

انواع نمونه های ادرار

❖ نمونه های زمان دار ادرار Timed urine

✓ نمونه ۲ ساعته

جهت اندازه گیری کمی اوروبیلینوژن کاربرد دارد و زمان مناسب آن ۲ یا ۴ عصر می باشد.

✓ نمونه ادرار ۱۲ ساعته

بیشتر جهت بررسی عناصر سلولی رسوب ادرار کاربرد دارد و به همین دلیل ظرف بایستی حاوی فیکساتیو فرمالین یا در شرایط یخچالی جمع آوری شده باشد. در ضمن بایستی مشابه ادرار ۲۴ ساعته با تخلیه اولین ادرار و جمع آوری آخرین نوبت ادرار همراه باشد

✓ نمونه ادرار ۲۴ ساعته

در این نمونه ضمن رعایت دفع کامل اولین نوبت ادرار و جمع آوری کامل نوبت آخر ادرار، بایستی حجم کامل و دقیق جمع آوری گردد و ظرف حتی الامکان در جای خنک نگاه داری گردد و در ارتباط با تست های خاص ظرف حاوی نگه دارنده متناسب باشد

انواع نمونه های ادرار

❖ نمونه تخلیه شده

- ✓ برخی از اورولوژیستها ترجیح می دهند ادرار بیمار در سه ظرف جداگانه جمع آوری شود. کدورت در ظرف اول نشانگر عفونت در میزراه می باشد، در حالی که در ظرف دوم و سوم نشان دهنده عفونت در مثانه و کلیه هاست
- ✓ گاهی با ماساژ پروستات می توان نمونه چهارم را انجام داد که شمارش زیاد باکتری در این نمونه تورم پروستات را نشان می دهد.

انواع نمونه های ادرار

❖ **نمونه برداری از سوند های طولانی مدت (سوند فولی)**

- ✓ سوند را در محل قبل از نقطه اتصال به لوله کیسه ادرار با یک پنس یا وسیلۀ مشابه مسدود میکنیم (حدود یک ساعت)
- ✓ سپس لوله کیسه ادرار را جدا کرده و محل اتصال را با الکل تمیز کرده و به وسلیۀ سرنگ نمونه گیری می کنیم
- ✓ همچنین می توان پس از باز کردن محل انسداد و خروج مقداری از ادرار بقیه نمونه را در ظرف استریل جمع آوری کرد .
- ✓ توجه : نمونه گیری ادرار نباید از کیسۀ ادرار انجام شود

انواع نمونه های ادرار

❖ نمونه برداری از کیسه ادرار کودکان

- ✓ چسب کیسه ادرار بایستی ضد حساسیت و با قدرت چسبندگی مناسب باشد.
- ✓ منطقه تناسلی کودک بایستی با آب و صابون به طور کامل شستشو و خشک گردد خصوصا ناحیه پرینه و پوبیس (برای جلوگیری از آلودگی ادرار با مدفوع)
- ✓ در ضمن پوست ناحیه نبایستی حاوی روغن " پودر یا لوسیون باشد.
- ✓ پس از فیکس نمودن کیسه ادرار بهتر است از جانب مادر یا همراه کودک هر ۱۵ دقیقه ورود ادرار به کیسه کنترل گردد و به محض جمع آوری نمونه از محل جدا و سپس برچسب روی آن و درب کیسه محکم بسته شود
- ✓ اطلاعات لیبل روی کیسه و ظرف نگاه دارنده کیسه بایستی کامل باشد

انواع نمونه های ادرار

❖ چند نکته مهم:

- ✓ اگر یک نمونه واحد برای اندازه گیریهای متعدد ارائه شود، در صورتی که به طور صحیح جمع آوری شده باشد، ابتدا باید مورد بررسی میکروبی قرار گیرد
- ✓ نمونه مربوط به اطفال و بیماران مبتلا به نارسایی حاد کلیه ممکن است دارای حجم اندکی از ادرار باشد لذا در ابتدا باید با دقت آزمایشهای مورد نیاز جهت تشخیص بیماری را انجام داد.
- ✓ نمونه ادراری ۱۲ یا ۲۴ ساعته برای اندازه گیریهای کمی به نمونه های تصادفی ترجیح داده می شوند.

انواع نمونه های ادرار

نوع نمونه	هدف
تصادفی	غربالگری روزمره
اول صبح	غربالگری روزمره
	آزمون‌های حاملگی
	پروتئین اورتواستاتیکی
ناشتا	کنترل دیابت
دو ساعت پس از غذا	کنترل دیابت
	آزمون گلوکز
آزمون تحمل گلوکز	به همراه نمونه‌های خون در GTT
نمونه‌های ۲۴ ساعته	آزمون‌های شیمیایی کمی
کاتتر	کشت باکتریایی
تمیز گرفته شده میانی	غربالگری روزمره
	کشت باکتریایی
آسپیراسیون بالای عانه	کشت باکتریایی

