

Метод «сухой химии» в исследовании мочи



Выполнил: Осипова Анна
Леонидовна

- В настоящее время в клинической лабораторной диагностике, наряду с применением для определения физиологических и патологических компонентов мочи и крови методов «жидкой химии», все шире используются методология «сухой» химии. Они реализуются с применением специальных полосок, реагентные зоны которых содержат сухие реагенты, способные воздействовать на определенные метаболиты биологических жидкостей с изменением окраски индикаторной зоны.



- Индикаторные тест-полоски применяются для полуколичественного и количественного определения диагностически значимых компонентов мочи, крови и других биосред. Их использование незаменимо для срочного анализа, выполняемого в присутствии пациента в поликлинике, приёмном отделении, в больничной палате или дома, на месте лечения пациентов.



Широкое применение во всем мире метода сухой химии в клиническом анализе мочи обусловлено:

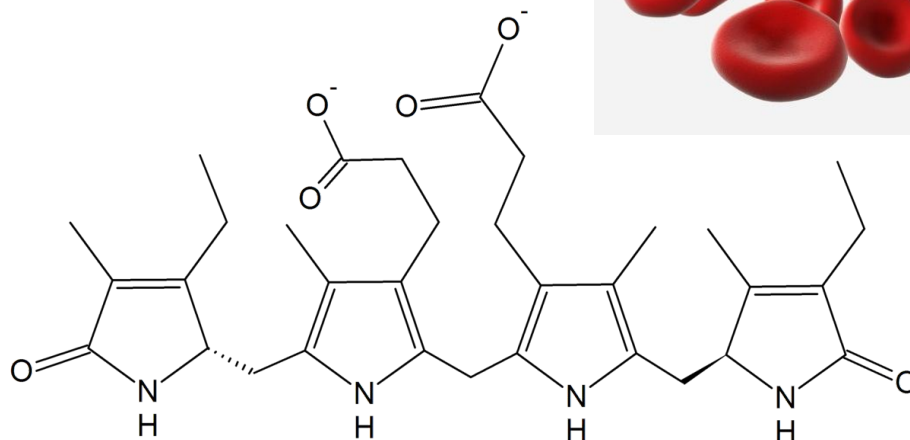
- простотой аналитической процедуры
- НИЗКОЙ СТОИМОСТЬЮ анализа
- ВЫСОКОЙ ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬЮ метода



Полифункциональные тест-полоски предназначены для качественного и полуколичественного экспресс-

определения:

- эритроцитов,
- гемоглобина,
- глюкозы,
- кетоновых тел,
- билирубина,
- белка,
- pH,
- уробилиногена,
- удельного веса,
- аскорбиновой кислоты,
- нитритов
- лейкоцитов в моче.

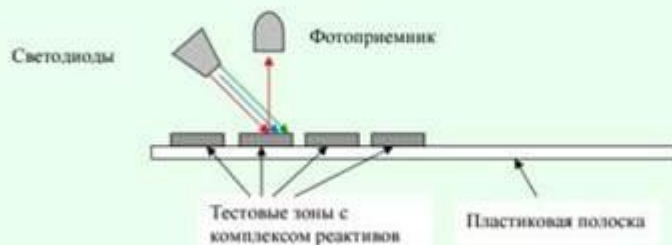


- Данные полоски дают возможность контролировать уровень вышеперечисленных анализатов (биохимическое исследование мочи в КЛД), подобрать соответствующую диету, а также корректировать ход лечения.

В основе метода лежит:

- цветная реакция - образование окрашенного соединения, пропорционально концентрации аналита
- оценка результата реакции - визуально или с помощью отражательного фотометра
- Свет рассеивается волокнами материала тестовой зоны и поглощается молекулами, растворенными в жидкости между волокнами. Коэффициент диффузного отражения света реакционной зоной зависит от содержания поглощающих свет молекул

