

نوار ۱۰ پارامتری کیمیاژوهان

برای آزمایش کیفی و نیمه کمی ادرار

اطلاعات کلی

نوارهای ادراری قطعات کوچکی از کاغذ صافی آغشته به انواع معرف هستند که به رشته باریکی از پلاستیک (استریپ) چسبانده شده اند و هر کدام جداگانه وجود ماده ای را در ادرار مشخص می کنند این نوارها یک بار مصرف بوده و باید مطابق دستورالعمل و توصیه های زیر به کار گرفته شوند.

کاربری

نوار ۱۰ پارامتری ادرار برای اندازه گیری کیفی و نیمه کمی خون، نیتريت، پروتئين، مواد کتون، گلوکز، اروبیلینوژن، بیلیروبین، اسیداسکوربیک، pH و وزن مخصوص در ادرار مورد استفاده قرار می گیرد. این آزمایشها میتواند در تشخیص دیابت، اختلالات متابولیکی، بیماریهای کبدی، انسداد مجاری صفراوی و همچنین بیماریهای کلیوی و مجاری ادرار مفید باشند.

توصیه های لازم

۱. دقت شود درب قوطی نوارهای ادراری همواره بسته نگاهداشته شود.
۲. دقت شود قطعات معرف های چسبیده بر روی استریپ ها با دست لمس نشده و آلوده نگردد.
۳. دقت شود که محل کار و ظروف نمونه گیری عاری از هر گونه مواد شوینده و یا مواد آلوده کننده دیگر باشد.
۴. نوارهای مصرف نشده همیشه باید در ظرف اصلی خود نگهداشته شوند.
۵. رعایت شود که معرفها در معرض تابش نور و حرارت و همچنین رطوبت محیط قرار نگیرند.
۶. نمونه های ادرار باید تازه تهیه شده باشند و قبل از انجام آزمایش بدون رسوب دادن به خوبی مخلوط و یکنواخت شوند.

فرمولاسیون معرفها

نیتريت: نیتريت که از تبدیل نیترات توسط باکتریهای ادرار بوجود می آید. در محیط اسیدی با آمینهای حلقوی ترکیب شده و به نمک دی آزونوم صورتی رنگ تبدیل می شود.

اروبیلینوژن: این آزمایش بر اساس فعل و انفعال بین نمک و دی آزونوم (تثبیت شده روی کاغذ صافی) و اروبیلینوژن انجام میگردد. ترکیب حاصل به رنگ گل بیی با شدتهای مختلف در خواهد آمد.

پروتئين: این معرف بر اساس تغییر رنگ بعضی از اندیکاتورهای pH در برابر پروتئين عمل میکند (Protein-Error). رنگ معرف با غلظت تامپونی و pH ثابت در غیاب پروتئين زرد بوده و در حضور پروتئين به تناسب غلظت آن به رنگهای زرد مایل به سبز و سبز کامل تغییر می کند.

pH: بر اساس استفاده از دو اندیکاتور مختلف که غلظت هر کدام نسبت به دیگری متعادل شده است عمل میکند. تغییر رنگ آن از نارنجی تا زرد و سبز تا آبی مشخص کننده pH های ۵ تا ۹ می باشد.

خون: این آزمایش بر اساس خاصیت شبه پراکسیدازی هموگلوبین عمل میکند و باعث تغییر رنگ معرف از زرد به سبز و سبز پر رنگ می شود.

مواد کتون: نیتروپروکساید در محیط تامپونی مناسب روی اسید استواستیک (ماده کتون) اثر کرده و متناسب با غلظت آن به رنگهای صورتی و ارغوانی در می آید.

بیلیروبین: بیلیروبین در محیط اسیدی قوی با نمک دی آزونوم از آجری متمایل به گل بیی کم رنگ، به پر رنگ تغییر رنگ می دهد.