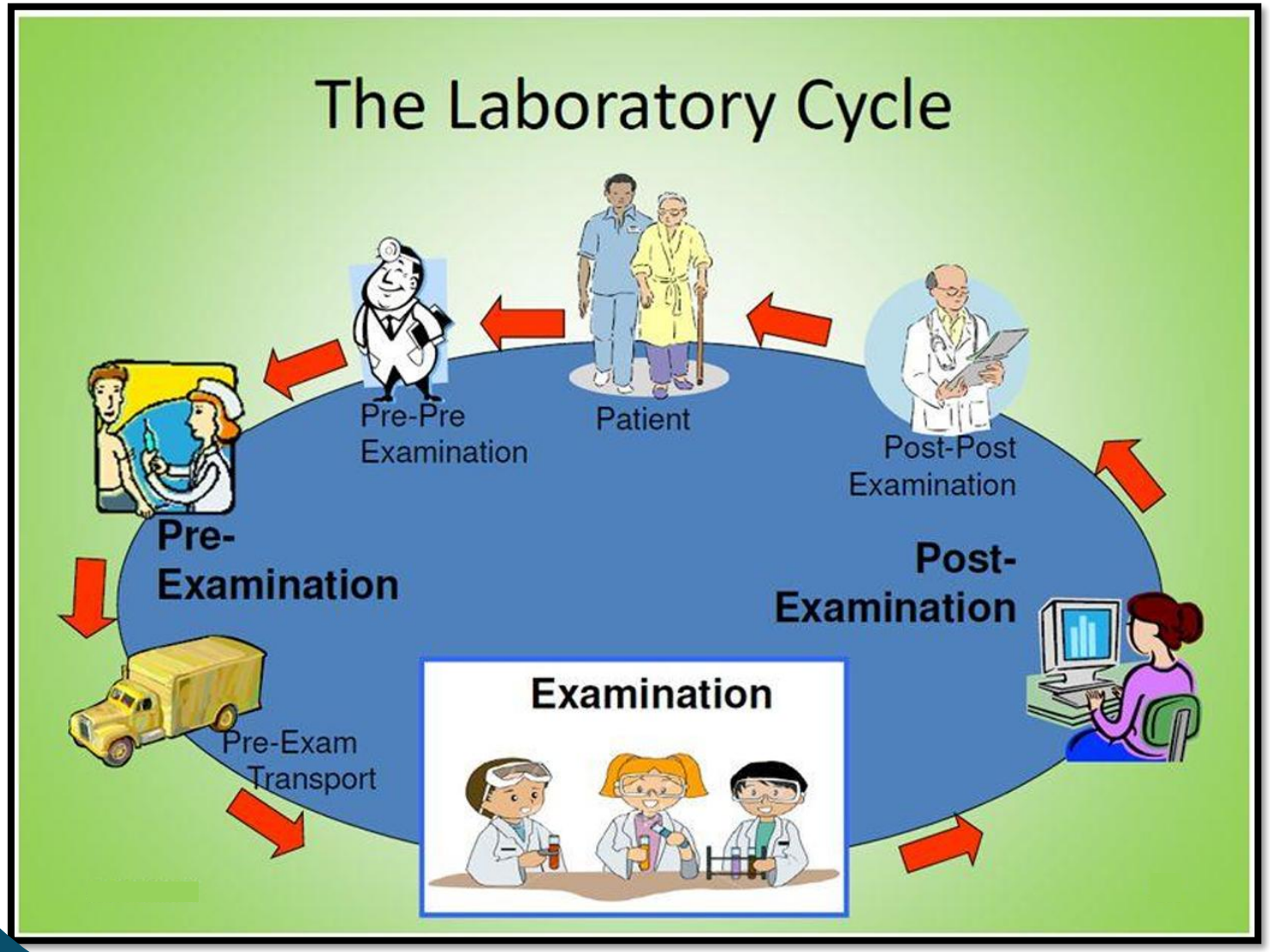
Laboratory Errors

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

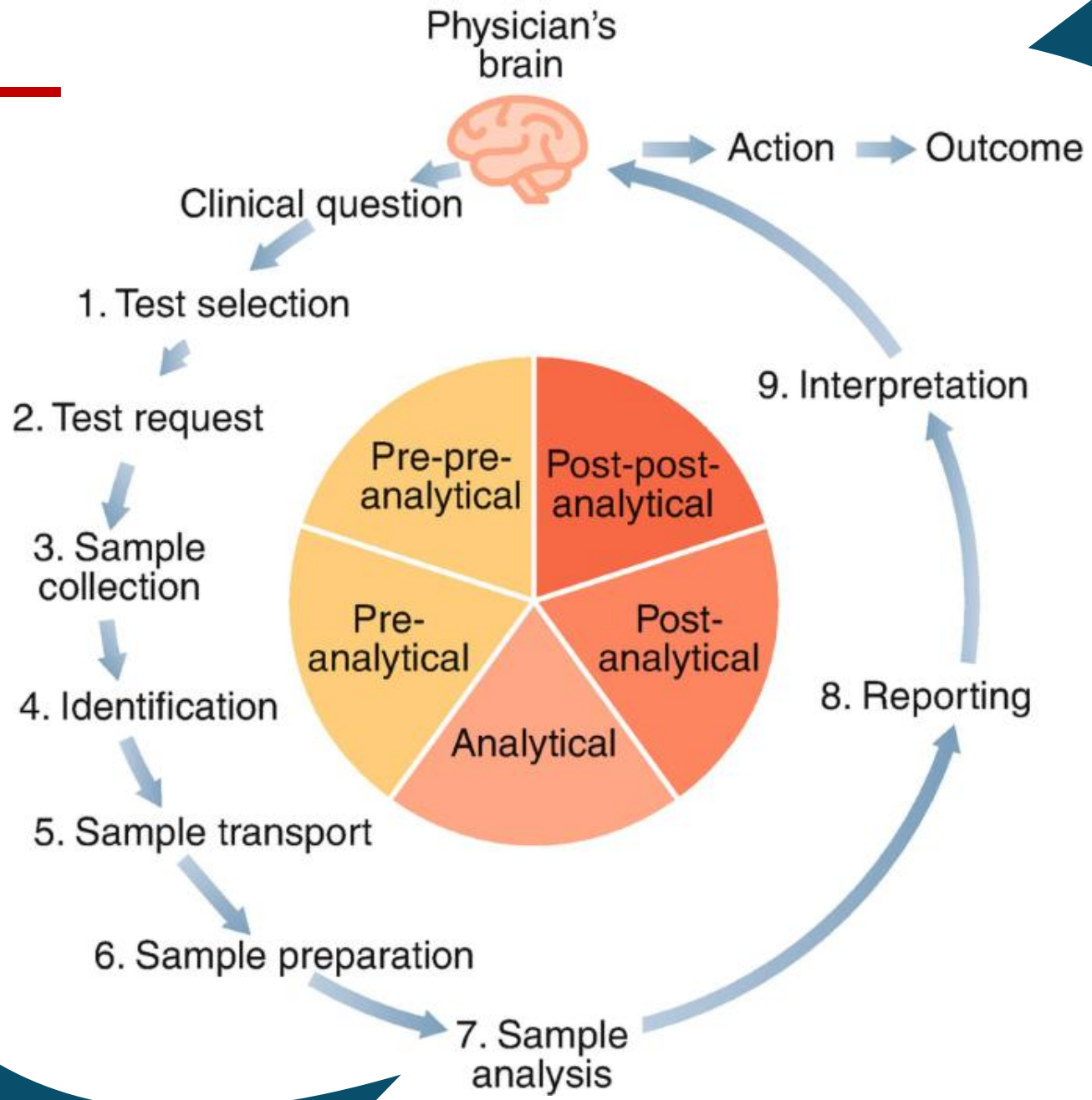
Laboratory Errors

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

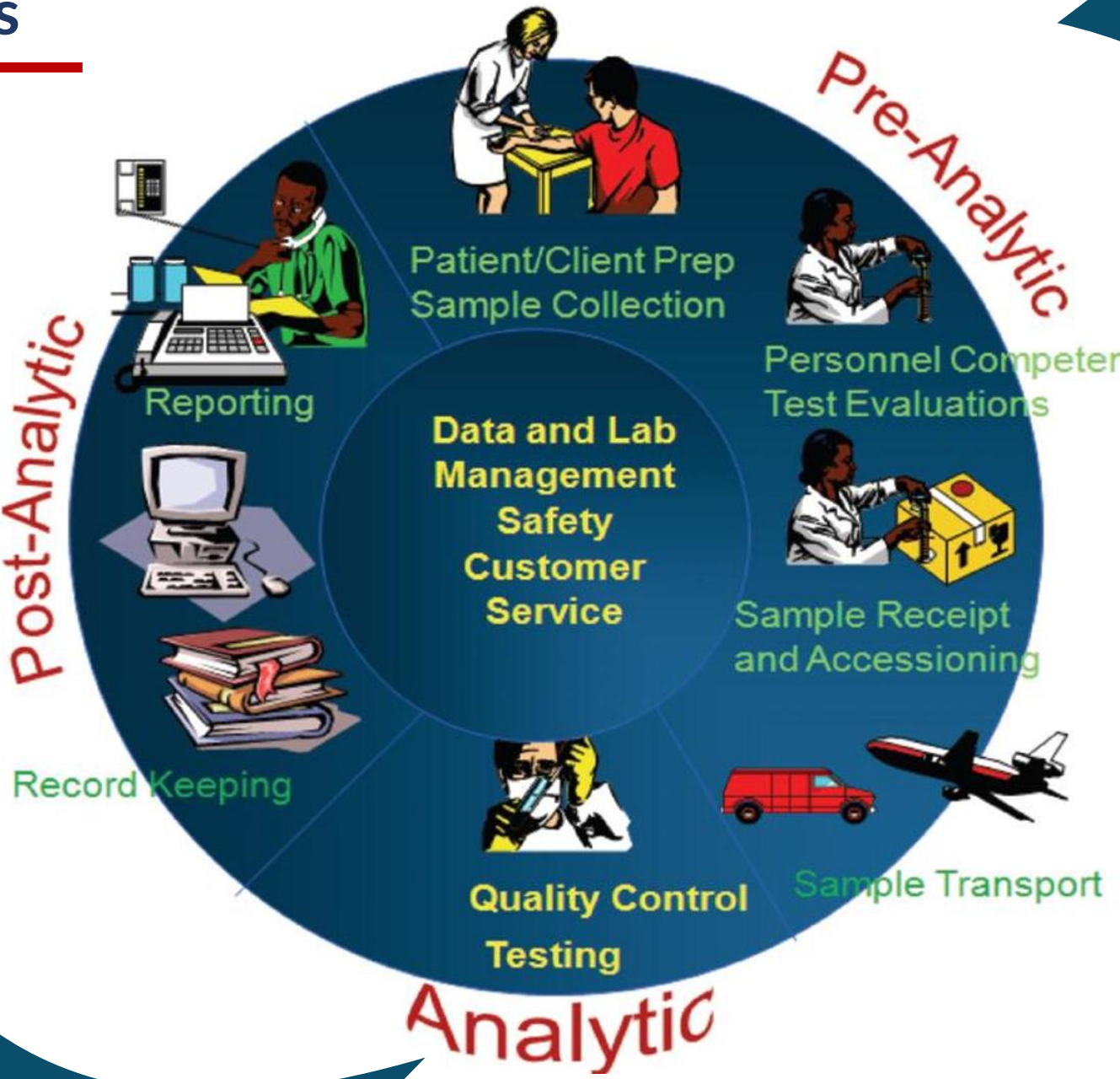
Laboratory Errors



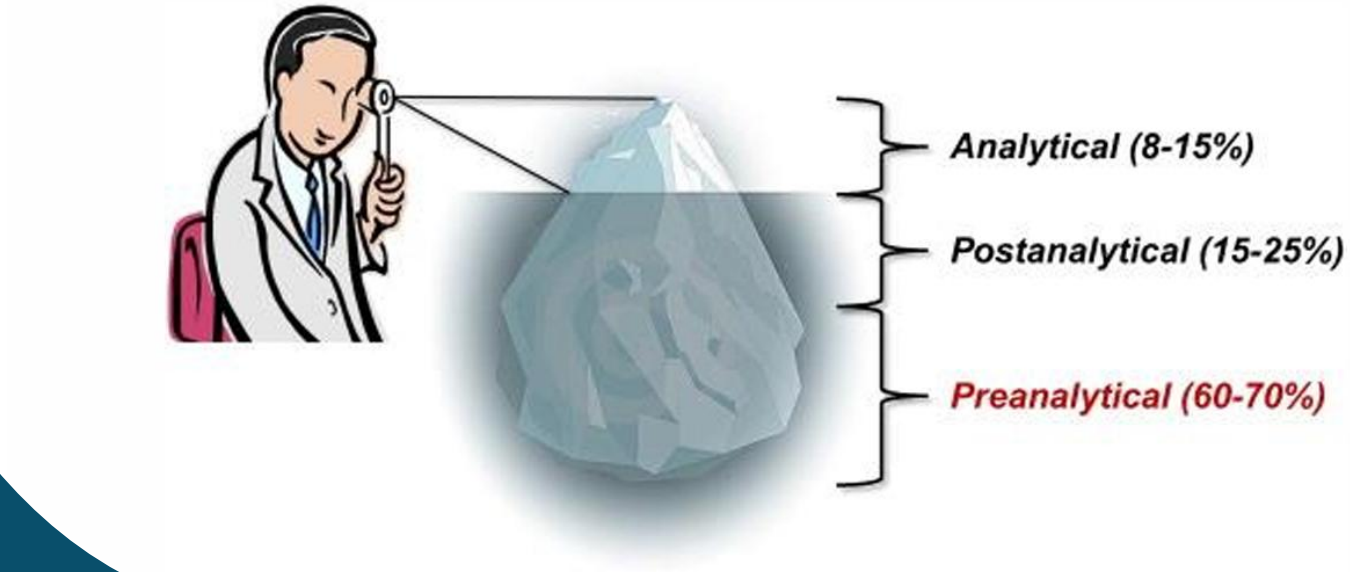
Laboratory Errors



Laboratory Errors



Laboratory Errors



Common Pre-analytic Errors

TABLE 3.1

Common Preanalytic Errors

Phase	Error
Before Collection	1. Incorrect test ordered 2. Inadequate patient preparation (e.g., not fasting, recent heavy meal—lipemia) or improper timing (e.g., trough drug level drawn too early) 3. Misidentification of patient
During Collection	1. Wrong container/wrong additive 2. Short draws/wrong anticoagulant/blood ratio 3. Hemoconcentration from prolonged tourniquet time 4. Hemolysis due to incorrect technique (e.g., forcing blood through needle, draw via intravenous line)
After Collection	1. Inadequate mixing/clots 2. Mislabeling of specimen 3. Improper transport to lab: Exposure to light/extreme temperatures or delayed delivery 4. Processing errors: Incomplete centrifugation, incorrect log-in, improper storage or aliquoting prior to analysis

Laboratory Errors

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

Laboratory Errors

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

❖ منابع خطای رایج در حوزه قبل از آنالیز ادرار

۱-پائین بودن دانش فنی کارکنان پذیرش و نمونه برداری در حوزه قبل از آنالیز ادرار

۲-عدم کنترل و اطمینان از هویت بیمار قبل از تحویل ظروف ادرار