ОЦЕНКА РЕАКЦИИ С ПОМОЩЬЮ ОТРАЖАТЕЛЬНОГО ФОТОМЕТРА



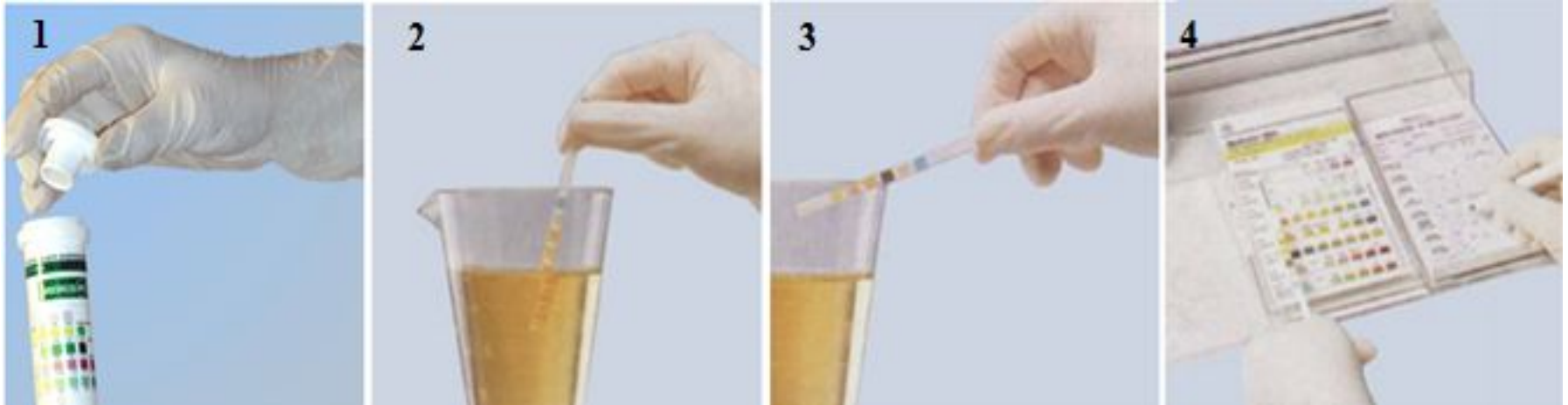
Измеряется коэффициент диффузного отражения света на разных длинах волн.

Тестовое поле на гемоглобин в поперечном сечении



Проведение определения.

- Использовать только свежую нецентрифугированную мочу. Перед проведение анализа мочу тщательно перемешать. Для сбора мочи использовать только чистую посуду.
- 1. Открыть пенал, извлечь тест-полоску, пенал немедленно плотно закрыть крышкой.
- 2. Сенсорные зоны полоски полностью погрузить в мочу.
- 3. Через 2-3 секунды извлечь полоску и удалить избыток жидкости на сенсорных зонах осторожным прикосновением ребра полоски к сухой чистой фильтровальной бумаге на 2-3 секунды. Тест-полоску положить на ровную сухую поверхность сенсорными зонами вверх (вставить в соответствующее место анализатора мочи).
- 4. Визуальную оценку результатов биохимического анализа проводить через 60 секунд после погружения сенсорных зон тест-полоски в мочу, сравнивая интенсивность окраски каждой сенсорной зоны с соответствующей цветовой шкалой на этикетке упаковки при хорошем освещении (на анализаторе мочи результаты анализа выдает сам прибор).

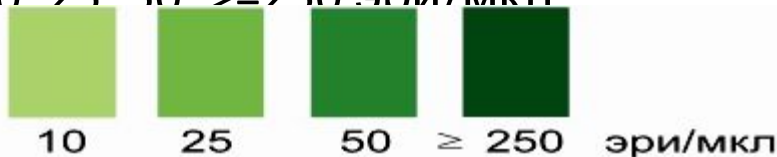
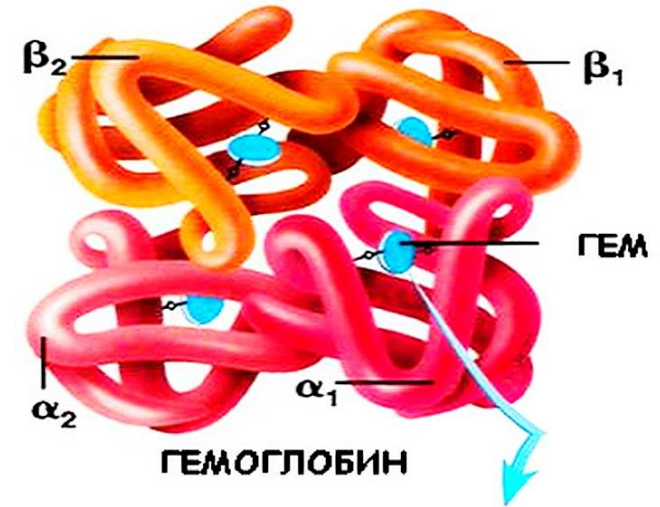


