

Руководство по использованию реагентных полосок для анализа мочи Dirui серии H фирмы DIRUI Industrial Co., Ltd.

Общие положения

Это руководство информирует о методах, принципах реакций и вопросах, требующих особого внимания при использовании реагентных полосок **Dirui** серии **H**.

Реагентные полоски **Dirui H** выпускаются для качественного и полуколичественного анализа мочи и являются реагентом для диагностики *in vitro*. Эти полоски предназначены только для профессионального использования.

Результаты на полосках можно считать как визуально, так и с помощью прибора.

Перед использованием полосок сравните этикетку на картонной упаковке с этикеткой на дне флакона. На них должны быть указаны параметры специфических тестов.

Следует внимательно прочитать руководство пользователя перед использованием реагентных полосок.

В таблице указаны тип полосок и определяемые компоненты:

Тип полосок	Определяемый компонент
Dirui H11	Уробилиноген. Билирубин. Кетоны (ацетоуксусная кислота). Кровь. Белок. Нитриты. Лейкоциты. Глюкоза. Удельный вес. pH. Аскорбиновая кислота
Dirui H10	Уробилиноген. Билирубин. Кетоны (ацетоуксусная кислота). Кровь. Белок. Нитриты. Лейкоциты. Глюкоза. Удельный вес. pH
Dirui H8	Уробилиноген. Билирубин. Кетоны (ацетоуксусная кислота). Кровь. Белок. Нитриты. Глюкоза. pH

Сбор и подготовка образца

Соберите свежую мочу в чистую и сухую посуду. Мочу не центрифугировать. Перед проведением теста образец тщательно перемешайте. Тестирование мочи следует провести в течение часа после сбора. Все образцы необходимо отбирать и хранить в санитарных условиях.

Примечание: Не используйте воду в качестве отрицательного контроля. Не добавляйте консервантов, они не предотвратят распада кетонов, билирубина или уробилиногена. При длительном хранении результаты теста на глюкозу, pH, нитриты и кровь могут измениться в результате вторичной бактериальной контаминации образца.

Методика визуального считывания результата

1. Погрузите реагентную область полоски в образец мочи на 2-3 секунды.
2. Проведите ребром полоски по краю сосуда, чтобы удалить избыток мочи.
3. Держа полоску горизонтально, сравните результат теста на полоске с цветной диаграммой на этикетке пенала. Запишите результат. Для полуколичественного определения результат регистрируют согласно времени, указанному на цветной диаграмме. Для качественного результата полоску следует анализировать в интервале от 1 до 2 мин. после погружения. Если результат будет положительным, следует повторить исследование мочи для получения полуколичественного результата, и сравнить результат теста с цветной диаграммой в указанное на диаграмме время. Значения pH и белка можно регистрировать в любой момент в течение 60 секунд после погружения. Изменение цвета после 2 минут выдержки не имеет диагностического значения.

Методика инструментального считывания результата

Следуйте указаниям, данным в соответствующем описании методики работы анализатора мочи.

Хранение

Полоски должны храниться в оригинальной упаковке. Никогда не используйте полоски с истекшим сроком годности. Каждая полоска употребляется однократно. Не выбрасывайте влагопоглотитель из пенала. Не вынимайте полоски из пенала, если они не используются сразу. После извлечения полосок для анализа следует немедленно и плотно закрыть пенал. Полоски хранят в сухом месте при температуре от +2°C до +30°C. Не храните полоски в холодильнике и не подвергайте их действию прямого солнечного света. Не прикасайтесь к реагентной области полоски. ЗАЩИТА ОТ ВЛАГИ, СВЕТА И ТЕПЛА ЯВЛЯЕТСЯ СУЩЕСТВЕННОЙ МЕРОЙ ПРОТИВ ИЗМЕНЕНИЯ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ РЕАГЕНТОВ. Разрушение реагентов вызывает обесцвечивание или потемнение реагентной области полоски. Если это происходит, или если результаты теста вызывают сомнение или противоречат ожидаемым результатам, следует проверить срок годности полосок и убедиться в том, что он ещё не прошёл, а также протестировать полоски при помощи контрольных растворов. Утилизацию проб мочи и использованных реагентных полосок следует выполнять в соответствии с правилами, установленными законодательством РФ для биологических отходов.

