Кировское областное государственное профессиональное образовательное бюджетное учреждение «Кировский медицинский колледж»

**ПРОЕКТ**

**ПРЕДМЕТ: химия**

**ТЕМА: «Химические методы исследования отделимого мочевыделительной системы.»**

Работу выполнила:

студентка 1 курса

специальности

 34.02.01 сестринское дело

Задирей Алина Александровна

Руководитель проекта:

преподаватель химии

Т.Л.Резник

**Киров**

**2022**

**Оглавление**

[Аннтоция. 3](#_Toc100088872)

[Введение 3](#_Toc100088873)

[Определение реакции мочи. 5](#_Toc100088874)

[Определение белка в моче. 8](#_Toc100088875)

[1.Унифицированная проба с сульфосалициловой кислотой 12](#_Toc100088877)

[2. Проба Геллера 12](#_Toc100088878)

[Определение глюкозы в моче. 17](#_Toc100088879)

[1. Унифицированный метод определения с помощью индикаторных полосок 17](#_Toc100088880)

[2. Унифицированная проба Гайнеса 17](#_Toc100088881)

[Методы определения кетоновых тел в моче 19](#_Toc100088882)

[1. Проба Ланге 22](#_Toc100088883)

[2. Проба Легаля 22](#_Toc100088884)

[3. Проба Лестраде 22](#_Toc100088885)

[4. Проба Ротеры 23](#_Toc100088886)

[5. Экспресс-тесты 23](#_Toc100088887)

[Заключение: 23](#_Toc100088888)

# **Аннотация.**

Цель и задачи моего проекта сформировать необходимые теоретические и практические знания о химическом составе мочи; изучить методы исследования химических показателей мочи, определить причины изменения химического состава мочи при различных состояниях в организме человека.

В ходе исследования были получены новые теоретические и практические результаты:

1. Ошибки при исследовании показателей мочи чаще всего происходят из-за нарушений правил преаналитического этапа;

2. Исследование мочи методом сухой химии – не является 100% точным исследованием и результаты необходимо подтверждать унифицированными методами.

3. Важным параметром в исследовании мочи является обнаружение глюкозы и кетоновых тел в моче.

4. Выделено ряд преимуществ определение химических показателей в моче тест - полосками по сравнению с обычными лабораторными методами: быстрота выполнения анализа и экономия времени. Сухие реактивы устойчивее жидких, компактнее, удобнее при транспортировке и хранении.

5. При оценке результатов проб на химические показатели в моче выяснено, что разные показатели в моче неустойчивы.

Таким образом, данная тема имеет перспективы развития в следующих направлениях: «Лабораторная диагностика», «Урология», «Терапия».

# **ВВЕДЕНИЕ**

Актуальность темы проекта.

На протяжении всей истории человечества моча являлась первой жидкостью организма, подлежащей изучению, и постоянно снабжала медицину информацией о функционировании организма. Именно клинический анализ мочи является одним из наиболее часто выполняемых скрининговых лабораторных исследований. Совокупность физических и химических параметров мочи, а также анализ содержания в ней различных продуктов метаболизма дает возможность оценить не только функцию почек и мочевыводящих путей, но и состояние некоторых обменных процессов, а также выявить нарушения в работе внутренних органов.

Клинический анализ мочи включает также исследование химических показателей, таких как рН, содержание белка, глюкозы, желчных пигментов, кетоновых тел и т.д. Выполнив химические исследования мочи можно проследить характер изменений, которые происходят в организме под воздействием того или иного заболевания. Норма или отклонение от таковой рассматривается как фактор, свидетельствующий о патологии и её особенностях. Расшифровка анализов дает оценку функции мочевыводящих путей, почек и ряда других органов.

**Цель проекта**: сформировать необходимые теоретические и практические знания о химическом составе мочи; изучить методы исследования химических показателей мочи, применяемых в лабораторной диагностике, определить причины изменения химического состава мочи при различных состояниях в организме человека.

**Задачи проекта**:

1. Выявить нормальные показатели химического состава мочи, выявляемые при общем анализе исследования мочи;
2. Выявить наиболее распространённые унифицированные лабораторные методы исследования химических показателей мочи.
3. Сделать вывод о причинах изменения химического состава мочи при различных состояниях в организме человека.

