Akceptuję
W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej Polityce Prywatności

Badanie moczu za pomocą pasków testowych

Badanie ogólne moczu w zakresie cech fizykochemicznych jest obecnie powszechnie wykonywane metodami "suchej chemii". W metodach tych wykorzystuje się odczynniki w postaci stałej, które osadzone na odpowiednim podłożu tworzą środowisko dla reakcji z wybranymi składnikami badanego materiału. W badaniu moczu wykorzystuje się paski testowe lub odczynnikowe zawierające szereg pól reakcyjnych służących do półilościowego lub ilościowego oznaczania określonych składników moczu. Pola te zawierają związane z fazą stałą substancje reagujące ze składnikami moczu. W wyniku reakcji powstają barwne

produkty, dzięki którym zmiana barwy pola reakcyjnego wskazuje na obecność badanej substancji, natomiast intensywność barwy odzwierciedla jej stężenie. Zmianę barwy można oceniać wzrokowo lub za pomocą czytników pasków - analizatorów dokonujących reflektometrycznego pomiaru intensywności światła odbitego od barwnej powierzchni pól reakcyjnych pasków. Ta metodyka i aparatura jest stosowana w laboratoriach i może być wykorzystywana do badania moczu wykonywanego w miejscu opieki nad chorym (point-of-care testing - POCT) - na oddziałach szpitalnych, w przychodniach i gabinetach lekarskich. Przy użyciu pasków testowych można obecnie wykonać jednocześnie do 11-12 oznaczeń, w tym badania chemiczne wykrywające istotne diagnostycznie upostaciowane składniki moczu - erytrocyty, leukocyty i bakterie.

Paski testowe umożliwiają wykonywanie znacznej liczby oznaczeń wchodzących w zakres badania Badanie moczu za pomocą pasków testowych ogólnego moczu, w krótkim czasie i z dużą wydajnością. Cechują się jednak też ograniczeniami metodycznymi, które w pewnych sytuacjach mogą być przyczyną zafałszowania wyników oznaczeń. Ograniczenia te powinny być znane i uwzględniane przy interpretacji wyników.

Ciężar właściwy (gęstość względna) moczu jest oznaczany pośrednio na podstawie stężenia zawartych w nim elektrolitów. Zmiana barwy pola reakcyjnego jest spowodowana reakcją zawartych w moczu jonów z odpowiednim wskaźnikiem (np. błękitem bromotymolowym). Tak wykonane badanie nie wykrywa zmian ciężaru właściwego moczu zależnych od obecności w nim glukozy, pewnych leków czy radiologicznych jodowych środków cieniujących. Ponadto w moczu o odczynie silnie zasadowym można uzyskać wynik zaniżony, a w obecności białka o stężeniu przekraczającym 1 g/l - zawyżony. Badanie ma zatem charakter orientacyjny i w przypadku uzyskania wątpliwych wyników lub dużego ich znaczenia diagnostycznego (np. w próbie odwodnieniowo-wazopresynowej) powinno się wykonywać pomiar ciężaru właściwego w laboratorium za pomocą urometru lub metodą refraktometryczną.

Białko w moczu oznacza się na podstawie tzw. błędu białkowego wskaźnika pH. W obecności białek o własnościach redukcyjnych, pomimo stałego pH buforowanego pola reakcyjnego paska, zachodzi reakcja zmieniająca barwę wskaźnika pH (np. błękitu tetrabromofenolowego). Tą metodą najłatwiej wykrywa się albuminę, dla której próg detekcji wynosi około 0,2 g/l. Paski testowe są natomiast mniej czułe dla mukoprotein i białek drobnocząsteczkowych wykrywanych dopiero w stężeniach >0,6 g/l, i właściwie nie wykrywają lekkich łańcuchów immunoglobulin (białko Bence-Jonesa). Przy podejrzeniu obecności tych białek w moczu należy zlecić ich oznaczenie w laboratorium innymi metodami. Oznaczanie białka paskami testowymi jest podatne na nieswoiste interferencje powodowane przez leki, jak chinina i jej pochodne, zasadowy odczyn moczu (pH >8) i sole amonowe obecne na przykład w środkach dezynfekcyjnych. Białkomocz wykrywany tą metodą, nazywany "paskowym" (dipstick proteinuria), jest istotny klinicznie, lecz wynik dostarcza jedynie orientacyjnej informacji o jego nasileniu. Innego rodzaju paski testowe służą do wykrywania albuminy występującej w moczu w bardzo małym, ale już nieprawidłowym stężeniu. Są to testy immunochemiczne wykorzystujące mono- lub poliklonalne przeciwciała przeciwko albuminie. Te półilościowe metody o progu detekcji rzędu kilku lub kilkunastu mg/l służą do badań przesiewowych w kierunku mikroalbuminurii u chorych na cukrzycę.