۳-عدم تعریف دستور العمل های ساده مکتوب و شفاهی کاربردی جهت آماده سازی یا اطلاع رسانی به بیمار در حوزه بیوشیمی ادرار و آنالیز ادرار

مثال : جهت دریافت هر نمونه کشت ادرار الزاما بایستی مصرف آنتی بیوتیک و علائم بالینی اصلی عفونت ادراری نظیر سوزش و تکرر از بیمار سوال و در شرح حال اولیه بیمار در پذیرش کامپیوتر ثبت گردد

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

❖ منابع خطای رایج در حوزه قبل از آنالیز ادرار

۴-عدم تعیین نحوه تماس با بیمار در موارد ضروری(عدم ثبت تلفن بیمار)

۵-فقدان برنامه در ارتباط با نحوه پذیرش و تعیین زمان انجام آزمایش اورژانس کامل ادرار

۶-آلودگی نمونه ادرار با مدفوع یا سایر ترشحات خصوصا در ارتباط با نمونه بیماران بستری یا نمونه های دریافتی از سایر مراکز آزمایشگاهی

۷-عدم تعریف معیارهای رد نمونه در بخش کامل ادرار(حجم ناکافی کمتر از ۱۰ میلی لیتر)

۸- عدم تناسب حجم کار و فعالیت با نیروی موجود در بخش پذیرش و نمونه برداری

مثال :کمبود نیروی انسانی دفتری یا نمونه برداری منجر به عدم اطلاع رسانی کافی به بیماران در ارتباط با نحوه جمع آوری نمونه های ادرار یا تعیین هویت نادرست بیمارمی گردد.

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

❖ منابع خطای رایج در حوزه قبل از آنالیز ادرار

۹- خطا های لیبلینگ یا برچسب زنی (فقدان لیبل / لیبل ناخوانا / لیبل اشتباه یا ناقص) در ظروف نمونه ادرار رندوم و زمان دار)

۱۰- آلودگی ظروف نمونه ادرار به دترجنتها و اکسیدانهای قوی (استفاده مکرر و نادرست از ظروف)

۱۱-دمای نامناسب محیط آزمایشگاه در طول نگهداری(گرما یا سرما)

۱۲- فقدان مکان مناسب جهت نگهداری و انتقال مناسب نمونه ادرار

۱۳- استفاده از ادرار کهنه به جای ادرار تازه شایعترین منبع خطا قبل از آنالیز در بخش آنالیز کامل ادرار می باشد.