**Предмет исследования**: химический состав мочи.

**Объект исследования**: моча

**Теоретическая значимость проекта. В настоящее время существует много разных мнений о методах исследования химического состава мочи, значимости исследований, трактовки результатов и выводов о диагностическом значении мочи. В данном проекте будут изучены наиболее важные вопросы при исследовании химического состава мочи и трактовке результатов лабораторного анализа.**

**Практическая значимость проекта.** Проведение химического анализа мочи в настоящее время является широко распространенными лабораторными исследованиями. Химический состав моча отражает изменения, происходящие во внутренней среде организма, в том числе и при тяжелых заболеваниях внутренних органов. Для диагностики заболеваний, контроля лечения больному необходимо с определенной периодичностью сдавать анализ мочи на выявление изменений в химическом составе. Например, обнаружение глюкозы в моче при сахарном диабете позволяет вовремя определить нарушения обмена веществ, проблемы с почками и другими внутренними органами.

**Выделение** – совокупность процессов, обеспечивающих поддержание оптимального состава внутренней среды организма путём удаления чужеродных веществ, конечных продуктов метаболизма (СО2, мочевина, мочевая кислота, аммиак, билирубин), избытка воды и других веществ. Некоторые вещества практически не подвергаются серьёзному превращению в организме, но определяют собой постоянство внутренней среды (ионы Na, K, Cl и др.). Органы выделения – это почки, потовые железы, лёгкие, кишечник, сальные железы кожи, печень.

Этапы процесса выделения:

1) образование экскретов и поступление их из тканей в кровь;

2) транспорт экскретов кровью к органам, обезвреживающих их, к органам выделения, в депо питательных веществ;

3) выведение экскретов из организма.

Основной системой выделения у человека – мочевыделительная система, на долю которой приходится удаление более 80% конечных продуктов обмена веществ. Эта система включается в себя органы, которые обеспечивают образование мочи - почки, и выведение её из организма – мочеточники, мочевой пузырь и мочеиспускательный канал.

# **Определение реакции мочи.**

**Органические кислоты и кислые соли неорганических кислот, содержащиеся в моче, диссоциируют в водной среде, выделяя известное количество свободных ионов водорода (H+). Концентрация (активность) свободных ионов водорода представляет истинную реакцию мочи – активную кислотность (pH).**

Реакцию мочи следует определять сразу после доставки ее в лабораторию, так как при стоянии мочи выделяется углекислота и реакция смещается в щелочную сторону.

рН мочи у здорового человека может колебаться в широких пределах, состав­ляя от 4,5 до 8,5, что связано со способностью почек избирательно экскретировать с мочой кислоты и основания в зависимости от потребностей организма и тем самым участвовать в поддержании его кислотно-основного состояния. Щелоч­ные компоненты почки выводят в виде NaНСО3 и Nа2НРО4 и некоторых других соединений. Кислые компоненты экскретируются главным образом в виде NаН2Р04, NН4С1 и (NH4)2 SО4.

рН мочи зависит от характера питания. В обычных физиологических услови­ях у взрослого человека, находящегося на смешанном питании, реакция мочи сла­бокислая (рН 5,5-6,5, в среднем 6,0), что обусловлено особенностями метаболиз­ма, в процессе которого образуются соединения главным образом кислого харак­тера. При употреблении большого количества мясной пищи, богатой белками, моча еще более подкисляется, так как белки служат дополнительным источником кислот. Ограничение белков в питании, употребление растительной пищи, бога­той щелочными компонентами, напротив, вызывает сдвиг реакции мочи в щелоч­ную сторону.

Данное исследование производят сразу же после доставки мочи, так как стоянии реакция изменяется.

**Унифицированный метод определения реакции мочи с индикатором бромтимоловым синим.**

*Приготовление реактива:* 0,1 г растертого в фарфоровой ступке индикатора растворяют в 20 мл теплого этилового спирта и после охлаждения до комнатной температуры доводят водой до 100 мл.

*Ход определения:* К 2 – 3 мл мочи добавляют по 1 – 2 капли раствора индикатора. Граница переходных тонов индикатора лежит в пределах pH от 6,0 до 7,6; этот диапазон обеспечивает определение кислой и щелочной реакции. Желтый цвет соответствует кислой реакции, бурый – слабокислой, травянистый – нейтральной, буровато-зеленый – слабощелочной, зеленый и синий – щелочной.

Практическое выполнение этой реакции очень просто и при большом количестве исследований значительно экономит время, однако дает только ориентировочное представление о кислой или щелочной реакции, отличить мочу с нормальной кислотностью от патологически кислой не представляется возможным.