Glukozę w moczu zwykle oznacza się, wykorzystując reakcję katalizowaną przez oksydazę glukozową, w której powstaje kwas glukonowy i nadtlenek wodoru utleniający chromogen do produktu zmieniającego kolor pola reakcyjnego paska. Reakcja utleniania chromogenu może być zakłócana przez inne substancje łatwo utleniane przez H_2O_2, takie jak białko (albumina), związki ketonowe czy kwas askorbinowy. Próg detekcji różnych pasków testowych dla glukozy mieści się w przedziale 2-70 mg/dl. Oznaczenie glukozy za pomocą takich testów służy do wykrycia glukozurii, a nie ilościowej jej oceny, co jest zupełnie wystarczające przy stosowaniu tego badania w monitorowaniu leczenia

cukrzycy. Ilościowa ocena glukozurii wymaga zbiórki moczu i badania wykonanego w laboratorium.

Związki (ciała) ketonowe w moczu oznacza się metodą opartą na reakcji kwasu acetooctowego i acetonu z nitroprusydkiem sodu i glicyną w środowisku zasadowym (próba Legala). Test ten wykrywa kwas acetooctowy przy progu detekcji 3-10 mg/dl, natomiast nie wykrywa kwasu β-hydroksymasłowego, który w warunkach fizjologicznych stanowi około 50% puli ciał ketonowych w płynie pozakomórkowym i w moczu, a w kwasicy ketonowej jego udział zwiększa się do 90%. To ograniczenie metodyczne może utrudniać interpretację wyników przy monitorowaniu wyprowadzania chorego z kwasicy ketonowej, gdy spadkowi ketogenezy towarzyszy zmiana proporcji zawartości głównych związków ketonowych. Wyniki fałszywie dodatnie mogą być powodowane przez leki zawierające grupy sulfhydrylowe (kaptopryl, mesna, penicylamina), a kwas askorbinowy obecny w moczu w dużym stężeniu może być przyczyną wyników fałszywie ujemnych.

Bilirubinę oznacza się paskami testowymi z wykorzystaniem reakcji sprzęgania jej z solą diazową w środowisku kwaśnym z wytworzeniem barwnika azowego. W moczu występuje bilirubina sprzężona z kwasem glukuronowym (bezpośrednia), ponieważ tylko taka jest przesączana w kłębuszkach nerkowych. Próg detekcji metod paskowych dla bilirubiny wynosi 0,2-0,8 mg/dl, przy jej fizjologicznym stężeniu w moczu rzędu 0,02 mg/dl. Wyniki zawyżone lub fałszywie dodatnie mogą być powodowane obecnością w moczu nieprawidłowych barwników oraz metabolitów chlorpromazyny, ryfampicyny i niektórych niesteroidowych leków przeciwzapalnych. W przypadkach budzących wątpliwości wyniki dodatnie można weryfikować w laboratorium, używając tzw. testów tabletkowych lub innych metod. Zaniżone wyniki oznaczeń bilirubiny przy użyciu pasków testowych mogą być powodowane przez kwas askorbinowy w dużym stężeniu oraz ekspozycję próbki moczu na światło słoneczne, co prowadzi do rozpadu bilirubiny sprzężonej.

Urobilinogen można oznaczać przy użyciu pasków testowych z wykorzystaniem klasycznej reakcji Ehricha, w której p-dietyloaminobenzaldehyd reaguje z urobilinogenem i tworzy połączenie o różowej barwie lub w reakcji z solą diazową. Próg detekcji w tym oznaczeniu wynosi 0,2-0,4 mg/dl, przy prawidłowym stężeniu urobilinogenu w moczu około 1 mg/dl. Reakcja z solą diazową ma być mniej podatna na interferencje w porównaniu z metodą Ehricha, w której zawyżone wyniki oznaczeń mogą być powodowane przez kwas paraaminosalicylowy, antypirynę, chloropromazynę, fenazopirydynę, fenotiazynę, sulfadiazynę i sulfonamidy. Z kolei azotyny w dużych stężeniach (p. niżej) mogą powodować wyniki fałszywie ujemne.