(نگهداری طولانی مدت؛ بیش از ۲ ساعت ادرار در حرارت اتاق، نمونه ادرار کهنه می گردد)

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

TABLE 29.3
Urine Color Changes with Commonly Used Drugs*

Drug	Color
Alcohol, ethyl	Pale, diuresis
Anthraquinone laxatives (senna, cascara)	Reddish, alkaline; yellow-brown, acid
Chlorzoxazone (Paraflex; muscle relaxant)	Red
Deferoxamine mesylate (Desferal; chelates iron)	Red
Ethoxazene (Serenium; urinary analgesic)	Orange, red
Fluorescein sodium (given IV)	Yellow
Furazolidone (Furoxone, Tricofuron; an antibacterial, antiprotozoal nitrofuran)	Brown
Indigo carmine dye (renal function, cystoscopy)	Blue
Iron sorbitol (Jectofer; possibly other iron compounds forming iron sulfide in urine)	Brown on standing
Levodopa (L-dopa; for parkinsonism)	Red then brown, alkaline
Mepacrine (Atabrine; antimalarial, intestinal worms, *Giardia*)	Yellow
Methocarbamol (Robaxin; muscle relaxant)	Green-brown
Methyldopa (Aldomet; antihypertensive)	Darkens; if oxidizing agents present, red to brown
Methylene blue (used to delineate fistulas)	Blue, blue-green
Metronidazole (Flagyl; for *Trichomonas* infection, amebiasis, *Giardia*)	Darkening, reddish brown
Nitrofurantoin (Furadantin; antibacterial)	Brown-yellow
Phenazopyridine (Pyridium; urinary analgesic), also compounded with sulfonamides (e.g., Azo Gantrisin)	Orange-red, acid pH
Phenindione (Hedulin; anticoagulant. Important to distinguish from hematuria)	Orange, alkaline; color disappears on acidifying
Phenol poisoning	Brown; oxidized to quinones (green)
Phenolphthalein (purgative)	Red-purple, alkaline pH
Phenolsulfonphthalein (also sulfobromophthalein)	Pink-red, alkaline pH
Rifampin (Rifadin, Rimactane; tuberculosis therapy)	Bright orange-red
Riboflavin (multivitamins)	Bright yellow
Sulfasalazine (Azulfidine; for ulcerative colitis)	Orange-yellow, alkaline pH

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

TABLE 29.3

Urine Color Changes with Commonly Used Drugs*

Drug	Color
Alcohol, ethyl	Pale, diuresis
Anthraquinone laxatives (senna, cascara)	Reddish, alkaline; yellow-brown, acid
Chlorzoxazone (Paraflex; muscle relaxant)	Red
Deferoxamine mesylate (Desferal; chelates iron)	Red
Ethoxazene (Serenium; urinary analgesic)	Orange, red
Fluorescein sodium (given IV)	Yellow
Furazolidone (Furoxone, Tricofuron; an antibacterial, antiprotozoal nitrofuran)	Brown
Indigo carmine dye (renal function, cystoscopy)	Blue

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

Iron sorbitol (Jectofer; possibly other iron compounds forming iron sulfide in urine)	Brown on standing
Levodopa (L-dopa; for parkinsonism)	Red then brown, alkaline
Mepacrine (Atabrine; antimalarial, intestinal worms, *Giardia*)	Yellow
Methocarbamol (Robaxin; muscle relaxant)	Green-brown
Methyldopa (Aldomet; antihypertensive)	Darkens; if oxidizing agents present, red to brown
Methylene blue (used to delineate fistulas)	Blue, blue-green
Metronidazole (Flagyl; for *Trichomonas* infection, amebiasis, *Giardia*)	Darkening, reddish brown
Nitrofurantoin (Furadantin; antibacterial)	Brown-yellow
Phenazopyridine (Pyridium; urinary analgesic), also compounded with sulfonamides (e.g., Azo Gantrisin)	Orange-red, acid pH
Phenindione (Hedulin; anticoagulant. Important to distinguish from hematuria)	Orange, alkaline; color disappears on acidifying
Phenol poisoning	Brown; oxidized to quinones (green)

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

Methylene blue (used to delineate fistulas)	Blue, blue-green
Metronidazole (Flagyl; for *Trichomonas* infection, amebiasis, *Giardia*)	Darkening, reddish brown
Nitrofurantoin (Furadantin; antibacterial)	Brown-yellow
Phenazopyridine (Pyridium; urinary analgesic), also compounded with sulfonamides (e.g., Azo Gantrisin)	Orange-red, acid pH
Phenindione (Hedulin; anticoagulant. Important to distinguish from hematuria)	Orange, alkaline; color disappears on acidifying
Phenol poisoning	Brown; oxidized to quinones (green)
Phenolphthalein (purgative)	Red-purple, alkaline pH
Phenolsulfonphthalein (also sulfobromophthalein)	Pink-red, alkaline pH
Rifampin (Rifadin, Rimactane; tuberculosis therapy)	Bright orange-red
Riboflavin (multivitamins)	Bright yellow
Sulfasalazine (Azulfidine; for ulcerative colitis)	Orange-yellow, alkaline pH

Changes in Urine with Delayed Testing

❖ تغییرات عمده در نمونه ادرار کهنه (Old urine)

۱- تغییر رنگ ادرار بواسطه شکست رنگدانه های ادرار نظیر هموگلوبین، پورفیرین ها، ملانین و ...

۲- تغییر بوی ادرار بواسطه رشد باکتریها و تغییر ترکیبات

۳- افزایش کدورت ادرار بواسطه تکثیر باکتریها، تشکیل کریستالها، تشکیل مواد آمورف و ...

۴- pH کاذب پائین : تولید اسید و الکل از گلوکز توسط باکتریها و تولید دی اکسید کربن

۵- pH کاذب بالا : شکستن اوره به آمونیاک توسط باکتری

۶- قند کاذب پائین : گلیکولیز قند توسط باکتری ها

۷-کتون منفی کاذب : شکست استواستات توسط باکتری ها

Changes in Urine with Delayed Testing

❖ تغییرات عمده در نمونه ادرار کهنه (Old urine)

۸-بیلی روبین منفی کاذب شکست بیلی روبین در حضور نور و اکسیداسیون آن به بیلی وردین

۹- اوروبیلینوژن منفی کاذب به علت شکست آن در مقابل نور

۱۰- نیتریت مثبت کاذب به علت تکثیر باکتری های مولد نیتریت

۱۱- نیتریت منفی کاذب : به علت تبدیل نیتریت به نیتروژن و تبخیر آن

۱۲- افزایش باکتری : به علت تکثیر ضربدری و لگاریتمیک باکتری ها

۱۳- تخریب سلول و کست در محیط قلیائی

Changes in Urine with Delayed Testing

TABLE 3.6

Changes in Urine with Delayed Testing

Result	Reason
Changes in color	Breakdown or alteration of chromogen or other urine constituent (e.g., hemoglobin, melanin, homogentisic acid, porphyrins)
Changes in odor	Bacterial growth, decomposition
Increased turbidity	Increased bacteria, crystal formation, precipitation of amorphous material
Falsely low pH	Glucose converted to acids and alcohols by bacteria producing ammonia; carbon dioxide (CO_2) lost
Falsely elevated pH	Breakdown of urea by bacteria, forming ammonia
False-negative glucose	Utilization by bacteria (glycolysis)
False-negative ketone	Volatilization of acetone; breakdown of acetoacetate by bacteria
False-negative bilirubin	Destroyed by light; oxidation to biliverdin
False-negative urobilinogen	Destroyed by light
False-positive nitrite	Nitrite produced by bacteria after specimen is voided
False-negative nitrite	Nitrite converts to nitrogen and evaporates.
Increased bacteriuria	Bacteria multiply in specimen before analysis.
Disintegration of cells/casts	Unstable environment, especially in alkaline urine, hypotonic urine, or both