Ограничение процедур

Как и для всех лабораторных процедур, точный диагноз и терапевтические рекомендации не должны основываться только на одном результате или методе.

Принципы реакций

Глюкоза: Фермент глюкозооксидаза катализирует окисление глюкозы атмосферным кислородом, что приводит к образованию глюконовой кислоты и перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода выделяет активный кислород. Этот кислород окисляет иодид калия, что приводит к изменению окраски.

Билирубин: Взаимодействие связанного билирубина и соли дихлорбензола диазония в сильноокислой среде приводит к образованию азокрасителя.

Кетоны: Нитропруссид натрия в щелочной среде реагирует с ацетоуксусной кислотой с образованием фиолетовой окраски раствора.

Удельный вес: Электролит (M^+X^-) в моче в форме соли реагирует с полиметилвиниловым эфиром и малеиновой кислотой ($-COOH$), которые являются слабокислыми ионно-обменниками. В реакции образуется водородный ион [H^+], который реагирует с pH-индикатором и меняет его окраску.

Кровь: Тест основан на способности гемоглобина катализировать окисление окрашенного индикатора стабилизированным органическим гидропероксидом.

pH: Метод основан на использовании pH-индикаторов.

Белок: Тест основывается на принципе «белковой ошибки индикатора». Анион специфического pH-индикатора взаимодействует с катионом белковой молекулы, вызывая дальнейшую ионизацию индикатора и изменение окраски.

Уробилиноген: Уробилиноген при взаимодействии с диазнием в сильноокислой среде образует розовые азокрасители.

Нитриты: Нитриты мочи и ароматический аминсульфаниламид диазотируются с образованием диазосоединения, которое реагирует с тетрагидробензо(h)хинолин-3-фенолом, что приводит к изменению окраски.

Лейкоциты: Метод основан на ферментативной реакции, катализируемой лейкоцитарной эстеразой, которая катализирует гидролиз пирроламиноокислого эфира с высвобождением 3-гидрокси-5-фенилпиррола. Пиррол реагирует с диазнием, образуя продукты пурпурного цвета.

Аскорбиновая кислота: Аскорбиновая кислота совместно с 1,2-дигидроксиалкенами в щелочных условиях восстанавливает голубой 2,6-дихлориндо-фенолят в бесцветный N-(p-фенол)-2,6-дихлоро-P-аминофенол.

Замечания

Глюкоза: Тест предназначен для определения D-глюкозы и практически не реагирует на другие сахара. Аскорбиновая кислота в концентрации до 0,28 ммоль/л и/или ацетоуксусная кислота в концентрации до 1,1 ммоль/л не влияют на тест. Малое количество глюкозы, в норме выделяемое почками, обычно находится ниже уровня чувствительности реагентной области тест-полоски.

Билирубин: В норме билирубин в моче нельзя выявить даже очень чувствительными методами. Если тест дает положительный результат, то, как правило, это указывает на патологию и требует дальнейшей проверки. Ложно-положительный результат может быть получен в пробах мочи больных, принимающих лекарственные препараты, которые окрашивают мочу в красный цвет (например,

феназопиридина). Ложноотрицательный результат может вызвать высокая концентрация аскорбиновой кислоты (свыше 500 мг/л) или длительное хранение образца мочи на свету.

Кетоны: Реагентная область полоски реагирует с ацетуксусной кислотой в моче. Реагент не взаимодействует с ацетоном или β -гидрооксипропановой кислотой. Образцы нормальной мочи обычно дают отрицательные результаты при тестировании на кетоны. Ложноположительные результаты могут проявиться при анализе сильно пигментированной мочи, или мочи, содержащей большое количество метаболитов препарата «Леводопа».

Удельный вес: Реагентная полоска позволяет измерять удельный вес образцов мочи от 1,000 до 1,030. Средняя ошибка между результатами, полученными при тестировании полоской и при определении коэффициента преломления составляет всего 0,005. Чтобы получить более точный результат, можно добавить 0,005 к значениям, полученным в образцах мочи с $\text{pH} \geq 6,5$. Прибор для анализа мочи может автоматически делать эти поправки при анализе полосок. Неионные компоненты в моче, такие как глюкоза или рентгеноконтрастные вещества, не влияют на результат теста. Занижение результатов теста может наблюдаться в щелочной или сильно забуференной моче. Завышенные результаты могут быть получены в присутствии умеренного количества белка (1,75 г/л).