**Определение реакции мочи с помощью индикаторных полосок.**

Определение реакции мочи производят, используя монофункциональные или полифункциональные индикаторные полоски. Большинство полосок рассчитано на определение реакции мочи в диапазоне от 5 до 9 и основано на двойном индикаторном методе, суть которого заключается в использовании в качестве реагентов индикаторной зоны для pH двух красителей - бромтимолового синего и метилового красного. В зависимости от реакции мочи индикаторная зона приобретает соответствующий цвет. Значение pH определяется либо визуально (в соответствии со шкалой сравнения, где указано, какое значение pH какой окраске соответствует), либо с помощью мочевого анализатора (фотометрически). Метод достаточно прост и быстр в исполнении. При его использовании необходимо соблюдать все требования, предъявляемые в инструкции к данному виду индикаторных полосок.



*Диагностическая информация*

Определение рН мочи не имеет большого клинического значения, так как не отражает общее количество ионов водорода, выводимых с мочой. О суммарной экскреции Н+ можно судить, определяя титруемую кислотность мочи и аммоний­ные соли (аммиак).

В условиях патологии кислотность мочи повышается в случае развития мета­болического или респираторного ацидоза любого генеза (сахарный диабет, рахит в период разгара, дыхательная, почечная, сердечная недостаточность, голодание, лихорадочные состояния).

Щелочная моча появляется при патологических состояниях, сопровождаю­щихся развитием респираторного или метаболического алкалоза; при рассасыва­нии экссудатов и транссудатов, имеющих щелочную реакцию; при инфекциях мочевыводящих путей, вызванных микроорганизмами, имеющими уреазу, спо­собную расщеплять мочевину. Кроме того, щелочную реакцию моча приобретает при введении бикарбоната натрия, употреблении щелочных минеральных вод.

Обычно изменения рН мочи протекают параллельно с изменениями рН кро­ви. Однако при некоторых видах патологии наблюдается расхождение в данных рН крови и мочи.

Так, щелочная реакция мочи отмечается при гиперхлоремическом ацидозе, почечном тубулярном ацидозе, при заболеваниях почек с выраженным тубулоин-терстициальным компонентом (интерстициальный нефрит, тяжелые формы гломерулонефрита, пиелонефрита), при отравлении солями тяжелых металлов, сульфаниламидами и др.

Напротив, при гипокалиемическом алкалозе моча имеет парадоксально кис­лую реакцию. Алкалоз с сохранением кислой реакции мочи может иметь место при длительном использовании салуретиков.

Реакция мочи может иметь значение для правильной трактовки результатов других исследований мочи (в щелочной моче происходит разрушение лейкоци­тов, эритроцитов, попавших в мочу), кроме того, реакция мочи влияет на размно­жение бактерий, эффективность антибактериальной терапии. Реакция мочи оказывает влияние на кристаллизацию и осаждение солей, присутствующих в моче. Резко кислая реакция мочи (рН < 5,5) предрасполагает к образованию уратных камней, в щелочной моче выпадают в осадок мочекислый аммоний, трипельфосфаты.

*Референсные значения: 5,0*

Повышение (рН > 7):

* метаболический и дыхательный алкалоз;
* хроническая почечная недостаточность;
* почечный канальцевый ацидоз (тип I и II);
* гиперкалиемия;
* первичная и вторичная гиперфункция паращитовидной железы;
* диета с большим содержанием фруктов и овощей;
* длительная рвота;
* инфекции мочевыделительной системы, вызванные микроорганизмами, расщепляющими мочевину;
* введение некоторых лекарственных препаратов (адреналина, никотинамида, бикарбонатов);
* новообразования органов мочеполовой системы.

Снижение (рН около 4):

* метаболический и дыхательный ацидоз;
* гипокалиемия;
* обезвоживание;
* голодание;
* сахарный диабет;
* туберкулез;
* лихорадка;
* выраженная диарея;
* прием лекарственных препаратов: аскорбиновой кислоты, кортикотропина, метионина;
* диета с высоким содержанием мясного белка, клюквы.

# **Определение белка в моче.**

**Протеинурии.**

За сутки через почечные клубочки фильтруется 30-50 г белка. В конечную мочу попадает незначительное количество его, которое не выявляется обычными методами. Принято считать, что в моче здорового человека белка не содержится. Появление его в моче называется протеинурией.