شرایط آمادگی بیمار قبل از جمع آوری نمونه کشت ادرار

❖ **شرایط آمادگی بیمار قبل از جمع آوری نمونه کشت ادرار**

۱ – در مواردی که بیمار سوند ندارد ، بهترین نمونه اولین ادرار صبحگاهی تغلیظ شده است که به مدت هشت ساعت داخل مثانه باقی مانده است

۲– بیمار نبایستی در ۴۸ ساعت گذشته آنتی بیوتیک مصرف کرده باشد مگر با تجویز پزشک معالج

۳– بیمار باید از خوردن مایعات اضافی جهت دفع ادرار خودداری کند زیرا موجب رقیق شدن ادرار و کاهش تعداد باکتری می گردد.

۴– برای کشت ادرار بیماران بدون علامت باید از سه نمونه ادرار صبحگاهی که در سه روز متوالی جمع آوری شده است ، استفاده کرد

شرایط آمادگی بیمار قبل از جمع آوری نمونه کشت ادرار

❖ Patient preparation and sampling procedures

- ✓ The clinical laboratory is responsible for providing the correct information regarding optimal patient preparation and best collection procedure. Informing the patient goes far beyond only explaining the practical aspects of urine collection.
- ✓ The effects of possible confounding factors (e.g. diuresis, dietary intake, physical exercise, …) should be stressed.
- ✓ If necessary illustrated instructions for sampling may be provided . This may include information about first morning urine, washing of the outer genitals with water and time of collection, if timed urine is to be collected.

شرایط آمادگی بیمار قبل از جمع آوری نمونه کشت ادرار

❖ **Which precautions should be implemented?**

- ✓ **Minimizing contamination is already achievable by implementation of simple precautionary measures.**
- ✓ **Washing the glans penis of men or the introitus of women results in a 20% reduction of false positive urine cultures .The use of antiseptics or soap cannot be recommended due to the influence on the viability of bacteria.**
- ✓ **When deciding the best procedure, the patient's characteristics (suspected microorganisms or presence of a urinary catheter) should be taken into consideration.**

شرایط آمادگی بیمار قبل از جمع آوری نمونه کشت ادرار

- **Which precautions should be implemented?**
  - ✓ **Sample quality can only be warranted if standardized instructions for urine collection are available. Midstream portions or clean-catch urine of first morning urine samples collected in a sterile container are the most commonly obtained specimens in clinical practice. However, overnight bacterial growth in the bladder may affect casts and cells.**
  - ✓ **Morphological studies could demonstrate a better reproducibility if incubation time was ±1–2 hr.**
  - ✓ **Using second morning urine specimens is sometimes recommended (urine samples voided 2 – 4 hr after the first morning urine) because of a better reproducibility in morphologic studies**
  - ✓ **Midstream urine is likely to be the most appropriate sample, since the presence of contaminating elements (e.g. bacteria, analytes and formed particles) are minimized**

Transport and storage of urine samples

- ✓ Time between sampling and performance of the examination procedure is critical for the reliability of urine results.
- ✓ Changes in concentration of urine constituents can appear, making the measured result useless.
- ✓ Most parameters critically depend on the time window between sampling and analysis. In particular in automated urinalysis, the importance of adherence to early time points in urinalysis (<u>within 90 min</u>) has been stressed

Transport and storage of urine samples

❖ **Use of preservatives**

- ✓ **Low osmolality, low relative density and alkaline pH can induce a rapid lysis of some urine particles after collection**
- ✓ **Addition of stabilizers usually prevents metabolic changes of urine analytes and overgrowth of bacteria.**
- ✓ **The value of preservatives for semiquantitative and qualitative assessment of urine cultures gets especially important when the sample transport times exceed 2 hr**

Transport and storage of urine samples

❖ **Use of preservatives**

- ✓ **However, preservatives may affect some chemical properties and alter the appearance of particles.**
- ✓ **Unfortunately, a universal preservative that allows a complete urinalysis does not (yet) exist.**
- ✓ **Lyophilized formulations are to be preferred as there is no risk of sample dilution or spillage.**
- ✓ **Also, containers supplemented with boric acid alone or in combination with formic acid or other stabilizing media are used**

Transport and storage of urine samples

❖ **Use of preservatives**

- ✓ White cells, casts, epithelial cells and bacteria are well preserved, whereas red cells tend to shrink and are less stable
- ✓ As no preservative seems ideal for all tests required from one sample, the fact that 24-h urine is only rarely needed, helps to solve this problem.
- ✓ Thus, spot urine in the morning is of equal value when proteinuria is differentiated. This is possible by correcting concentration to creatinine.

Transport and storage of urine samples

Table 2
Common urine preservatives and their interferences.

Preservative	Possible interference
Boric acid	Initial pH values are changed; borate may inhibit growth of *Pseudomonas* spp. The use of boric acid affects a number of test strip reactions [26].
Sodium azide	Recommended for preventing bacterial overgrowth [25]
Formaldehyde	False positive leukocyte esterase, peroxidase reaction and urobilinogen on strips, lowers pH [11]
Mercury salts	Negative leukocyte esterase reaction
Chloral hexidine	
Addition of polyethylene glycol (20 g/L) to the ethanol fixative (Saccomanno's fixative) (Schuman)	Cellular analysis

Transport and storage of urine samples

Influence of temperature on stability of particle analysis (adapted from reference 21).

Particle	-20 °C	4-8 °C	20-25 °C
Red blood cell	NA	1-4 h	1 h - 24 h (> 300 mOsmol/kg)
White blood cell	NA	1-4 h	1 h (pH > 7.5) - 24 h (pH < 6.5)
Acanthocytes	NA	2 days	1 day (> 300 mOsmol/kg)
Casts	Not allowed	NA	2 days
Bacteria	NA	24 h	1-2 h
Epithelial cells	NA	NA	3 h

NA - data not available.

The exact sampling time and delays exceeding the specified limits should be documented

Transport and storage of urine samples

TABLE 1B. Influence of temperature on test strip analysis (adapted from reference 21).

Analyte	4-8 °C	20-25 °C
Red blood cells	1-3 h	4-8 h
White blood cells	1 day	1 day
Proteins	NA	> 2 h (unstable at pH > 7.5)
Glucose	2 h	< 2 h
Nitrites	8 h	4 days

NA - data not available.