Принцип действия поли-теста:



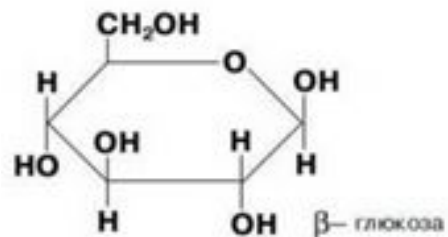
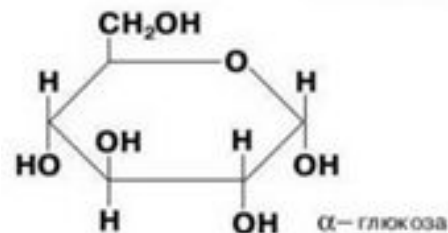
Эритроциты и гемоглобин

- гемоглобин и миоглобин катализируют реакцию окисления хромогена, содержащегося в тестовой зоне тест-полоски, за счет перекисей органического происхождения.
- Для эритроцитов и гемоглобина даны отдельные цветовые шкалы. Пятнистое окрашивание или отдельные зеленые точки на сенсорном поле указывают на наличие интактных эритроцитов.
- Присутствие гемоглобина, гемолизированных эритроцитов и миоглобина в моче указывает равномерное зеленое окрашивание реакционной зоны.
- Шкала определяемых значений: 0,0; 5·10³; 25·10³; 50·10³; ≥250 эри/мкл



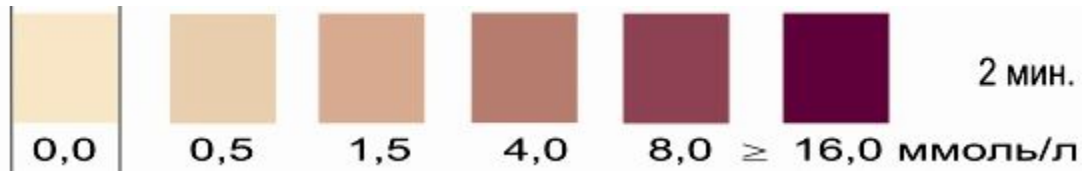
Глюкоза

- в основе метода определения глюкозы лежит специфическая ферментативная реакция окисления глюкозы до глюконовой кислоты и перекиси водорода.
- Под действием последней в присутствии фермента пероксидазы происходит окисление хромогена и образование окрашенного соединения.
- Интенсивность окраски пропорциональна содержанию глюкозы в исследуемых образцах мочи. результаты показаний не зависят от значения pH, относительной плотности и наличия кетоновых тел.
- Шкала определяемых значений: 0,0; 2,8; 5,6; 14,0; 28,0; $\geq 56,0$ ммоль/л.



Кетоновые тела

- в основе метода определения кетоновых тел лежит серия последовательных химических реакций между кетоновыми телами, нитроферроцианидом натрия и диамином, в результате которых происходит образование окрашенного соединения.
- Интенсивность окраски, полученная в ходе химической реакции, определяется степенью взаимодействия нитроферроцианида натрия и диамина с кетоновыми телами и пропорциональна содержанию кетоновых тел в моче.
- Шкала определяемых значений: 0,0; 0,5; 1,5; 4,0; 8,0; $\geq 16,0$ ммоль/л.



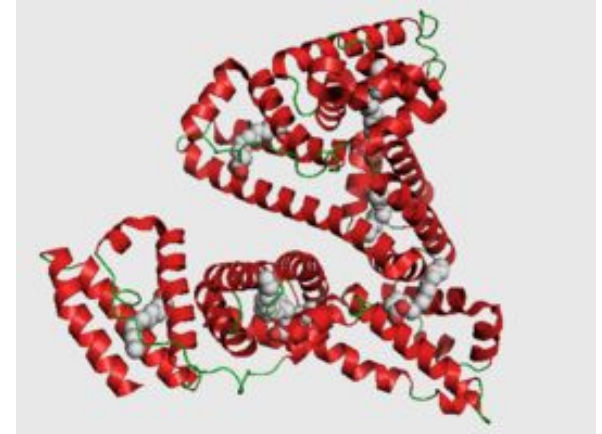
Билирубин

- метод определения основан на образовании комплекса соли диазония с билирубином.
- Даже незначительное окрашивание сенсорной зоны теста свидетельствует о положительном патологическом результате.
- Шкала определяемых значений: 0,0; 9,0; 17,0; $\geq 50,0$ мкмоль/л.



