

## Мочевые полоски Uristik (Dirui). Принцип работы.

### **1 Основной принцип и клиническое значение**

В 1810 году британский химик William Brut ввел в пользование реагентные полоски для определения. Это были первые реагентные полоски.

Такие реагентные полоски, как полоски для определения белка и глюкозы, широко используемые в *in vitro* диагностике, были введены в практику только в 20 веке.

В 1992 году компания Dirui начала выпуск реагентных полосок для анализа мочи, и до 1996 года на внутренний рынок Китая впервые были выпущены полоски на 10 параметров тестирования и на них был получен патент.

В 1998 году компания начала выпуск 11-параметровых реагентных полосок и получила патенты на две заявки.

В настоящее время выпускаются 10-параметровые полоски для использования на анализаторах мочи Clinitek-100, Miditron Junior I, II, Aupion mini AM-4290, и полоски серии H для использования на анализаторах мочи H-серии, которые производятся компанией Dirui. Тестируемые параметры: Глюкоза, Удельный Вес, pH, Белок, Билирубин, Уробилиноген, Нитриты, Лейкоциты, Кровь, Кетоны и Аскорбиновая Кислота (Витамин С).

#### **1. Реагентные полоски для определения pH.**

Диапазон pH у человека как правило находится в пределах 4.6-7.4.

**Принцип реакции:** индикаторный метод. В настоящее время для определения pH как правило используются метиловый красный [pH 4.2 (красный) - 6.2 (желтый)], бромкрезоловый зеленый [pH 3.6 (желтый) - 5.4 (зеленый)], бромтимоловый синий [pH 6.7 (желтый) - 7.5 (синий)], которые в смеси дают кислотно-щелочной индикатор, позволяющий определять pH в диапазоне 4.5-9.0.

**Клиническое значение:** в норме моча немного кислая, около 6.0, в зависимости от состава пищи pH может колебаться от 4.5 до 8.0. Оценивать результат pH более сложно, чем результаты по другим параметрам, так как pH мочи может быстро и значительно меняться, к тому же pH здоровых и больных не имеет явных отличий, поэтому отдельно показателем pH не имеет особого значения. Но в совокупности с другими клиническими показателями он может дать важную информацию.

#### **Особое внимание: два главных пункта – свежий образец и проведение процедуры.**

(а) Бактериальное разложение компонентов мочи при длительном хранении образца может вызывать изменение pH. Как правило, бактерии вырабатывают аммиак, защелачивая при этом образец мочи. Когда бикарбонат и креозот мочи связываются при длительном хранении с окисью углерода из воздуха, это приводит к повышению pH мочи.

(б) Иногда бактерии при разложении мочи вырабатывают кислые вещества, что приводит к закислению образца.

(с) Во время процедуры тестирования тест-полоска должна погружаться в мочу на определенное время. Это очень важно, так как при слишком длительном погружении у показателя pH мочи появляется тенденция к понижению (закислению).

#### **2. Реагентные полоски для определения удельного веса.**

Главными компонентами человеческой мочи являются хлорид натрия и мочевины и, как правило, диапазон УВ колеблется в пределах 1.015-1.025.

**Принцип реакции:** ионообменный метод, полиэлектролит – ко-полимер метил-винилового эфира и малеиновой кислоты является слабокислой (-COOH) ионообменной субстанцией, в моче электролит ( $M^+X^-$ ), существующий в виде соли, распадается в моче и высвобождает  $M^+$  катион (главной частью является  $Na^+$ ), с ионным замещением и высвобождением иона  $H^+$ .  $H^+$ -ион заставляет pH-индикатор бромтимоловый синий изменять цвет. (Цвет меняется от зеленого к желтому).

**Клиническое значение:** УВ отражает способность почек к концентрации мочи. На УВ мочи также влияет возраст, водный режим и потоотделение. Следовательно, для оценки функции почек нужно многократное длительное определение УВ мочи.

#### **Особое внимание:**

(а) образец мочи должен быть свежим, и не должен содержать щелочи или кислоты (например, хины, пиридина и т.п.), которые влияют на УВ мочи. При pH мочи выше 7, к результату следует добавить 0.005 для нейтрализации влияния щелочной мочи. При использовании анализаторов мочи такая поправка вносится автоматически.