Протеинурии возникают при фильтрации белка из крови в почке или присоединении белка к моче в мочевыводящих путях.

В зависимости от причины, вызывающей протеинурию, различают ренальную (почечную) или экстраренальную (внепочечную) протеинурию.

**Ренальные протеинурии** делят на:

1. органические
2. функциональные

Среди *органических протеинурий* по механизму происхождения условно выделяют:

* клубочковую (возникает при повышении проницаемости почечного фильтра). Проницаемость почечного фильтра увеличивается при гломерулонефритах, инфекционных и токсических поражениях паренхимы почек и при других патологических состояниях – недостаточности кровоснабжения почек (декомпенсация сердечной деятельности).
* канальцевую (возникает при снижении реабсорбции белка в почечных канальцах). Нарушение реабсорбции чаще всего связано с повреждением эпителия канальцев (амилоидоз).

 **Патологическая почечная протеинурия** является одним из наиболее важных признаков органического поражения клубочкового аппарата и почечных канальцев. Наиболее частыми причинами патологической почечной протеинурии являются:

**1.** острый и хронический гломерулонефрит;

**2.** острый и хронический пиелонефрит;

**3.** нефропатия беременных;

**4.** застойная недостаточность крвообращения;

**5.** амилоидоз почек;

**6.** туберкулез почек;

**7.** гипертоническая болезнь;

**8.** системные заболевания соединительной ткани с поражением почек;

**9.** геморрагический васкулит;

**10.** выраженная анемия;

**11.** анафилактический шок и другие причины.

Особенно значительной протеинурия бывает при *нефротическом синдроме*, когда концентрация белка в моче достигает 3–10 г/л. Следует помнить также, что у больных с заболеваниями почек протеинурия усиливается при: 1) выполнении физической нагрузки; 2) длительном нахождении в вертикальном положении; 3) охлаждении тела.

**Ренальные *функциональные протеинурии*** являются временными и могут встречаться при некоторых физиологических состояниях: усиленной мышечной работе, переохлаждении, у новорожденных в первые дни жизни.

**Функциональная почечная протеинурия** обусловлена временным преходящим увеличением фильтрации белков сыворотки крови в ответ на сильные внешние раздражения (необычные статические и динамические нагрузки, повышенная мышечная работа, лихорадка, интоксикация) и не связана с поражением почек и мочевыводящих путей. Полагают, что функциональная протеинурия вызвана замедлением почечного кровообращения или преходящим нарушением проницаемости клубочковых капилляров в результате вторичного токсико-инфекционного поражения (О. Шюк).

Следует помнить о нескольких наиболее распространенных вариантах функциональной почечной протеинурии:

**1.** *Ортостатическая* (юношеская) протеинурия выявляется у здоровых молодых лиц астенического телосложения с лордозом поясничного отдела позвоночника. Она появляется при длительном нахождении в вертикальном положении и исчезает в горизонтальном положении.

**2.** *Рабочая (маршевая)* протеинурия, появляющаяся после тяжелой физической нагрузки.

**3.** *Лихорадочная* протеинурия, возникающая при различных заболеваниях, сопровождающихся повышением температуры тела. Такая протеинурия исчезает после нормализации температуры.

**4.** *Алиментарная* протеинурия (после обильной белковой пищи).

**5.** *Пальпаторная* протеинурия (после продолжительной пальпации почек).

**6.** *Эмоциональная протеинурия* — при значительном психоэмоциональном напряжении.

Функциональная почечная протеинурия, как правило, не превышает 1,0 г/л и исчезает после устранения причин, ее вызвавших. Тем не менее во всех случаях обнаружения белка в моче необходимо тщательное обследование больного для исключения органических заболеваний почек, сопровождающихся патологической протеинурией.

**Экстраренальные протеинурии** возникают при поражениях мочевыводящих путей и половых органов, откуда в мочу попадает воспалительная жидкость, и наблюдаются при циститах, уретритах, кольпитах и т. д.

Дифференциальная диагностика протеинурий производится с помощью микроскопии мочевых осадков и количественного определения форменных элементов. Почечные протеинурии определяют по наличию в осадке мочи почечного эпителия, восковидных, зернистых и гиалиновых цилиндров.

Выделяющийся белок представляет собой смесь альбумина с глобулинами, а иногда и с фибриногеном.