گلوکز: این معرف که حاوی دو آنزیم گلوکز اکسیداز و پراکسیداز می باشد بر گلوکز موجود در ادرار اثر می کند. هیدروژن پراکسید حاصل از این فعل وانفعال باعث اکسید شدن معرف رنگی در محیط گردیده و آن را متناسب با غلظت گلوکز از زرد به سبز تغییر رنگ می دهد.

وزن مخصوص (SG): در این روش از وجود یک ماده پلی اسیدی استفاده میشود

یونهای هیدروژن توسط یونهای موجود در ادرار آزاد شده باعث تغییر pH و در نتیجه تغییر رنگ اندیکاتور می گردد.

اسید اسکوربیک: این معرف بر اساس خاصیت احیاءکنندگی قوی اسید اسکوربیک تهیه شده است. آکریدین آبی رنگ احیاء شده و به سبز و زرد تبدیل میشود.

جمع آوری ادرار

نمونه ادرار باید در ظرفی تمیز جمع آوری و هرچه سریعتر آزمایش شود. در صورت عدم امکان انجام آزمایش در ساعت اول، نمونه ادرار باید در یخچال نگاهداری شده و حداکثر تا ۸ ساعت بعد مورد آزمایش قرار گیرد. لازم است درجه حرارت ادرار قبل از آزمایش با درجه حرارت محیط متعادل شود. نگاهداری دراز مدت ادرار در حرارت آزمایشگاه باعث تکثیر باکتریها و تغییر pH محیط به قلیایی می گردد. pH قلیایی که در اثر تجزیه اوره به آمونیاک بوجود می آید ممکن است پروتئين ادرار را بطور کاذب مثبت نشان دهد. باکتریها همچنین ممکن است با متابولیزه کردن قند موجود در ادرار pH محیط را اسیدی کنند.

روش آزمایش

رعایت نکات زیر برای کسب نتایج قابل اطمینان بسیار ضروری است:

۱. آزمایش باید روی ادرار تازه و قبل از سانتریفوژ کردن انجام شود.
۲. بعد از بیرون آوردن نوار از داخل قوطی، بلافاصله درپوش قوطی را محکم ببندید.
۳. نوار را کاملاً به درون ظرف ادرار فرو برده و بی درنگ خارج کنید و لبه آن را به طور افقی به صفحه کاغذ صافی یا دهانه ظرف بکشید تا قطرات اضافی ادرار گرفته شده و از قسمتی به قسمت دیگر جریان نیابد.
۴. تغییر رنگ معرفها را زیر نور کافی با برچسب شاخص روی ظرف مقایسه کنید. نوار را کنار شاخصهای رنگی قرار دهید و تغییرات آنها را با دقت و در عرض ۶۰ تا ۹۰ ثانیه بررسی کنید (تغییر رنگ pH در عرض ۲۰ ثانیه بررسی شود) توجه داشته باشید که رعایت زمان در مقایسه رنگ معرفها با برچسب شاخص، جهت افزایش دقت و صحت آزمایش بسیار پر اهمیت است.

محدودیتهای روش کار

نیتريت: تعداد باکتریهای موجود در ادرار در تغییر رنگ معرف اثر چندانی ندارد. حدود صد هزار باکتری در میلی لیتر ادرار رنگ معرف را تغییر میدهد.

باید توجه داشت که باکتریهای فاقد آنزیم Reductase قدرت تبدیل نیترات به نیتريت را ندارد. در نتیجه تغییر رنگی بوجود نخواهد آمد. (منفی کاذب)

اروبیلینوژن: مواد شناخته شده ای مانده پورفوبیلینوژن و اسید پارا-آمینوسالیسیلیک، رنگ معرف اروبیلینوژن را تغییر می دهند.

بعضی از داروها که دارای ریشه Azo هستند نیز در نتیجه آزمایش تداخل کرده و تشخیص اروبیلینوژن را مشکل میکنند. وجود بیلیروبین زیاد رنگ نوار را زرد کرده و بعد از یک دقیقه به رنگ سبز مایل به آبی در می آورد.