(б) Тест-полоски для анализа мочи определяют только концентрацию ионов, и неионные компоненты мочи (глюкоза, белок) не влияют на результат.

#### **3. Реагентные полоски для определения кетонов.**

Кетоны мочи – продукт обмена жиров, это общее название ацетоацетата, кетона и  $\beta$ -гидроксипутиловой кислоты.

**Принцип реакции** в щелочных условиях ацетоацетат, кетон и нитроферрицианид натрия реагируют в моче, образуя смесь с амарантом. Чувствительность данного метода:

*для ацетоацетата 5-10 мг/дл, для кетонов 40-70 мг/дл, β-гидроксibuтиловая кислота не определяется.*

Кетоны и ацетоацетат являются летучими веществами, ацетоацетат разлагается до кетона при нагревании или при загрязнении мочи бактериями, и кетон улетучиваются. Следовательно, образец мочи должен быть свежим, чтобы не получить заниженные или ложноотрицательные результаты.

#### **4. Реагентные полоски для определения глюкозы.**

**Принцип реакции:** ферментная реакция. Главный компонент тест-полосок – глюкозооксидаза, каталаза и pH-индикатор. Во время реакции глюкоза реагирует с глюкозооксидазой, при этом вырабатывается  $H_2O_2$ , который реагирует с каталазой, в результате чего высвобождается свободный кислород. При этом изменяется цвет индикатора.

В настоящее время во всех тест-полосках используется ферментативный метод, так как он имеет ряд преимуществ: высокую специфичность, чувствительность, короткое время реакции. В различных тест-полосках могут использоваться разные индикаторы.

#### **Особое внимание:**

(а) Так как реакция тест-полосок с сахаром мочи является окислительно-восстановительной реакцией, то при наличии в образце некоторых сильно восстанавливающих веществ, может приводить к понижению значений или ложноотрицательным результатам. При высоком содержании витамина С в моче результаты могут оказаться заниженными или ложноотрицательными.

(б) Антибиотики влияют на результат теста Ван'а (биохимический ручной анализ), но не на результат «сухой химии».

(с) В длительно хранящихся образцах мочи сахар мочи может разлагаться бактериями, что может привести к занижению результатов.

(д) Высокая концентрация кетонов в моче может приводить к ложноотрицательным результатам, УВ может как завышать, так и занижать чувствительность тест-полосок к сахару, при наличии в моче больших количеств метаболитов препарата «Левадопа» реакция может ограничиваться, что приводит к занижению результатов. При загрязнении мочи сильными окислителями, например, пероксидами или гипохлоритами, могут наблюдаться ложноположительные результаты.

(е) Так как используемая в тест-полосках реакция ферментативная; результат зависит от времени и температуры реакции, поэтому время тестирования и указанная температура должны соблюдаться.

#### **5. Реагентные полоски для определения крови.**

**Принцип реакции:** ферментоподобная пероксидазная активность гема в гемоглобине катализирует разложение пероксида, при этом вырабатывается кислород, и цвет индикатора изменяется. Изменение цвета отражает концентрацию крови в моче.

#### **Особое внимание:**

(а) Нельзя тестировать мочу женщин во время менструации, так как моча может быть загрязнена следами крови.

(б) Тест-полоски реагируют не только с эритроцитами, но и со свободным гемоглобином, потому при разрушении эритроцитов, поэтому результаты тест-полосок не всегда совпадают с результатами микроскопии, их следует различать.

(с) Наличие в моче фермента теплового шока, миоглобина или некоторых бактерий может приводить к ложноположительной реакции. Наличие в моче высокой концентрации витамина С приводит к занижению результатов, следовательно, при тестировании данного параметра лучше использовать тест-полоски с определением концентрации витамина С.

#### **6. Реагентные полоски для определения уробилиногена и билирубина.**

В кислой среде соль диазония реагирует с уробилиногеном, продуцируя азобилирубин, т.о. изменяя цвет продукта.

**Принцип билирубиновой реакции:** существуют два типа тест-полосок для билирубина, в одних билирубин и диметиламинобензальдегид реагируют в кислой среде (билирубин реагирует с альдегидом, при этом образуются розово-красные продукты реакции). В других используется соль диазония в кислой среде, билирубин вступает в реакцию с солью диазония с образованием амарантового азокрасителя.