Величина протеинурии не всегда отражает тяжесть поражения почечных клубочков. Иногда острый гломерулонефрит, протекающий с высокой протеинурией, может быстро закончиться выздоровлением, а хронически протекающий нефрит с низким содержанием белка, наоборот может иметь длительное лечение.

Снижение протеинурии при остром нефрите является в большинстве случаев благоприятным признаком, а при хронических процессах подобное снижение может говорить об ухудшении процесса. В итоге это может привести к функциональной недостаточности почек в связи с уменьшением их фильтрационной способности из-за гибели большого количества почечных клубочков.

**Патологическая протеинурия является одним из наиболее важных и постоянных признаков заболеваний почек и мочевых путей. Определение концентрации белка в моче является обязательным и важным элементом исследования мочи.** Выявление и количественная оценка протеинурии важна необходима для:

1. диагностике многих первичных и вторичных заболеваний почек,

2. о течении патологического процесса,

3. об эффективности проводимого лечения.

Обнаружение белка в моче даже в следовых количествах должно настораживать в отношении возможного заболевания почек или мочевых путей и требует повторного анализа.

Все методы определения белка в моче можно разделить на:

* Качественные,
* Полуколичественные,
* Количественные.

Все **качественные методы определения белка в моче**  основаны на способности белков к денатурации под влиянием различных физических и химических факторов. При наличии белка в исследуемом образце мочи появляется либо помутнение, либо выпадение хлопьевидного осадка.

Условия определения белка в моче на основе реакции коагуляции:

1. Моча должна иметь кислую реакцию. Мочу щелочной реакции подкисляют несколькими (2 - 3) каплями уксусной кислоты (5 – 10%).
2. Моча должна быть прозрачной. Помутнение устраняется через бумажный фильтр. Если помутнение не исчезает, добавляют тальк или жженую магнезию (около 1 чайной ложки на 100 мл мочи), взбалтывают и фильтруют.
3. Качественную пробу следует проводить в двух пробирках, одна из них – контрольная.
4. Искать помутнение следует на черном фоне в проходящем свете.

Из качественных реакций чаще используют пробу Геллера и пробу с сульфосалициловой кислотой, однако пробу с сульфосалициловой кислотой большей частью считают наиболее подходящей для выявления патологической протеинурии. Проба с кипячением в настоящее время практически не используется в связи с ее трудоемкостью и длительностью.

**Качественные пробы**

# **1.Унифицированная проба с сульфосалициловой кислотой**

*Принцип метода*

Взаимодействие белка с сульфосалициловой кислотой сопровождается денатурацией белка и помутнением раствора.

*Реактивы:* 20 % раствор сульфосалициловой кислоты.

*Ход определения*

В две пробирки вносят по 3 мл исследуемой мочи (предварительно профильтрованной). В одну из пробирок добавляют по каплям сульфосалициловую кислоту из расчета 2 капли на 1 мл мочи. Пробирки сравнивают на темном фоне. При наличии белка появляется помутнение.

# **2. Проба Геллера**

*Принцип метода*

Белок, содержащийся в моче, при взаимодействии с азотной кислотой подвергается денатурации, что проявляется появлением белого кольца на границе двух жидкостей.

*Реактивы*

30 % азотная кислота (можно использовать вместо азотной кислоты: реактив Ларионовой: 20-30 г NаС1 растворяют при нагревании в 100 мл воды, охлаждают, фильтруют, к 99 мл фильтрата прибавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты).

*Ход определения*

* В пробирку наливают 1-2 мл азотной кислоты или реактива Ларионовой;
* затем осторожно по стенке пробирки добавляют такое же количество профильтрованной мочи так, чтобы получилось два несмешивающихся слоя.

При наличии белка в моче на границе двух жидкостей появляется белое кольцо. При наличии большого количества уратов в моче может образоваться кольцо, состоящее из мочевой кислоты и ее солей. Но это кольцо располагается не на границе азотной кислоты и мочи, а выше и растворяется при легком нагревании.

Моча, содержащая много мочевины, может образовать осадок, состоящий из труднорастворимой азотнокислой мочевины. Но такое кольцо всегда имеет кристаллический вид.

Рис. 1. Схема качественного определения белка в моче с помощью проб с сульфасалициловой кислотой (а) и азотной кислотой (б).

На рис. 1, б стрелкой показано белое кольцо преципитации

***Полуколичественные методы***

* Метод Брандберга-Робертса-Стольникова,
* определение белка в моче с помощью диагностических тест-полосок.