Кровь: У пациентов может наблюдаться «следовая» реакция. В каждом индивидуальном случае требуется клиническое заключение. Появление зеленых пятен (целые эритроциты) или зеленого цвета (гемоглобин/миоглобин) на реагентной части полоски в течение 60 секунд указывает на необходимость дальнейшей диагностической проверки. Кровь часто обнаруживается в моче менструирующих женщин. Значение гемоглобина в интервале 150 - 620 мкг/л приблизительно соответствует количеству 5-15 клеток/мкл целых эритроцитов.

Реагентная полоска чрезвычайно чувствительна к гемоглобину и может быть использована в качестве дополнения к микроскопическому исследованию. Полоски в одинаковой степени чувствительны как к гемоглобину, так и к миоглобину. Пониженная реакция зоны на кровь может наблюдаться в моче с большим значением удельного веса. Завышение результатов или ложноположительные реакции наблюдаются при инфекциях мочевыводящих путей (микробная пероксидаза); в присутствии аскорбиновой кислоты в концентрации выше 5,0 ммоль/л и остатков сильных окисляющих средств, таких как гипохлорит, на стенках посуды.

pH: Область определения pH обычно находится в диапазоне 5,0-8,5 при визуальном и 5,0-9,0 при инструментальном тестировании.

Белок: Реагентная область полоски более чувствительна к альбумину, чем к глобулинам, гемоглобину, белку Бенс-Джонса и мукопротеину. Поэтому отрицательный результат теста не означает, что вышеперечисленные белки отсутствуют в моче. Обычно белок не обнаруживается в моче с помощью стандартных методов, хотя небольшое количество белка в

норме выделяется почками. Результат считается положительным, когда цвет полоски темнее, чем метка на диаграмме. Ложноположительные результаты могут быть получены в сильно забуференных щелочных образцах мочи. Образцы мочи, загрязненные соединениями четвертичного аммония и очистителями, содержащими хлорексидин, также могут показать ложноположительные результаты.

Уробилиноген: Реагентные полоски могут обнаружить уробилиноген в моче в концентрациях до 3 мкмоль/л (приблизительно 0,2 единицы Эрлиха/дл). Концентрация 33 мкмоль/л является критическим значением (американский стандарт), отражая переход от нормального состояния к патологии, что требует дальнейшего исследования. Отрицательные же результаты не являются окончательными для заключения об отсутствии уробилиногена в моче.

Нитриты: Грамотрицательные бактерии в моче превращают нитраты, в норме выделяемые почками, в нитриты. Реагентная полоска избирательно чувствительна к нитритам и не реагирует с другими веществами в моче. Розовые пятна или края на полоске не следует рассматривать как положительный результат, но развитие однородной розовой окраски любой степени интенсивности должно быть засчитано в качестве положительного результата. Степень развития окраски и число бактерий не находятся в прямой зависимости. Отрицательный результат не означает того, что бактерии отсутствуют. Ложноотрицательный результат может быть в следующих случаях: 1) если моча не содержит микроорганизмов, превращающих нитраты в нитриты; 2) если моча не задерживается в мочевом пузыре достаточно долго (более четырех часов), необходимых для превращения нитрата в нитрит; 3) если нитраты отсутствуют в продуктах питания. Высокий удельный вес мочи также может понизить чувствительность теста. Содержание аскорбиновой кислоты в моче в концентрации менее 2,8 ммоль/л не влияет на результат теста.

Лейкоциты: Тестовая область полоски реагирует с эстеразой гранулоцитов. Образцы нормальной мочи обычно дают отрицательный результат, а положительные результаты (один или более «+») имеют клиническое значение. Индивидуально наблюдаемые следовые результаты могут иметь неясное клиническое значение, однако повторяющиеся следовые результаты указывают на патологию. Положительные результаты у женщин могут быть случайными из-за загрязнения образца выделениями из влагалища. Повышенные концентрации глюкозы (160 ммоль/л) или высокий удельный вес могут быть причиной заниженных результатов теста.