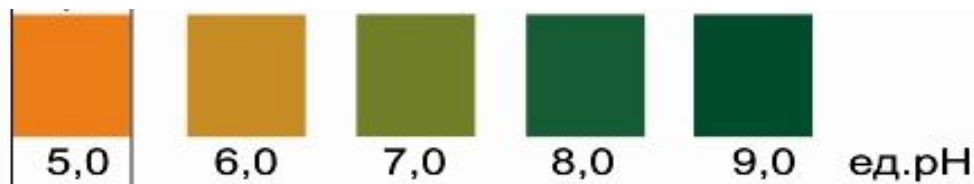
Белок (альбумин)

- в основе метода определения лежит метод химических рН индикаторов. В зависимости от количества белка в моче изменяется константа диссоциации, a , соответственно, и интенсивность окраски.
- Интенсивность окраски пропорциональна содержанию белка в моче. Тест высокочувствителен к наличию альбумина, реагируя на его присутствие в моче уже в концентрации от 0,1-0,15 г/л.
- На определение белка не влияет величина рН мочи, но в экстремально щелочной моче (с рН>8.0) или в моче с исключительно высокой буферной емкостью, полоски индикаторные могут давать ложноположительные реакции при отсутствии белка.
- Ложноположительные результаты может давать моча пациентов, принимавших хининовые препараты или лекарства на базе производных хинолина.



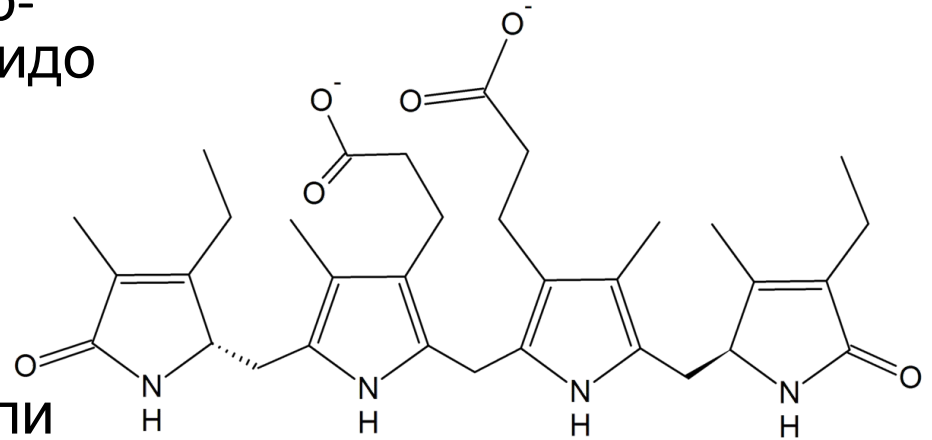
Кислотность (pH)

- сенсорная зона содержит pH индикаторы - метиловый красный и бромтимоловый синий. В зависимости от значений pH мочи изменяется окраска pH индикаторов.
- У здоровых людей в свежесобранной моче значение pH чаще всего составляет от 5 до 6.
- Шкала определяемых значений:



Уробилиноген

- определение основано на реакции уробилиногена с р-диметиламинобензальдегидом с образованием окрашенного комплекса красного цвета.
- В норме возможно или отсутствие изменения окраски сенсорной зоны или ее образование, свидетельствующее о наличии уробилиногена менее 1,0 мг/дл.
- Шкала определяемых значений: 3,5; 17,5; 35,0; 70,0; 140,0; $\geq 210,0$ мкмоль/л.