 **Экспресс-метод определения белка в моче с помощью индикаторных полосок**

*Принцип метода*

Проба основана на способности белка давать цветную реакцию с индикато­ром, нанесенным на полоску бумаги (обычно бромфеноловый синий).

*Ход определения*

На индикаторную полоску, предназначенную для определения белка, наносят мочу. При наличии белка развивается окраска, интенсивность которой пропорциональна содержанию белка. Развившуюся окраску сравнивают со стандартной цветной шкалой.

Недостатком пробы:

Одним из них, приводящих к искажению диагностической информации, является большая чувствительность индикатора бромфенолового синего к альбумину по сравнению с другими белками. В связи с этим, тест-полоски в основном приспособлены к обнаружению селективной гломерулярной протеинурии, когда практически весь белок мочи представлен альбумином. При прогрессировании изменений и переходе селективной гломерулярной протеинурии в неселективную (появление в моче глобулинов) результаты определения белка оказываются заниженными по сравнению с истинными значениями. Данный факт не дает возможности использовать данный метод определения белка в моче для оценки состояния почек (гломерулярного фильтра) в динамике. При тубулярной протеинурии результаты определения белка также оказываются заниженными. Определение белка с помощью диагностических полосок не является надежным индикатором низких уровней протеинурии (большинство выпускаемых в настоящее время диагностических полосок не обладают способностью улавливать белок в моче в концентрации ниже, чем 0,15 г/л). Отрицательные результаты определения белка на полосках не исключают присутствия в моче глобулинов, гемоглобина, уромукоида, белка Бенс-Джонса и других парапротеинов.

Проба может давать ложноположительный результат *с* некоторыми лекарственнымисредствами (производные пенициллина). Хлопья слизи с высоким содержанием гликопротеидов (например, при воспалительных процессах в мочевых путях, пиурии, бактериурии) могут оседать на индикаторной зоне полоски и приводить к ложноположительным результатам. Ложноположительные результаты могут также быть связаны с высокой концентрацией мочевины.

В связи с этим, использование диагностических полосок следует ограничить скринирующими процедурами, а результаты, полученные с их помощью, следует рассматривать лишь как ориентировочные.

***Количественные методы***

С точки зрения специалиста-аналитика, работающего в лаборатории, метод, предназначенный для количественного определения белка в моче, должен отвечать следующим требованиям:

* обладать линейной зависимостью между поглощением образовавшегося в ходе химической реакции комплекса и содержанием белка в пробе в широком диапазоне концентраций, что позволит избежать дополнительных операций при подготовке пробы к исследованию;
* должен быть прост, не требовать высокой квалификации исполнителя, выполняться при малом количестве операций;
* обладать высокой чувствительностью, аналитической надежностью при использовании небольших объемов исследуемого материала;
* быть устойчивым к воздействию различных факторов (колебаниям состава образца, присутствию лекарственных препаратов и др.);
* обладать приемлемой стоимостью;
* быть легко адаптируемым к автоанализаторам;
* результат определения не должен зависеть от белкового состава исследуемого образца мочи.

Ни один из известных к настоящему времени методов количественного определения белка в моче не может в полной мере претендовать на роль «золотого стандарта».

Количественные методы определения белка в моче можно разделить на турбидиметрические и колориметрические.

***Турбидиметрические методы***

К турбидиметрическим методам относятся:

* определение белка с сульфосалициловой кислотой (ССК),
* определение белка с трихлоруксусной кислотой (ТХУ),
* определение белка с бензетоний хлоридом.

Турбидиметрические методы основаны на снижении растворимости белков мочи вследствие образования суспензии взвешенных частиц под воздействием преципитирующих агентов. О содержании белка в исследуемой пробе судят либо по интенсивности светорассеяния, определяемого числом светорассеивающих частиц (нефелометрический метод анализа), либо по ослаблению светового потока образовавшейся суспензией (турбидиметрический метод анализа).

***Колориметрические методы***

Наиболее чувствительными и точными являются колориметрические методы определения общего белка мочи, основанные на специфических цветных реакциях белков.

К ним относятся:

1. биуретовая реакция,
2. метод Лоури,
3. методы, основанные на способности различных красителей образовывать комплексы с белками:
	* Понсо S (Ponceau S),
	* Кумасси бриллиантовый синий (Coomassie Brilliant Blue)
	* пирогаллоловый красный (Pyrogallol Red).