Аскорбиновая кислота: При помощи полоски можно обнаружить аскорбиновую кислоту в моче. Благодаря определению ее уровня, можно точно узнать уровень аскорбиновой кислоты в организме и оценить степень её влияния на определение уровней глюкозы, билирубина, крови и нитратов. Наличие окислителей в образцах мочи (таких как перманганат калия или гипохлорит) понижает чувствительность теста.

Чувствительность и тестовый диапазон реагентных полосок серии Dirui H

Компонент	Чувствительность	Диапазон инструментального теста	Диапазон визуального теста
Глюкоза	До 2.8 – 5.5 ммоль/л	Отр. - 55	
Белок	До 0.15 – 0.3 г/л	Отр. - 3.0	Отр. - 20.0
Кетоны	До 0.5 – 1.0 ммоль/л	Отр. - 7.8	Отр. - 16.0
Кровь	До 5 - 15 кл/мкл	Отр.- 200	
Билирубин	До 3.3 - 8.6 мкмоль/л	Отр.- 100	
Нитриты	До 13 - 22 мкмоль/л	Отр.- Полож.	
Лейкоциты)	До 5 - 15 кл/мкл	Отр.- 500	
Уробилиноген	До 3.3 - 16 мкмоль/л	3,3 - 131	
Аскорбин. к-та	До 0.3 - 0.6 ммоль/л	0 – 5,0	
pH	-	5,0 – 9,0	5,0 – 8,5
Удельный вес	-	1,005 – 1,030	1,000 – 1,030

Специфические особенности теста

Специфические особенности теста базируются на данных клинических и аналитических исследований. В клинических образцах чувствительность теста зависит от нескольких факторов: изменчивости цветовосприятия, наличия или отсутствия ингибиторных факторов, обычно обнаруживаемых в моче, удельного веса, pH и условий освещения при визуальном считывании результата. Каждый окрашенный блок или инструментальные данные представляют собой

диапазон значений. Из-за особенностей образца и разного цветовосприятия, образцы с концентрацией анализируемого соединения, попадающие между номинальными уровнями, могут интерпретироваться как результаты более высокого или более низкого уровня. Результаты выше второго уровня в тестах на белок, глюкозу, кетоны и уробилиноген, как правило, совпадают с истинной концентрацией. Точного соответствия между визуальными и инструментальными результатами достичь невозможно из-за различий между

восприятием человеческого глаза и оптической системой аналитических приборов.

Состав реагентных зон (расчет на момент производства)

Белок: 0.1% (в/в) тетрабромфеноловый синий; 97.4% (в/в) буфер; 2.5% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Кровь: 26.0% (в/в) диизопропилбензол дигидропероксид; 1.5% (в/в) тетраметилбензидин; 35.3% (в/в) буфер; 37.2% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Глюкоза: 1.7% (в/в) глюкозооксидаза (микробная, 123 Е); 0.2% (в/в) пероксидаза (из хрена, 203 МЕ.); 0.1% (в/в) иодид калия; 71.8% (в/в) буфер; 26.2% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Кетоны: 5.7% (в/в) нитропруссид натрия; 29.9% (в/в) нереагирующие ингредиенты; 64.4% (в/в) буфер.

Лейкоциты: 4.3% (в/в) пирроламиноокислотный эфир; 0.4% (в/в) соль диазония; 92.6% (в/в) буфер; 2.7% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Нитриты: 1.3% (в/в) *p*-арсанило -*N*-(1-нафтол)-этилен-диамин; 0.9% (в/в) тетрагидрохиолин; 89.6% (в/в) буфер; 8.2% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Удельный вес: 4.8% (в/в) бромтимоловый синий; 90.2% (в/в) поли(метилвиниловый эфир комалеиновый ангидрид); 5.0% (в/в) гидроксид натрия.

pH: 3.3% (в/в) бромкрезоловый зеленый; 55.0% (в/в) бромтимоловый синий; 41.7% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Билирубин: 0.6% (в/в) 2,4-дихлорбензамина диазония соль; 57.3% (в/в) буфер; 42.1% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Уробилиноген: 0.2% (в/в) соль прочного голубого В (*Fast Blue B*); 98.0% (в/в) буфер; 1.8% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

Аскорбиновая кислота: 0.8% (в/в) гидрат 2,6-дихлориндофенолята; 40.7% (в/в) буфер; 58.5% (в/в) нереагирующие ингредиенты.