The exact sampling time and delays exceeding the specified limits should be documented

Transport and storage of urine samples

نگهدارنده	
فرمالین ۴۰٪	نگهدارنده عالی رسوب است. با آزمون‌های احیاء مس برای گلوکز تداخل می‌کند. در تست ابرمایر برای اندیکان تداخل می‌کند. باعث تجمع رسوب می‌گردد. یک قطره برای ۱۰cc ادرار ۱۰cc برای ادرار ۲۴ ساعته
تیمول	گلوکز و رسوب را حفظ می‌کند. اگر غلظت آن در ادرار زیاد باشد در تست آلبومین به روش حرارت و اسید استیک ایجاد جواب مثبت کاذب می کند ولی در روش کالریمتری اختلال ایجاد نمی‌کند. و همچنین با آزمون اورتوتولوئیدین جهت گلوکز تداخل می‌کند ۵ml برای ۱۰۰cc ادرار
اسید بوریک	پروتئین و عناصر شکل‌دار را خوب حفظ می‌کند بجز PH با آزمون‌های معمول تداخل نمی‌کند PH را در حدود ۶ نگاه می‌دارد با آزمون‌های هورمونی و دارویی تداخل می‌کند و باعث رسوب بلورها می‌شود بخصوص اسیداوریک .در رشد قارچها مؤثر نمی‌باشد ۵mg برای ۳۰cc ادرار
فلورید سدیم	از گلیکولیز جلوگیری می‌کند و نگهدارنده خوب برای آزمایش داروهاست. اما آزمون نواری گلوکز را مهار می کند. اما در آزمون‌های هگزوکیناز تداخلی نمی‌کند گزیلوز ادرار را حفظ می‌کند.
اسیدکلریدریک	محافظ خوبی جهت نگهداری ادرار به منظور انجام تست‌های شیمیایی عموماً و خصوصاً تعیین مقدار متابولیت هورمون‌ها (VMA) می‌باشد از معایب آن خراب شدن عناصر سلولی و سیلندرها و رسوب اسیداوریک می‌باشد. ۱۰cc HCL غلیظ برای ادرار ۲۴ ساعته.
تولوئن	برای اجسام ستونی، ترکیبات احیاءکننده و پروتئین کاربرد دارد، مانع ورود هوا به نمونه شده مقدار آن به اندازه‌ای که یک لایه در سطح نمونه تشکیل دهد کافی است. از معایب آن قابل اشتعال بودن و مشکل پیپت کردن است و استفاده از آن توصیه نمی‌شود.
کلروفرم	محافظ ضعیفی برای اغلب تست‌های شیمیایی است. از جمله معایب آن تداخل در آزمایشات میکروسکوپی، احیاء نمودن فهلینگ و سمی بودن آن است.
کربنات سدیم	برای اندازه‌گیری پورفیرینها و ترکیبات وابسته مناسب است میزان مورد استفاده ۴-۵g برای ادرار ۲۴ ساعته است.
قرص‌های نگهدارنده	به‌صورت تجارتی تهیه می‌شوند برای اغلب تست‌های شیمیایی مناسب است مواد تشکیل دهنده آن شامل پتاسیم هیدروژن فسفات، سدیم بنزوات، اسید بنزوئیک، متیل آمین، بیکربنات سدیم، اکسید مرکوریک است. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم هورمون‌ها مناسب نیست وزن مخصوص را تا حدی افزایش می‌دهد. از قرص ۹۵mg جهت ۲۰ml ادرار

Transport and storage of urine samples

نگهدارنده	
فرمالین ۴۰٪	نگهدارنده عالی رسوب است. با آزمون‌های احیاء مس برای گلوکز تداخل می‌کند. در تست ابرمایر برای اندیکان تداخل می‌کند. باعث تجمع رسوب می‌گردد. یک قطره برای ۱۰cc ادرار ۱۰cc برای ادرار ۲۴ ساعته
تیمول	گلوکز و رسوب را حفظ می‌کند. اگر غلظت آن در ادرار زیاد باشد در تست آلبومین به روش حرارت و اسید استیک ایجاد جواب مثبت کاذب می کند ولی در روش کالریمتری اختلال ایجاد نمی‌کند. و همچنین با آزمون اورتوتولوئیدین جهت گلوکز تداخل می‌کند ۵ml برای ۱۰۰cc ادرار
اسید بوریک	پروتئین و عناصر شکل‌دار را خوب حفظ می‌کند بجز PH با آزمون‌های معمول تداخل نمی‌کند PH را در حدود ۶ نگاه می‌دارد با آزمون‌های هورمونی و دارویی تداخل می‌کند و باعث رسوب بلورها می‌شود بخصوص اسیداوریک .در رشد قارچ‌ها مؤثر نمی‌باشد ۵mg برای ۳۰cc ادرار
فلورید سدیم	از گلیکولیز جلوگیری می‌کند و نگهدارنده خوب برای آزمایش داروهاست. اما آزمون نواری گلوکز را مهار می کند. اما در آزمون‌های هگزوکیناز تداخلی نمی‌کند گزیلوز ادرار را حفظ می‌کند.

Transport and storage of urine samples

اسیدکلریدریک	محافظ خوبی جهت نگهداری ادرار به منظور انجام تست‌های شیمیایی عموماً و خصوصاً تعیین مقدار متابولیت هورمون‌ها (VMA) می‌باشد از معایب آن خراب شدن عناصر سلولی و سیلندرها و رسوب اسیداوریک می‌باشد. ۱۰cc HCL غلیظ برای ادرار ۲۴ ساعته.
تولوئن	برای اجسام ستونی، ترکیبات احیاءکننده و پروتئین کاربرد دارد، مانع ورود هوا به نمونه شده مقدار آن به اندازه‌ای که یک لایه در سطح نمونه تشکیل دهد کافی است. از معایب آن قابل اشتعال بودن و مشکل پیپت کردن است و استفاده از آن توصیه نمی‌شود.
کلروفرم	محافظ ضعیفی برای اغلب تست‌های شیمیایی است. از جمله معایب آن تداخل در آزمایشات میکروسکوپی، احیاء نمودن فهلینگ و سمی بودن آن است.
کربنات سدیم	برای اندازه‌گیری پورفیرینها و ترکیبات وابسته مناسب است میزان مورد استفاده ۵g- ۴ برای ادرار ۲۴ ساعته است.
قرص‌های نگهدارنده	به‌صورت تجارتی تهیه می‌شوند برای اغلب تست‌های شیمیایی مناسب است مواد تشکیل دهنده آن شامل پتاسیم هیدروژن فسفات، سدیم بنزوات، اسید بنزوئیک، متیل آمین، بیکربنات سدیم، اکسید مرکوریک است. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم هورمون‌ها مناسب نیست وزن مخصوص را تا حدی افزایش می‌دهد. از قرص ۹۵mg جهت ۲۰ml ادرار

24-Hour Urine Collection Preservatives

TABLE 3.7

24-Hour Urine Collection Preservatives

Preservative	Tests
None (refrigerate)	Amino acids, amylase, calcium, citrate, chloride, copper, creatinine, delta ALA, glucose, 5-HIAA, heavy metals (arsenic, lead, mercury), histamine, immunoelectrophoresis, lysozyme, magnesium, methylmalonic acid, microalbumin, mucopolysaccharides, phosphorus, porphobilinogen, porphyrins, potassium, protein, protein electrophoresis, sodium, urea, uric acid, xylose tolerance
10 g boric acid	Aldosterone, cortisol
10 mL 6N HCl	Catecholamines, cystine, homovanillic acid, hydroxyproline, metanephrines, oxalate, VMA
0.5 g sodium fluoride	Glucose
If processing delayed longer than 24 hours: equal amounts of 50% alcohol, Saccomanno's fixative, and SurePath or Preserve CT	Cytologic examination

ALA, Alanine aminotransferase; *5-HIAA,* 5-hydroxyindoleacetic acid; *VMA,* vanillylmandelic acid.