**Клиническое значение:** тестирование на билирубин имеет важное значение для диагностики закупорки желчевыводящих путей. Уробилиноген более точно отражает функцию печени; тестирование на билирубин помогает в диагностике желтухи. Тестирование на порфобилиноген может отражать функцию печени с высокой чувствительностью, поскольку желтуха не проявляется на ранней стадии вирусного гепатита, при этом порфобилиноген в моче уже значительно возрастает.

#### **7. Реагентные полоски для определения белка.**

**Принцип реакции:** «белковая ошибка индикатора», анион специфического индикатора

связывается с катионом белка, при ионизации цветная область индикатора изменяет цвет.

**Клиническое значение:** белок в моче является важным клиническим принципом. Реагентная область полоски более чувствительна к альбумину в моче. В норме у здоровых взрослых уровень белка в моче очень низкий (30-130 мг), и, как правило, обычными тестами не обнаруживается. При концентрации белка выше 1 000 мг/л, реакция на белок становится положительной (альбуминурия). Как правило, альбуминурия указывает на поражение клубочков и повышение их проницаемости.

#### **8. Реагентные полоски для определения нитритов.**

**Принцип реакции:** Нитриты мочи реагируют с аминобензоларсоновой кислотой или сульфаниламидом реагентной полоски в среде аминобензоларсоновой кислоты, образуя соль диазония, которая вступает в реакцию с нафтилэтилендиамингидрохлорной солью или тетрагидробензолхинолином реагентной зоны полоски с образованием розовых азосоединений.

**Клиническое значение:** при инфекциях мочевыводящего тракта некоторые бактерии превращают нитраты, поступающие с пищей, в нитриты. Таким образом, положительный результат на нитриты свидетельствует о наличии инфекции в мочевыводящих путях, которая, как правило, вызывается бактерией *Escherichia coli*. Если результат положительный, это указывает на количество бактерий в моче свыше 100 000 в мл.

#### **9. Реагентные полоски для определения лейкоцитов.**

Основными реагентами реагентной зоны являются индоловый эфир и соль диазония.

**Принцип реакции** эстераза нейтрофилов гидролизует индоловый эфир до диссоциированного гидробензола, который окисляется и реагирует с солью диазония, в результате чего образуются окрашенные продукты.

**Клиническое значение:** лейкоциты появляются в моче при воспалениях мочевого тракта.

#### **Особое внимание:**

(а) Тест-полоски реагируют только с эстеразой нейтрофилов, но не всех лимфоцитов, а у больных с трансплантацией почки в моче в основном наблюдаются лимфоциты, следовательно, результат тест-полоски может быть ложноотрицательным. В таких случаях должны применяться другие методы тестирования. К тому же при распаде лейкоцитов эстераза выходит в мочу. При этом результат микроскопии будет отрицательным, а результат тест-полосок положительным.

(b) загрязнение мочи формальдегидом, а также высокая концентрация билирубина или некоторых лекарств может приводить к ложным положительным результатам. Присутствие большого количества белка (выше 5 г/л) или значительных количеств цефалексина, ципрофлоксацина, гентамицина могут приводить к ложным отрицательным результатам.

#### **10. Реагентные полоски для определения аскорбиновой кислоты.**

**Принцип реакции:** аскорбиновая кислота восстанавливает окисленную форму 2,6-дихлориндолфенолята в N-фенол-2,6-дихлоро-P-амин фенол. При этом цвет тестовой зоны меняется с розового до бесцветного.

#### **Клиническое значение:**

(а) помогает оценить качество питания пациента.

(b) постоянный повышенный уровень витамина С может быть связан с мочекаменной болезнью.

#### **Особое внимание:**

(а) Некоторые компоненты мочи, например, гидроксibenзол и сульфгидрил могут влиять на результаты, завышая их, в то время как цистеин, гипосульфит могут занижать результаты.

(b) Если в моче содержатся сильные антиоксиданты (витамин С), результаты некоторых параметров могут оказаться заниженными.

(c) Витамин С нестабилен в щелочной моче, поэтому при долгом хранении результат может быть ошибочным.