Cenną własnością pasków testowych służących do badania moczu jest wykrywanie za pomocą reakcji chemicznych komórkowych składników moczu o dużym naczeniu diagnostycznym - erytrocytów, leukocytów i bakterii. Pomimo ograniczeń analitycznych oznaczenia te mogą być wykorzystywane jako testy przesiewowe w wykrywaniu glomerulopatii i inych przyczyn krwinkomoczu oraz zakażań dróg moczowych.

Chemiczne wykrywanie krwinek czerwonych/hemoglobiny w moczu jest oparte na tzw. peroksydazopodobnych właściwościach hemoglobiny, która katalizuje utlenienie chromogenu, np. pochodnej benzydyny, przez nadtlenek wodoru do barwnego połączenia. Paski testowe wykrywają w moczu zarówno wolną hemoglobinę, jak i nieuszkodzone erytrocyty, z progiem detekcji rzędu 0,2-0,6 mg/l dla hemoglobiny lub 5-10 erytrocytów/µl. Oznaczenie może zakłócać mioglobina, która ma podobną do hemoglobiny strukturę i podobne właściwości. W zakażeniach układu moczowego wyniki fałszywie dodatnie mogą być powodowane aktywnością peroksydaz bakteryjnych. Metoda ta wykrywa z dużą czułością hemoglobinurię lub krwinkomocz, ale nie rozróżnia erytrocytów izomorficznych i dysmorficznych. Każdy wynik dodatni musi być zweryfikowany i uzupełniony wykonanym w laboratorium badaniem składników upostaciowanych (osadu) moczu.

Leukocyty są wykrywane w moczu na podstawie uwidocznienia aktywności nieswoistych esteraz występujących w azurofilnych ziarnistościach granulocytów i makrofagów. Aktywność tych enzymów jest wykrywana przez rozszczepienie syntetycznych estrów z uwolnieniem substratu, na przykład indoksylu wchodzącego następnie w reakcję z wytworzeniem barwnego produktu. Próg detekcji tej metody odpowiada obecności 5 do 25 leukocytów/µl moczu. Metoda ta wykrywa również aktywność esteraz uwolnionych z rozpadłych granulocytów, co może być przyczyną sprzecznych wyników oceny leukocyturii w badaniu chemicznym i mikroskopowym moczu. Źródłem esteraz mogą być też eozynofile, rzęsistek pochwowy i komórki nabłonkowe w wydzielinie pochwy. Wyniki oznaczeń mogą być zawyżone przez imipenem, meropenem i kwas klawulanowy. Metoda ta nie wykrywa limfocytów, w których cytoplazmie nieswoiste esterazy nie występują. Wyniki zaniżone lub fałszywie ujemne mogą być powodowane przez białko obecne w moczu w stężeniu >5 g/l, glukozę w stężeniu >3 g/dl, ciała ketonowe, bilirubinę, kwas askorbinowy i znaczne zagęszczenie moczu oraz doksycyklinę, aminoglikozydy i niektóre cefalosporyny hamujące aktywność esteraz.
Z powodu licznych interferencji i innych ograniczeń metodycznych oznaczanie aktywności nieswoistych esteraz nie jest testem diagnostycznym, lecz przesiewowym w kierunku obecności leukocytów w moczu. Ujemny wynik tego badania nie wyklucza leukocyturii, a wynik dodatni wymaga weryfikacji w badaniu osadu moczu.