Transport and storage of urine samples

❖ **Use of preservatives**

- ✓ **Boric acid is considered to be a good preservative for flow cytometric urinalysis**
- ✓ **For urinary proteomics analysis, the urine should be centrifuged to remove cell debris and kept at 4 °C.**
- ✓ **The addition of boric acid (0.2 mol/L) or sodium azide (0.01 mol/L) is highly recommended for the prevention of bacterial overgrowth in the urine**
- ✓ **Chlorhexidine-containing preservative tubes seem advantageous for urine sample transport from outside healthcare services. These tubes offer comparable results with urine samples kept in a refrigerator for 4–8 hr for a broad spectrum of parameters**

Transport and storage of urine samples

آنالیز مواد و تغییرات بوجود آمده در ادرار محافظت نشده	
تغییرات رنگ	تجزیه یا تغییر شکل مواد رنگی یا دیگر ترکیبات ادرار (به عنوان مثال Hb و هموژانتزیک اسید)
تغییرات بو	رشد باکتری، فساد ادرار
افزایش کدورت	افزایش باکتری در ادرار، تشکیل کریستال، رسوب مواد بی‌شکل
کاهش PH بطور کاذب	تبدیل گلوکز به اسید و الکل توسط باکتری و مخمر
افزایش PH بطور کاذب	تجریه اوره توسط باکتری‌ها، تولید آمونیاک و خروج CO_2
گلوکز (منفی کاذب)	مصرف آن توسط باکتری
کتون (منفی کاذب)	تبخیر استون، تجزیه استواستات توسط باکتری
بیلی‌روبین (منفی کاذب)	تجزیه توسط نور، اکسیداسیون به بیلی وردین
اوروبیلینوزن (منفی کاذب)	تجزیه توسط نور
نیتریت (مثبت کاذب)	تولید نیتریت توسط باکتری بعد از تخلیه ادرار
نیتریت (منفی کاذب)	تبدیل نیتریت به نیتروژن و تبخیر آن
افزایش باکتری	تکثیر باکتری در نمونه
تجزیه سلول‌ها و کاستها	محیط ادراری ناپایدار، به ویژه ادرار قلیایی و رقیق

Transport and storage of urine samples

Table 4: Influence of preservatives on the most important test strip reactions

	Boric acid	Formaldehyde	Hg salts	Chloral hexidine
Leu	-	-	+/-	+/-
Ery	+	-	+	+/-
Bact	+	+	+	+
Prot	-	+	+	+
Glu	-	-	-	-
pH	-	-	-	-

-: no stabilisation , +: stabilisation, +/-: limited stabilisation

Adapted from reference 28

Transport and storage of urine samples

TABLE 2B. Influence of preservatives on test strip reactions.

Analyte	Boric acid	Formaldehyde	Hg salts	Chloral hexidine
Red blood cells				
White blood cells				
Proteins				
Glucose				
pH				
Bacteria				

Legend: Stabilisation Limited stabilisation No stabilisation

Transport and storage of urine samples

TABLE 2A. Influence of preservatives on particle analysis by flow cytometry.

Particle	Borate + Formiate + Sorbitol	10 mL/L Formaline 0.15 mol/L NaCl	80 mL/L Ethanol + 20 g/L PEG
Red blood cells	Good	Not good	Not good
White blood cells	Very good	Very good	Very good
Casts	Good	Not good	Not good
Epithelial cells	Very good	Good	Not good
Bacteria	Very good	Very good	Good

Legend: Very good Good Not good

Sample dilution, an important preanalytical challenge

- ✓ As hydration is a major preanalytical confounder in urinalysis, a number of reference parameters have been introduced to assess urine dilution and hydration.
- ✓ The most commonly used reference analytes are osmolality, specific gravity, conductivity and urinary creatinine determinations
- ✓ Relative volumic mass (relative density) and conductivity are commonly used alternatives. Due to its constant production rate, also urinary creatinine concentration is used as a marker for diuresis

Importance of the preanalytical phase in urine toxicology

- ✓ For inexpensive, noninvasive and quick substance abuse tests, urine is the preferred body fluid.
- ✓ After checking of the integrity of the sample, positive screening results should be confirmed.
- ✓ Appropriate collection, handling and testing of urine samples are necessary.
- ✓ Several specimen tampering methods have been used to avoid detection: dilution of the urine sample, substitution of urine by another fluid, adulteration by adding foreign material.
- ✓ An identification and laboratory data system should be implemented. Validity testing based can be based on several parameters: urinary creatinine concentration, specific gravity, pH, nitrite, and presence of exogenous or endogenous substances.

Importance of the preanalytical phase in urine toxicology

- A number of countermeasures should be taken to prevent contamination
  - ✓ placing bluing agent (dye) in the toilet bowl
  - ✓ requesting “photo” identification of the subject
  - ✓ leaving coats, briefcases or purses outside of the collection area;
  - ✓ washing and drying hands before providing a sample;
  - ✓ observation of collection
  - ✓ taking temperature of the urine within four minutes of collection
- Samples for toxicological analysis can be stored at a temperature of 2 – 8 °C for up to 5 days. Storage at ≤-5 °C is recommended if analysis has to be postponed for longer periods.

Importance of the preanalytical phase in urine toxicology

- Some OTC drugs (ephedrine, pseudoephedrine and phenylpropanolamine) may show cross-reactivity with amphetamines screening immunoassays
- Poppy food ingestion has been reported to be a cause of false-positive opiate drug tests
- Some additional requirements are prescribed for forensic specimens:
  - (a) storage of the sample in the original container,
  - (b) the number of freeze/thaw cycles should be minimized to reduce specimen degradation,
  - (c) use of control measures to ensure specimen integrity
  - (d) recordkeeping using internal and external chain-of-custody systems

داروهایی که مصرف آنها ،ممکن است به طور کاذب ، جواب تست اعتیاد را مثبت کند

اپیوئیدها(تریاک و ...)	دکسترومتورفان
	دیفن هیدرامین
	کدئین،مورفین
	ریفامپین
	وراپامیل
	کینین
	فلوروکینولون ها*

متادون	کلرپرومازین
	کلومیپرامین
	دیفن هیدرامین
	ایبوپروفن
	کوئتیاپین
	تیوریدازین
	وراپامیل

آمفتامین و متامفتامین (شیشه و ...)	آمانتادین
	بوپروپیون
	کلرپرومازین
	دزیپرامین
	دکستروآمفتامین
	افدرین
	ایزوکسوپرین
	لابتالول
	متیل فنیدیت
	فنیل افرین
	فنیل پروپانول آمین
	پرومتازین
	سودوافدرین
	رانی تیدین
	ریتودرین
	سلژیلین
	تیوریدازین
	ترازودون
	تریمیپرامین
	سرترالین