پروتئين: قلیائی بودن و ظرفیت تامپونی بالای ادرار و همچنین ترکیبات چهار ظرفیتی آمونوم در ادرار می تواند به طور کاذب پروتئين را مثبت نشان دهد.

خون: وزن مخصوص بالای ادرار و همچنین اسید اسکوربیک بیش از ۲۰ میلی گرم درصد حساسیت آزمایش را کم می کند. پراکسیداز موجود در بعضی از باکتریهای عفونی منجر به بروز مثبت کاذب خون در ادرار می شود.

مواد کتون: افزایش مشتقات فینیل کتون و متابولیتها L-Dopa در ادرار ممکن است باعث بروز نتیجه مثبت کاذب در آزمایش شود.

گلوکز: غلظت زیاد مواد کتون در ادرار (۵۰ میلی گرم درصد و بیشتر) ممکن است باعث کاهش رنگ گلوکز شود (البته نه به اندازه ای که وجود آن را نفی کند) غلظت های گلوکز بیش از یک گرم درصد گاهی رنگ معرف را چنانکه باید مشخص نمی کند. در اینصورت بهتر است آزمایش را با ادرار رقیق نیز تکرار نمود. رنگ معرف گلوکز همچنین ممکن است در اثر حرارت تغییر کند و با افزایش وزن مخصوص ادرار نیز کم شود.

وزن مخصوص: قلیائی بودن و ظرفیت تامپونی بالای ادرار باعث پایین افتادن وزن مخصوص میگردد. در پروتئينوریها ($>1g/L$) و با افزایش مواد کتون، وزن مخصوص به طور کاذب افزایش میابد.

اسید اسکوربیک: وجود سایر مواد احیا کننده در ادرار، شبیه اسید اسکوربیک عمل می کند و باعث نتیجه مثبت کاذب خواهد شد.

نیتریت: به طور طبیعی در ادرار وجود ندارد. تغییر رنگ معرف بستگی به شدت عفونت و مدت توقف ادرار در مثانه خواهد داشت.

اروبیلینوژن: به طور طبیعی در ادرار حدود کمتر از 1mg/dl (برابریک واحد اریلیش) اروبیلینوژن دفع می گردد. وجود این مقدار منفی در نظر گرفته نمی شود، بلکه بصورت نرمال گزارش می گردد. چون اروبیلینوژن از اثر باکتریهای طبیعی روده بر بیلیروبین به وجود می آید.

پروتئین: با این روش نمی توان غلظت کمی آلبومین را در ادرار مشخص نمود. در مواردیکه شدت رنگ از Trace بیشتر باشد وجود پروتئینوری قطعی است. وزن مخصوص بالای ادرار در حالت سلامت ممکن است پروتئین را Trace نشان دهد. در این صورت باید نتیجه آزمایش را همراه با نشانه های بالینی بیمار تفسیر نمود.

pH: ادرار در نوزادان از ۵ تا ۷ و در کودکان و بزرگسالان ۴/۵ تا ۸ تغییر می کند. میانگین pH در کل جمعیت حدود ۶ می باشد.

خون: ظهور هر گونه رنگ سبز یا لکه سبز رنگ در عرض ۴۰ ثانیه قابل توجه بوده و باید مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

مواد کتونی: به طور طبیعی در ادرار دیده نمی شود ولی در مواردیکه فشارهای فیزیولوژیکی مانند روزه داری، حاملگی و ورزشهای سنگین ادامه پیدا کند، دفع مواد کتونی از ادرار آغاز میشود. مواد کتونی همچنین در متابولیسم غیر طبیعی کربوهیدراتها و در گرسنگی، بدون اینکه غلظت آنها در سرم افزایش یابد از راه ادرار دفع میشود.

بیلیروبین: به طور طبیعی در ادرار دیده نمی شود ولی بروز هر گونه تغییر رنگ دلیل بوجود متابولیتهای بیلیروبین بوده و باید مورد بررسی بیشتری قرار گیرد.