Биуретовый метод определения белка в моче предпочтительно выполнять в лабораториях, обслуживающих нефрологические отделения, и использовать в тех случаях, когда результаты определения с помощью других методов представляются сомнительными, а также для определения величины суточной потери белка у нефрологических больных.

В настоящее время в России все большее распространение получает метод с пирогаллоловым красным.

Проводя исследование уровня протеинурии, нужно иметь ввиду, что различные методы определения протеинурии имеют разную чувствительность и специфичность к многочисленным белкам мочи.

***Состояния и заболевания, сопровождающиеся глюкозурией:***

1. Сахарный диабет - наиболее частая причина глюкозурии. При этом заболевании наблюдается абсолютная или относительная недостаточность инсулина — гормона, который определяет потребление глюкозы тканями (гликолиз) и образование гликогена из глюкозы в печени. Эти процессы поддерживают нормальный уровень глюкозы в крови. При дефиците инсулина гликолиз и синтез гликогена снижаются, что приводит к повышению глюкозы в крови и появлению ее в моче. Количество глюкозы в моче может колебаться в больших пределах от следов до 1,2%. Следует отметить, что глюкозурия у больных с инсулярной недостаточностью при нормально функционирующих почках наблюдается при гораздо меньших концентрациях глюкозы в крови, чем пороговая. Дело заключается в том, что почечный порог для глюкозы при диабете снижается. Процесс реабсорбции глюкозы в почечных канальцах не является простой диффузией: глюкоза переносится через почечные мембраны активно и первым этапом этого переноса является ее фосфорилирование, то есть превращение в глюкозо-6-фосфат. Данная реакция контролируется гексокиназой, активируемой инсулином. Поэтому при диабете снижается интенсивность реабсорбции глюкозы в почках и она появляется в моче при концентрации в крови, значительно меньшей, нежели соответствующей почечному порогу. Правда, при оценке этого явления следует помнить, что существуют здоровые люди с врожденным снижением почечного порога для глюкозы, у которых глюкозурия может возникнуть при приеме больших количеств углеводной пищи. Не следует также забывать, что встречаются больные сахарным диабетом с высоким уровнем глюкозы в крови, не сопровождающимся глюкозурией. Это объясняется тем, что на заключительной стадии сахарного диабета, когда к основному процессу присоединяются поражения почек, характеризующиеся в числе других проявлений и снижением уровня клубочковой фильтрации, уровень глюкозурии может снизиться вплоть до полного отсутствия глюкозы в моче.
2. Глюкозурия, наблюдающаяся при остром панкреатите, носит преходящий характер и исчезает при стихании воспалительного процесса.
3. Глюкоза появляется в моче при продолжительном голодании и прекращается через несколько дней после возобновления приема пищи.
4. У людей в преклонном и старческом возрасте возможно снижение функции поджелудочной железы, сопровождающееся глюкозурией.
5. Алиментарная глюкозурия, появляющаяся через 30 — 60 мин после приема пищи, богатой углеводами, исчезает через 3 — 5 часов. Наблюдается чаще у детей грудного возраста и при беременности.
6. Глюкозурия может наблюдаться после повышенной физической нагрузки.
7. Глюкозурия нервного происхождения возникает вследствие усиленного гликогенолиза в печени и гипергликемии. Она наблюдается при черепно-мозговых травмах, опухолях мозга, менингитах, токсикозах, энцефалитах, судорогах, внутричерепных кровоизлияниях, наркозе.
8. Эмоциональная глюкозурия — при плаче, страхе, истерике и т. д.
9. Токсическая глюкозурия возможна при отравлениях морфином, стрихнином, хлороформом, фосфором и др.
10. Глюкозурия после приема некоторых лекарств (диуретин, кофеин, фенамин, кортикостероиды).
11. Глюкоза может появляться в моче при лихорадочных состояниях (лихорадочная глюкозурия).
12. Глюкозурия при сильном психическом возбуждении.
13. Эндокринная глюкозурия возникает в результате нарушения секреции адреналина, тироксина, глюкокортикоидных гормонов, при акромегалии, синдроме Иценко-Кушинга, феохромоцитоме, гипернефроме, передозировке АКТГ, препаратов кортизола или их продолжительном приеме.
14. Почечная (ренальная) глюкозурия развивается в результате нарушения реабсорбции глюкозы в канальцах. Различают первичную и вторичную ренальную глюкозурию. Первичная глюкозурия, так называемый ренальный диабет — это аномалия механизма реабсорбции глюкозы в проксимальных канальцах почек. Почечный порог глюкозы снижается до 6,32 — 0,82 ммоль/л (125 — 25 мг/%) без нарушения промежуточного обмена углеводов. Наблюдается главным образом у детей. Для ренального диабета свойственна постоянная глюкозурия, нормальный или несколько сниженный уровень глюкозы крови, отсутствие патологических отклонений при сахарной нагрузке и других симптомов диабета. Вторичная ренальная глюкозурия может встречаться при различных органических поражениях почек (хронический нефрит, нефроз, острая почечная недостаточность, гликогеновая болезнь и др.).