The Pre-analytical Errors in Urinalysis

جدول ۳-۲۹. تغییرات رنگ ادرار پس از مصرف داروهای رایج

دارو	رنگ
الکل، اتیل	کم‌رنگ، دیورز
آنتراکوئینون لاکساتیو (سنا، کاسکارا)	مایل به قرمز، قلیایی، زرد قهوه‌ای، اسید
کلرزوکسازون (پارافلکس) (شل کنندهٔ عضلانی)	قرمز
دفروکسامین مسیلات (دسفرال) (شلاته کنندهٔ آهن)	قرمز
اتوکسازن (سرنیوم) (بی‌حسی ادراری)	نارنجی، قرمز
فلورسین سدیم (IV)	زرد
فورازولیدون (فورکسون) (تریکوفورون) (یک آنتی‌باکتریال، نیتروفوران آنتی‌پروتوزوآ)	قهوه‌ای
رنگ نیلی کارمین (عملکرد کلیوی، سیتوسکوپ)	آبی
سوربیتول آهن (جکتوفر) (سایر ترکیبات آهن که سولفید آهن را در ادرار به وجود می‌آورد)	قهوه‌ای با گذشت زمان
لوودوپا (L دوپا) (برای پارکینسونیسم)	قرمز و سپس قهوه‌ای، قلیایی
میاکرین (آتابرین) (ضد مالاریا) (کرم‌های روده‌ای، ژیاردیا)	زرد
متاکاربامول (روباکسین) (شل کنندهٔ عضلانی)	سبز قهوه‌ای
متیل دوپا (آلدومت) (ضد فشارخون)	تیره، اگر عامل اکسیدکننده حضور داشته باشد قرمز مایل به قهوه‌ای
متیلن بلو (مورد استفاده در معین کردن فیستول)	آبی، آبی سبز
مترونیدازول (فلاگیل) (برای عفونت تریکومونایی، آمیب، ژیاردیا)	تیره، قهوه‌ای مایل به قرمز
نیتروفوران توئین (فورادانتین) (آنتی‌باکتریال)	قهوه‌ای زرد
فنازوپیریدین (پیریدیوم) (مسکن ادراری)، همچنین با سولفانامیدها (آزوگانتریسین و غیره) ترکیب می‌شود	نارنجی قرمز، pH اسیدی
فنیندیون (هدولین) (ضد انعقاد) (با اهمیت در تشخیص هماچوری)	نارنجی، قلیایی؛ با اسیدی کردن بی‌رنگ می‌شود.
مسمومیت با فنول	قهوه‌ای، به کوئینون اکسید می‌شود (سبز)
فنول فتالئین (ضد یبوست)	قرمز ارغوانی، pH قلیایی
فنول سولفون فتالئین (همچنین سولفوبروموفتالئین)	صورتی قرمز، pH قلیایی
ریفامپین (ریفادین، ریماکتان) (درمان سل)	نارنجی روشن قرمز
ریبوفلاوین (مولتی ویتامین‌ها)	زرد روشن
سولفاسالازین (آزولفیدین) (برای کولیت‌های زخمی)	نارنجی زرد، pH قلیایی

سایر داروهای شایع مورد استفاده که یکبار یا گاهی اوقات منجر به تغییر رنگ ادرار می‌شوند: آمی تریپتیلین (الاویل) = آبی سبز، فنوتیازین‌ها = قرمز تریامترن (دی‌رنیوم) = آبی کمرنگ (آبی فلورسانس در ادرار اسیدی).

جدول ۱-۳. خطاهای رایج قبل از آنالیز

مرحله	خطا
قبل از جمع‌آوری	۱. درخواست تست اشتباه
	۲. آماده‌سازی ناکافی بیمار (یعنی ناشتا نبودن، مصرف غذای سنگین – لیپمی) یا زمان‌بندی نادرست (مثلاً سطح پایه دارو زودتر از زمان مناسب سنجش شود)
	۳. شناسایی نادرست بیمار
در حین جمع‌آوری	۱. ظرف اشتباه/افزودنی اشتباه
	۲. نمونه کم/نسبت غلط ضد انعقاد به خون
	۳. افزایش غلظت خون[1] به دلیل بستن طولانی تورنیکت
	۴. همولیز به دلیل تکنیک غلط (مثل با فشار پر یا خالی کردن خون از طریق سوزن، خون گرفتن از وسایل داخل وریدی مثل آنژیوکت)
بعد از جمع‌آوری	۱. مخلوط کردن ناکافی/لخته
	۲. اشتباه برچسب زدن نمونه‌ها
	۳. انتقال نامناسب به آزمایشگاه: در معرض نور قرارگرفتن/دمای بسیار بالا یا پایین یا تأخیر در تحویل نمونه
	۴. خطاهای پردازش نمونه: سانتریفیوژ کردن ناقص، اشتباه وارد کردن به سیستم، ذخیره نامناسب یا تقسیم کردن نامناسب نمونه قبل از آنالیز

1. Hemoconcentration

جدول ۶-۳. تغییر در ادرار در اثر تأخیر در انجام تست

نتایج	علت
تغییر در رنگ (Changes in color)	تجزیه یا تغییر مواد رنگی یا دیگر ترکیبات ادرار (مثل هموگلوبین، ملانین، هموژنتیزیک اسید، پورفیرین‌ها)
تغییر بو (Changes in odor)	رشد باکتری، تجزیه
افزایش کدورت (Increased turbidity)	افزایش باکتری، تشکیل کریستال، رسوب مواد بدون شکل
کاهش کاذب pH (Falsely low pH)	گلوکز توسط باکتری‌های تولیدکننده آمونیوم، تبدیل به اسید و الکل شده است، CO_2 از بین رفته است
افزایش کاذب pH (Faslely elavated pH)	تجزیه اوره توسط باکتری‌ها و در نتیجه آمونیوم تشکیل می‌شود
منفی کاذب گلوکز (False negative glucose)	مصرف توسط باکتری‌ها (گلیکولیز)
منفی کاذب کتون (False negative glucose)	تبخیر استون، تجزیه استواستات توسط باکتری‌ها
منفی کاذب بیلی‌روبین (False negative bilirubin)	تخریب توسط نور، اکسیداسیون به بیلی‌وردین
منفی کاذب اوروبیلینوژن (False-negative urobilinogen)	تخریب توسط نور
مثبت کاذب نیتریت (False negative nitrite)	نیتریت تولید شده توسط باکتری بعد از دفع ادرار
منفی کاذب نیتریت (False negative nitrite)	نیتریت تبدیل به نیتروژن شده و تبخیر می‌شود
افزایش باکتری در ادرار (Increased bacteriuria)	باکتری در نمونه قبل از آنالیز تکثیر پیدا می‌کند
از دست رفتن یکپارچگی سلول‌ها/کست‌ها (Disintegration of cells/casts)	محیط ناپایدار، به خصوص در ادرار قلیایی، ادرار هایپوتونیک یا هر دو

جدول ۷-۳. نگهدارنده‌های نمونه‌های ادرار ۲۴ ساعته

نگهدارنده	تست‌ها
بدون نگهدارنده (یخچال)	اسید آمینه‌ها، آمیلاز، کلسیم، سیترات، کلراید، مس، کراتینین، دلتا ALA، گلوکز، 5-HIAA، فلزات سنگین (آرسنیک، سرب، جیوه)، هیستامین، ایمونوالکتروفورز، لیزوزیم، منیزیوم، متیل مالونیک اسید، میکروآلبومین، موکوپلی‌ساکاریدها، فسفر، پورفوبیلینوژن، پورفیرین، پتاسیم، پروتئین، الکتروفورز پروتئین، سدیم، اوره، اوریک اسید، تحمل گزیلوز
۱۰g بوریک اسید	آلدسترون، کورتیزول
۱۰mL از ۶N HCl	کاتکول‌آمین‌ها، سیستئین، هموانیلیک اسید، هیدروکسی پرولین، متانفرین، اگزالات، VMA
۰/۵g سدیم فلوراید	گلوکز
اگر پردازش آزمایش بیش از ۲۴ ساعت به تأخیر افتاد، میزان برابری از الکل ۵۰٪، فیکساتور ساکومانو و SurePath یا Preserve CT	بررسی‌های سیتولوژیکی

ALA، آلانین آمینوترانسفراز؛ 5-HIAA، ۵-هیدروکسی ایندول استیک اسید؛ VMA، وانیل مندلیک اسید

Thank You!