گلوکز: با این روش میتوان غلظت ۵۰ میلی گرم گلوکز در صد میلی لیتر ادرار را مشخص نمود. مشروط بر اینکه نوار اسیداسکوریبک منفی باشد. دفع مداوم این مقدار گلوکز در ادرار پاتولوژیک محسوب می شود.

وزن مخصوص: با توجه به نقش کلیه ها در تنظیم حجم ادرار و تغلیظ آن، وزن مخصوص طبیعی ادرار از ۱/۰۰۵ تا ۱/۰۳۰ و متناسب با عکس حجم ۲۴ ساعته تغییر می کند. در مواردی که سیستم گلومرولی ضعیف عمل کند وزن مخصوص در محدوده ۱/۰۰۵ تا ۱/۰۱۰ ثابت باقی می ماند و در صورت کاهش فعالیت هورمون انٹی دیورتیک (ADH)، وزن مخصوص اکثراً زیر ۱/۰۰۵ باقی خواهد ماند.

اسید اسکوریبک: همیشه با رژیم غذایی عادی مقدار کمی اسید اسکوریبک حدود ۵ میلی گرم درصد از راه ادرار دفع می شود. ولی با مصرف زیاد گاهی غلظت آن از ۲۰۰ میلی گرم درصد نیز تجاوز می کند. مقادیر بیش از ۲۵ میلی گرم درصد اکثراً در نتیجه آزمایش گلوکز و خون تاثیر گذارده و مقادیر بیشتر در نتیجه نیتریت و بیلیروبین نیز اختلال بوجود می آورد.

کنترل کیفیت

برای اطمینان از صحت کار نوار ها باید همراه هر ردیف آزمایش نمونه هایی از ادرار مثبت و منفی نیز قرار داده شود. واضح است که آزمایشگاه ها باید کیفیت کار خود را به گونه ای کنترل کنند که از نظر نگهداری و کاربری نوارها مشکلی بوجود نیاید

خصوصیات کاربری معرفیها

آزمایش نیتریت: این آزمایش کاملاً اختصاصی عمل کرده و با مواد طبیعی موجود در ادرار مختل نمیشود. حساسیت آزمایش در ادرارهای با وزن مخصوص پایین و اسید اسکوریبک کم، حدود ۷۵ میکروگرم درصد است.

آزمایش اروبیلینوژن: با این روش می توان اروبیلینوژن ادرار را تا یک واحد اریلیش یا یک میلی گرم درصد مشخص نمود ولی نمیتوان مقدار پاتولوژیک آن را تأیید کرد.

آزمایش پروتئین: با این آزمایش میتوان غلظت تا ۳۰ میلی گرم آلبومین را درصد میلی لیتر ادرار به صورت Trace مشخص کرد. چون حساسیت نوار در مورد گلوبولینها و موکوپروتئینها کم است. بنابراین نتیجه منفی دلیل بر عدم پروتئینوری ها نخواهد بود.

آزمایش pH: این آزمایش تغییرات pH ادرار را به تفکیک از ۵ تا ۹ مشخص میکند ظرفیت تامپونی ادرار تأثیری در نتیجه آزمایش ندارد.

آزمایش خون: با این آزمایش میتوان مقدار ۰/۱۵ میلی گرم درصد هموگلوبین و یا ۵ عدد گلبول قرمز در میکرولیتر ادرار را مشخص نمود. این آزمایش به هموگلوبین و میوگلوبین آزاد بیشتر از خون همولیز نشده حساسیت نشان می دهد.

آزمایش مواد کتونی: اسید استواستیک ادرار حداقل تا ۵ میلی گرم درصد به روش نیمه کمی (کم، متوسط و زیاد) قابل تشخیص می باشد. حساسیت این معرف نسبت به استون و اسید بتاهیدروکسی بوتیریک کم است.