## **2 Наиболее частые вопросы**

**1: Почему при использовании дистиллированной воды в качестве отрицательного контроля иногда наблюдаются положительные результаты?**

Дистиллированная вода не является отрицательным контролем для тест-полосок, поскольку ионы, присутствующие в ней, отличаются от ионов нормальной мочи.

**2: Почему при положительном результате на кровь результат не всегда подтверждается микроскопией?**

Поскольку это разные методики, их довольно трудно соотносить. В тест-полосках используется химический принцип реакции диоксигеназы, а при микроскопии подсчитывается количество красных

кровенных клеток, которые могут разрушаться при нефропатии, низком УВ мочи или высоком рН. При этом гемоглобин высвобождается в мочу, и результат тест-полосок оказывается положительным при видимом отсутствии эритроцитов. Кроме того, если в моче есть миоглобин или некоторые бактерии, это может вести к ложным положительным результатам из-за влияния некоторых ферментов.

### **3: Почему иногда результат по лейкоцитам не совпадает с микроскопией?**

Принцип реакции реагента на лейкоциты базируется на активности эстеразы гранулоцитов. Она может реагировать с индолфенольным эфиром, (есть пять типов лейкоцитов: лимфоциты, моноциты, нейтрофильные гранулоциты, ацидофильные и базофильные клетки), и этим методом можно выявить только гранулоциты. Наличие сахара в моче в концентрации выше 3 г/дл, высокий УВ, некоторые антибиотики наподобие цефалексина или цефастина, большое количество щавелевой кислоты, ахеомидин также занижают результат. Если моча загрязнена формальдегидом или содержит большое количество билирубина или некоторых лекарств (например, нитрафурантоина), или есть загрязнение вагинальными выделениями, это может приводить к ложному позитивному результату. При этом результат микроскопии будет отличаться от результатов «сухой химии».

### **4: Пропорциональна ли окраска зоны нитритов количеству бактерий в моче?**

Нет, глубина окраски не связана с уровнем бактериурии.

### **5: Может ли быть ложный негативный или ложный позитивный результат при тестировании на нитриты?**

Строго говоря, при любом тестировании может случиться ошибка, (например, при загрязнении полоски), и есть некоторая вероятность получить ложный позитивный результат. Если есть сомнения в результатах, следует проверить их методом культурального посева. В следующих случаях может наблюдаться ложный негативный результат:

A: высокое содержание аскорбиновой кислоты.

B: высокий УВ мочи.

C: отсутствие нитратов в рационе.

D: удержание мочи в мочевом пузыре менее 4 часов; бактерии не успевают превратить нитраты в нитриты.

E: бактерии не обладают нитрат-ревертазной активностью.

### **6: Освобождает ли использование тест-полосок от микроскопии?**

Если используются 10-параметровые тест-полоски (но не вместо микроскопии), микроскопия не обязательна при определенном сочетании результатов. Французские экспериментаторы доказали, что использование 10-параметровых тест-полосок для первичного скрининга, может значительно сократить трудовые затраты на традиционную микроскопию на 62%. Если результаты зон на лейкоциты, кровь, белок, нитриты негативные и рН меньше 7, а моча имеет нормальный вид, то микроскопия необязательна.

### **7: В некоторых лабораториях для анализа на УВ используется поляриметр, его результаты отличаются от результатов тест-полосок?**

Компания Dirui для измерения УВ использует продвинутую методику (по сравнению с денситометрией), преимуществом которой являются удобство, быстрота и чистота. Но это непрямой метод определения количества ионов в моче.

Так как количество ионов в моче пропорционально УВ, следовательно, изменение рН может использоваться Ки УВ. В таблице приведено сравнение этих методик:

	Полариметр	Тест-полоски
Температура	Можно сделать температурную коррекцию.	Нет необходимости в температурной коррекции.
Глюкоза	При увеличении глюкозы на 1 г/дл, следует вычесть 0,004 от показания УВ.	Не влияет.
Белок	При увеличении белка на 1 г/дл, следует вычесть 0,003 от показания УВ.	Не влияет.

Замечание: при визуальном считывании результатов тест-полосок, если рН выше 6.5, следует вычесть 0.025 от показания УВ. При автоматическом определении результат пересчитывается автоматически.

