

Лабораторная медицина

Выполнил: Серов Кирилл 4607

Определение относительной плотности мочи урометром

- Принцип метода:
- Относительная плотность мочи составляет в норме 1,015-1,025 г/см³. Определение относительной плотности мочи производят с помощью специальных ареометров небольшого размера, называемых урометрами. Урометры бывают двух типов: первый - для мочи с низкой и нормальной относительной плотностью (с делениями от 1,000 до 1,030 г/см³), второй - для мочи с высокой относительной плотностью (с делениями от 1,030 до 1,060 г/см³).

- ХОД РАБОТЫ

- В небольшой цилиндр с таким диаметром, чтобы урометр свободно плавал в нем, наливают по стенке исследуемую мочу и осторожно погружают в нее урометр. Производят отсчет, беря ту линию на шкале урометра, которая соответствует нижнему мениску жидкости. Все определения производят при температуре 20°C , поскольку шкала урометра проградуирована в соответствии с этой температурой. Если моча имеет другую температуру, то на каждые 3°C выше этой температуры нужно прибавить, а на каждые 3°C ниже – убавить по 0,001 от показания шкалы урометра.



Определение белка в моче

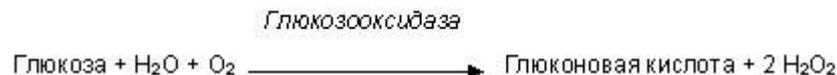
Все реакции на содержание белка в моче основаны на его денатурации и осаждении. Перед проведением анализа необходимо профильтровать и подкислить щелочную мочу. Для определения белка в моче применяют пробы кипячения с сульфасалициловой кислотой, Геллера.

Количественное определение белка проводят по методу Робертса — Стольников (Брандберга). Этот метод получил широкое распространение благодаря достаточной точности и простоте постановки. В его основе лежит проба Геллера с использованием 50%-ной азотной кислоты. При постановке реакции обращают внимание на плотность, ширину и время появления белого кольца на границе разделения сред. Образование белого нитевидного кольца на 3-й минуте после наслоения 50%-ной азотной кислоты на мочу соответствует 0,033 % белка в моче. Если нитевидное кольцо образуется тотчас после наслоения реактива, мочу следует развести дистиллированной водой или изотоническим раствором хлорида натрия в 2 раза. При образовании широкого кольца делают четырехкратное разведение (1 часть мочи на 3 части дистиллированной воды или изотонического раствора хлорида натрия). При необходимости делают восьмикратное разведение и т. д. В разведенной моче снова определяют время появления кольца. Полученное разведение умножают на 0,033, и это произведение отражает количественное содержание белка в моче.

- Если реакция с сульфасалициловой кислотой дает положительный результат, а при количественном способе белок в моче не определяется, то считают, что в ней имеются лишь следы белка.

Определение в моче глюкозы

- 1. Редуктометрические. *Почти не используются*
- 2. Колориметрические. *Почти не используются*
- 3. Ферментативные:
 - а) глюкозооксидазный
 - - фотометрический по конечной точке
 - - фотометрический кинетический
 - - отражательная фотометрия – сухая химия
 - - электрохимический
 - б) гексокиназный.
- Первые два метода крайне неудобны, токсичны и обладают низкой точностью, поэтому мы на них не будем останавливаться.
- **Глюкозооксидазный метод**
- Сегодня наибольшее распространение получили методы, основанные на использовании фермента – глюкозооксидазы. В основе метода лежит следующая реакция:



СПОСОБЫ РЕГИСТРАЦИИ ГЛЮКОЗООКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИИ

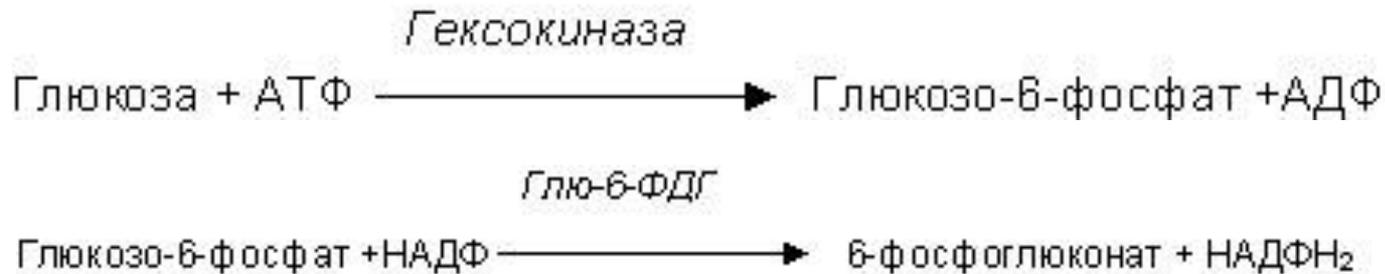


- Среди вышперечисленных способов регистрации наибольшее распространение получил **фотометрический биохимический метод**, в котором молекулы перекиси водорода под действием фермента пероксидазы расщепляются с образованием активной формы кислорода – супероксид анион-радикала – O_2^- , который в свою очередь окисляет хромоген, что приводит к значительному изменению спектра поглощения хромогена.



- Наряду с методом фотометрирования по конечной точке, несколько лет назад появились наборы, в которых реализован **кинетический метод фотометрирования**. Суть метода состоит в том, что при определенном соотношении активностей глюкозооксидазы и пероксидазы, скорость образования окрашенного соединения некоторое время после внесения пробы в рабочий раствор будет пропорциональна концентрации глюкозы в пробе. Преимущество такого метода состоит в том, что результат не зависит от наличия в пробе других соединений, поскольку поглощение последних стабильно во времени. Этот метод требует применения кинетического фотометра, например **Stat Fax 1904+**, **Stat Fax 3300**, полуавтоматических анализаторов, например **Clima 15**, или автоматических биохимических анализаторов. Измерение концентрации глюкозы из цельной крови удобно выполнять с помощью приборов, работа которых основана на амперометрическом принципе измерения, при помощи специальных ферментных датчиков. Перекись водорода является крайне нестабильным химическим соединением и она может служить источником заряженных частиц. Именно это и используется в ферментных датчиках мембранного типа или электрохимических элементах портативных глюкометров.

- **Гексокиназный метод**
- Гексокиназный метод состоит из двух последовательных реакций, но совершенно других:



- Регистрация осуществляется при длине волны 340 нм по светопоглощению НАДН. Этот метод является высокоспецифичным и не дает реакции с другими компонентами сыворотки крови. Гексокиназный метод считается референтным для определения глюкозы. Как правило, он линеен до 50 ммоль/л, что позволило его широко рекомендовать для клиник с эндокринологическими отделениями.

Определение билирубина и уробилиногена

- Билирубин - основной конечный метаболит порфиринов, выделяемый из организма. Моча здоровых людей содержит минимальные, неопределяемые количества билирубина. Билирубинурия наблюдается главным образом при поражении паренхимы печени или механическом затруднении оттока желчи. При гемолитической желтухе реакция мочи на билирубин бывает отрицательной.
- Уробилиноген в моче. Уробилиноген и стеркобилиноген образуются в кишечнике из выделившегося с желчью билирубина. В норме в моче здорового человека уробилиноген определяется в следовых количествах - выделение его с мочой за сутки не превышает 10 мкмоль (6 мг). При стоянии мочи уробилиноген переходит в уробилин.
- Оба этих компонента определяются по методу “сухой химии”