آزمایش بیلیروبین: این آزمایش اختصاصی عمل کرده و حساسیت تشخیصی آن حدود ۰/۲ تا ۴ میلی گرم در صد می باشد.

آزمایش گلوکز: با این آزمایش میتوان وجود گلوکز را از نظر کیفی در ۲۰ ثانیه و از نظر کمی تا ۶۰ ثانیه مشخص نمود. این آزمایش اختصاصی بوده و به قندهای دیگر از جمله لاکتوز، گالاکتوز و فروکتوز و سایر مواد احیا کننده حساسیت نشان نمیدهد.

References:

- Free All Free HM: in Urinalysis, Critical Discipline of Clinical Science. Crit. Rev. clin.lab.sci3(4): 481-531 (1972)
- Tietz, NW: Clinical Chemistry, 2ed WB Saunders Co.(Pub) 1994
- Free, HM. Routine Urinalysis: Collection: Transportation and Reservation of Urine Specimen NCCLS.Doc. GP16T(1993)
- Young DS. Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests: 3d: AAC Press (1900)
- Urinalysis and body Fluids. A color text and Atlas, Ringsted, KM and Linne, dd (eds), Mosby (Pub)

اصول سنجش نوار ادراری و محدودیتهای آن

وجود برخی مواد در ادرار می تواند ایجاد تداخل و یا پاسخهای منفی و یا مثبت کاذب نماید که اهم آن عبارت است از:

پارامتر	فرمولاسیون	منفی کاذب	مثبت کاذب
خون و RBC	فعالیت شبه پراکسیدازی هموگلوبین	غلظت بالای نیتریت، فورمالین تاخیر در انجام آزمایش، وزن مخصوص بالای ادرار	پراکسیدازهای میکروبی، مواد اکسیدان (هیپوکلریتها) اسید کلریدریک
نیتریت	معرف آزو (AZO)	رژیم غذایی بدون سبزی، PH<6 زمان توقف کوتاه ادرار در مثانه ویتامین C، باکتریهای گرم مثبت	ادرار رنگی رشد باکتری (In vitro)
آلبومین (پروتئین)	اتصال غیر اختصاصی به اندیکاتور رنگی	زنجیره های کوتاه گلوبولینها، غلظت نمکی زیاد، پلیوینیل ادرار رنگی، پیرولیدون	ادرار قلیایی (PH>9) دترجنتهای آمونیوم کلروهگزیدین
مواد کتونی (استون، استواستات)	تست Legal	نگهداری نامناسب (بتاهیدروکسی بوتیرات مشخص نمیگردد)	مواد حاوی سولفیدریل آزاد (کاپتوپریل) ادرار رنگی، L-Dopa
گلوکز	گلوکز اکسیداز، پراکسیداز	ویتامین C، عفونت مجاری ادرار، نوار مرطوب، ماده نگهدارنده (NaF)	مواد اکسیدان، (هیپوکلریت) اسید کلریدریک
اروبیلینوژن	راکسیون اریلیش	تقابل با نور فورمالدهید (2g/l)	ادرار رنگی، پورفوبیلینوژن ادرار گرم، شولفونامیدها و داروهای مشابه
بیلیروبین	ترکیب آزو با نمک دیارونیوم	ویتامین C، (>25mg%) نیتریت زیاد، تقابل با نور	ادرار رنگی متابولیتهای کلرپرومازین
اسید اسکوریبک	ترکیب با رنگ اندول	مشخص نیست	احیاء کننده های مشابه
pH	دو اندیکاتور رنگی (pH از ۵ تا ۹)	کاهش کاذب فورمالدهید، جریان ادرار از معرف پروتئین نوار بروی آن	افزایش کاذب ادرار کهنه، باکتری در ادرار
وزن مخصوص نسبی	ترکیب مواد یونی ادرار با پلی الکترولیت موجود در نوار	پایین کاذب ادرار قلیایی (PH>8) گلوکز >1g%، افزایش اوره	پروتئین بیش از 1g%، کتواسیدها