#### **8: Если в тубе попадают более узкие полоски, можно ли доверять их результатам?**

Во время процесса нарезания полосок на станке, иногда в тубы попадают более узкие остаточные краевые полоски, это происходит из-за статического электричества, это не влияет на качество других полосок в тубах.

#### **9: Почему А10 и Е10 от Dirui дают разные результаты кетонового теста в одном и том же образце?**

Поскольку А10 определяют ацетоацетат мочи, а Е10 ацетон и ацетоацетат, результат может отличаться.

#### **10. Почему результат на сахар отличается при ручном биохимическом анализе и автоматическом определении?**

Основным биохимическим методом определения сахара в моче является метод Бена, который определяет, не только глюкозу, но и другие сахара (фруктозу, мальтозу, лактозу, галактозу и т.д.), что может давать позитивную реакцию.

В полосках используется специфическая реакция на глюкозу, реагент не взаимодействует с другими сахарами, и точность метода выше.

#### **11. Почему результаты теста на сахар у пациентов с диабетом нормальные?**

Диабет вызывается пониженной секрецией инсулина, при этом повышается уровень сахара в крови и происходит перегрузка сахаром почек. При превышении порогового уровня сахар появляется в моче.

При легких формах диабета глюкоза натощак может быть в норме, повышаясь только после еды. При тяжелой форме заболевания сахар в моче тоже появляется при декомпенсированном диабете. У некоторых пациентов наблюдается ситуация склероза почечных клубочков, при этом фильтрация снижается, почечный порог повышается, и это приводит к уменьшению концентрации сахара в моче или даже негативному результату.

#### **12: Почему полоски упакованы в черные пластиковые тубы?**

Черный пластик оберегает полоски от воздействия прямого солнечного света. Полоски также следует уберегать от влаги воздуха.

#### **13. Почему результаты полосок на кровь, выпущенных до 1999 отличаются от полосок, которые Dirui выпускает сейчас?**

Поскольку в настоящее время полоски защищены от избыточного влияния аскорбиновой кислоты на результаты анализа, результат может быть более высоким, чем раньше.

#### **14. Что необходимо для стандартизации результатов «сухой химии»?**

Результат «сухой химии» полуколичественный, для того чтобы подтвердить результат, лаборатория должна провести дополнительные анализы. Главной целью является получение быстрых скрининговых результатов для высвобождения времени на перепроверку патологических образцов. Стабильность результатов в лаборатории проверяется с помощью внутрилабораторных контролей (методы оценки контроля приведены ниже). На следующие моменты следует обратить особое внимание:

1. Для достоверности результатов следует использовать только те тест-полоски, которые предназначены для данных анализаторов мочи.

2. Проблема позитивных результатов по крови в моче «сухой химии». Для того чтобы предотвратить пропуск позитивных образцов при скрининге, в случае, если оборудование успешно проходит внутрилабораторный контроль качества, не следует уменьшать чувствительность анализатора, чтобы сократить количество образцов для микроскопии.

3. Во время внутрилабораторного контроля из-за использования разного оборудования, разных полосок и разной чувствительности полосок при использовании одного и того же контрольного материала результаты контроля качества могут различаться. Следовательно, результаты оценки качества должны соответствовать данному виду продукции.

4. Если микроскопия необходима для определения таких параметров, как наличие измененных клеток, камней или песка в моче или для отслеживания результатов терапии, метод «сухой химии» для этого не пригоден, и не стоит полагаться только на его результаты.

5. Моча больных с нефропатией или заболеваниями почек не подходит для скрининговой проверки тест-полосками, такие образцы следует тестировать отдельно другими методами, чтобы случайно не пропустить при скрининге эти образцы.

6. Для клинических выводов, если результат «сухой химии» негативный, не следует избегать микроскопии или других методов для его перепроверки. Если результат «сухой химии» противоречит результатам микроскопии, трактовку результата следует делать, основываясь на полной клинической картине.

7. При трактовке результатов тестирования нужно учитывать возможное влияние на результаты таких веществ как лекарства, распад клеток, нестабильность ферментов, время хранения образца.

Валидация результатов «сухой химии» необходима, так как для тестирования используются разные системы.