Azotyny powstają w wyniku redukcji wydalanych z moczem azotanów pochodzenia pokarmowego przez bakterie Gram-ujemne, takie jak Escherichia coli, Klebsiella, Pseudomonas, Enterobacter i Citrobacter. Obecność azotynów w moczu odzwierciedla obecność w nim takich bakterii. Test paskowy jest oparty na reakcji azotynów z kwasem paraarsanilowym z wytworzeniem barwnego połączenia diazowego. Próg detekcji metody wynosi 0,06-0,1 mg/dl. Przyjmuje się, że znamiennej bakteriurii (>105/ml) odpowiada stężenie azotynów w moczu przekraczające 0,075 mg/dl. Badanie powinno być wykonywane w pierwszej porannej porcji moczu, zbierającego się wcześniej w pęcherzu przynajmniej przez 4 godziny, co jest odpowiednim czasem dla redukcji azotanów. Zawyżone wyniki oznaczeń mogą być powodowane zbyt długim przechowywaniem próbki moczu w temperaturze pokojowej. Bakterie Gram-dodatnie i drożdżaki nie są zdolne do redukcji azotanów, wobec czego nie mogą być w ten sposób wykrywane. Zaniżone wyniki mogą być następstwem zmniejszenia wydalania azotanów pochodzenia pokarmowego u pacjentów niedożywionych lub w trakcie żywienia parenteralnego lub zbyt krótkiego przebywania moczu w pęcherzu przed pobraniem próbki, co powoduje zmniejszoną syntezę azotynów z azotanów. Zaniżone wyniki mogą wystąpić także przy bardzo dużej bakteriurii, gdy azotyny są dalej redukowane do azotu oraz w obecności kwasu askorbinowego i urobilinogenu w dużych stężeniach. Dodatni wynik oznaczenia azotynów odzwierciedla bakteriurię, natomiast wynik ujemny nie może jej wykluczyć. Dodatni wynik oznaczenia jest wskazaniem do wykonania badania osadu moczu oraz, ewentualnie, badania bakteriologicznego.

Kwas askorbinowy (witamina C), szczególnie w dużych stężeniach, osiąganych w moczu przy dziennych dawkach około 1 g, zakłóca oznaczenia glukozy, białka, hemoglobiny, esteraz leukocytowych, azotynów i bilirubiny wykonywane za pomocą pasków testowych. W związku z tym niektóre paski zawierają pole reakcyjne służące do wykrywania kwasu askorbinowego, jako czynnika interferującego. W oznaczeniu wykorzystuje się łatwość utleniania kwasu askorbinowego, na przykład przy redukcji kwasu molibdenofosforowego do błękitu molibdenu. Próg detekcji metody wynosi 3-5 mg/dl, a reakcję mogą zakłócać obecne w moczu inne substancje redukujące. Paski testowe stosowane z aparaturą pomiarową umożliwiają zwykle poprawne wykonywanie chemicznego badania moczu w laboratorium i poza nim. Ograniczenia analityczne tych metod są następstwem nieswoistych interferencji ze strony naturalnych składników moczu występujących w dużych stężeniach oraz wydalanych z nim leków i/lub ich metabolitów. Wyniki tych oznaczeń budzące wątpliwości, niezgodne ze stanem klinicznym chorego oraz dodatnie wyniki testów wskazujących na obecność w moczu erytrocytów, leukocytów lub bakterii wymagają weryfikacji odpowiednimi

metodami laboratoryjnymi.

Autor: dr hab. med. Bogdan Solnica, Zakład Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Źródło: http://www.mp.pl/

https://laboratoria.net/home/12947.html
Informacje dnia: Najlepszy studencki projekt robotyczny zostanie sfinansowany Sieć, która odpowiada za chorobę Parkinsona Smartfon szkodzi rozwojowi dziecka Polscy naukowcy opisali najmniejsze znane genomy bakteryjne Jak naukę przetwarzać na biznes? Ciąża i urlopy dla rodziców a granty badawcze Najlepszy studencki projekt robotyczny zostanie sfinansowany Sieć, która odpowiada za chorobę Parkinsona Smartfon szkodzi rozwojowi dziecka Polscy naukowcy opisali najmniejsze znane genomy bakteryjne Jak naukę przetwarzać na biznes? Ciąża i urlopy dla rodziców a granty badawcze Najlepszy studencki projekt robotyczny zostanie sfinansowany Sieć, która odpowiada za chorobę Parkinsona Smartfon szkodzi rozwojowi dziecka Polscy naukowcy opisali najmniejsze znane genomy bakteryjne Jak naukę przetwarzać na biznes? Ciąża i urlopy dla rodziców a granty badawcze

Partnerzy