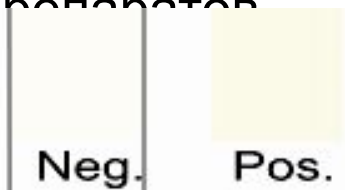
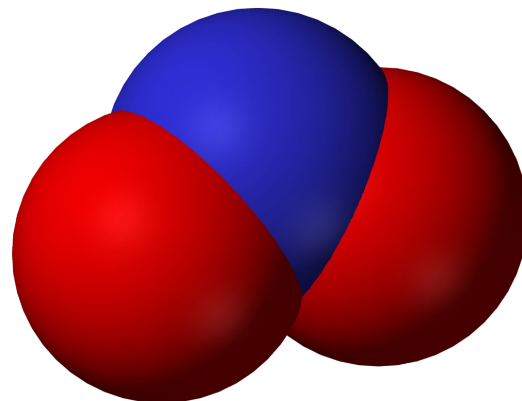
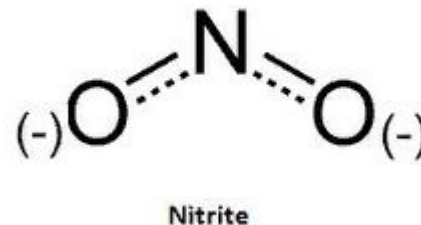
Удельный вес (относительная плотность)

- Тест основан на определении концентрации ионов в моче и хорошо коррелирует с рефрактометрическим методом при значении рН мочи 6,5 ед. В присутствии катионов ионы водорода высвобождаются из комплексонов, что приводит к образованию окрашенного комплекса.
- Для правильного определения плотности при значениях рН мочи выше 7,0 ед. к полученному значению плотности необходимо прибавить коэффициент 0,005.
- При наличии в моче белка от 1,0 до 5,0 г/л или при кетоацидозе наблюдается тенденция к увеличению относительной плотности. Повышение относительной плотности вследствие повышения концентрации глюкозы свыше 1000 мг/дл не определяется.
- Шкала определяемых значений:



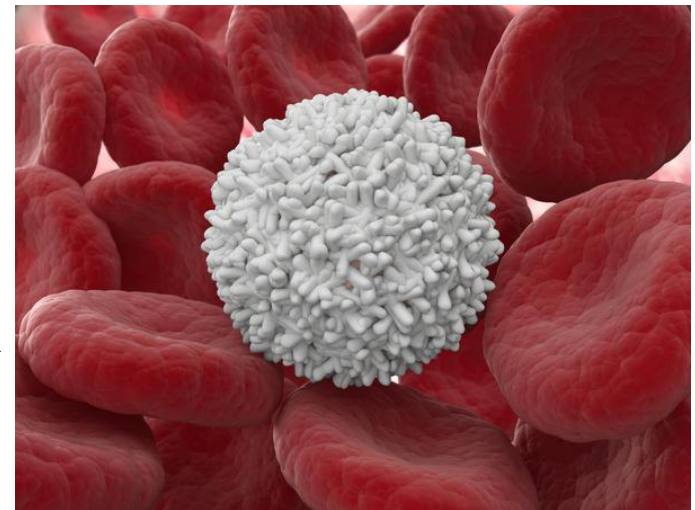
Нитриты

- определение основано на специфической для нитрита реакции по Гиссу. Реакция выявляет нитриты, что косвенно указывает на наличие бактерий в моче. Окраска реакционной зоны изменяется от бледно-розового до ярко-розового цвета.
- Появление незначительной розовой окраски зоны теста свидетельствует на существенную бактериурию. Длительная задержка мочи (4-8ч.) существенна для получения более точного результата анализа.
- Исследование на нитриты желательно проводить спустя 10 часов после последнего употребления витамина С. За 3-4 дня до проведения анализа следует прекратить прием антибиотиков и химиотерапевтических лекарственных препаратов.



Лейкоциты

- Реакция основана на определении эстераз, находящихся в гранулоцитах. Эстеразы разлагают реагент, субструктура которого вступает в реакцию с солью диазония, что приводит к образованию окрашенного соединения.
- Изменение цвета сенсорной зоны при концентрации 15 лейкоцитов/мкл трудно однозначно оценить через 60 секунд, но, как правило, это изменение легко определяется через 120 секунд. Наличие бактерий, трихомонад и эритроцитов в моче не оказывает влияние на реакцию.
- Наличие формальдегида и выраженной окраски мочи (вследствие присутствия билирубина или нитрофуранов) возможно более интенсивное окрашивание сенсорной зоны теста из-за наложения цветов. Шкала определяемых



Спасибо за внимание!