Оценка глюкозурии должна производиться с учетом принятых с пищей углеводов и количества суточной мочи.

# **Определение глюкозы в моче.**

Для определения глюкозы в моче используются качественные и количественные пробы, большинство из которых основано на восстанавливающих свойствах глюкозы.

**1. Качественные пробы**

# **1. Унифицированный метод определения с помощью индикаторных полосок**

*Принцип метода*

Глюкоза окисляется ферментом глюкозооксидазой; образующаяся в реакции перекись водорода разлагается пероксидазой в присутствии красителя — индика­тора (обычно о-толидина), изменение окраски которого свидетельствует о наличии глюкозы. Метод высокоспецифичен.

*Ход определения*

Полоску индикаторной бумаги, пропитанную смесью ферментов и красителя. I погружают в исследуемую мочу. Через 1-2 мин развившуюся окраску сравнив ют с цветной стандартной шкалой и ориентировочно определяют концентрацию глюкозы в моче.

# **2. Унифицированная проба Гайнеса**

*Принцип метода*

Метод основан на способности глюкозы восстанавливать в щелочной среде гидроксид меди (I) Сu(ОН)2 в гидроксид меди (II) СuОН (желтого цвета) и ок­сид меди (I) Сu2О (красного цвета). Чтобы предотвратить разложение гидроксида меди при нагревании до оксида меди (II) СuО черного цвета, в реактив добав­ляют глицерин, гидроксильные группы которого связывают Сu(ОН)2.

*Реактивы* Реактив Гайнеса:

1. 13,3 г кристаллического сульфата меди растворяют в 400 мл дистиллиро­ванной воды.

2. 50 г гидроксида натрия растворяют в 400 мл дистиллированной воды.

3. 15 г глицерина растворяют в 200 мл дистиллированной воды. Смешивают растворы № 1 и № 2 и сразу приливают раствор № 3. Реактив стойкий.

*Ход определения*

- В пробирку вносят 6-8 мл исследуемой мочи,

- прибавляют 20 капель реактива Гайнеса до появления голубой окраски,

- смешивают и нагревают верхнюю часть пробирки до начала кипения. Нижняя часть пробирки служит контролем.

- при наличии в моче глюкозы в верхней части пробирки появляется желтая окраска.

Рис. 2. Схема качественного определения глюкозы в моче (проба Гайнеса)

**Количественные пробы**

Если глюкоза в моче обнаружена, то проводят ее количественное определение унифицированными методами:

1.- на поляриметре. Метод основан на способности раствора глюкозы вращать поляризованный луч света вправо. В настоящее время практически не используется, так как трудоемок и дает неточные результаты, если не достигнута полная прозрачность мочи;

1. - по цветной реакции с ортотолуидином;
2. - ферментативным глюкозооксидазным методом, который является наиболее точным и специфичным.
3. – метод Альтгаузена

*Диагностическая информация*

В моче здорового человека глюкоза находится в столь незначительном количестве, что обычными качественны­ми пробами не обнаруживается. Появление глюкозы в моче называется глюкозурией.

Глюкозурия может быть разделена на ренальную и экстраренальную. Экстраренальная глюкозурия возникает на фоне гипергликемии, обусловленной эндокринными расстройствами (сахарный диабет, тиреотоксикоз, гигантизм, акроме­галия, гиперплазия коры надпочечников), патологи­ей поджелудочной железы (панкреатит, панкреонекроз); поражением центральной нервной системы (черепно-мозговая травма, кровоизлияние в мозг, приступ эпилепсии, асфиксия, опухоль).

Механизм развития экстраренальной глюкозурии связан с превышением почечного порога реабсорбции глюкозы и достижением максимальной загруженно­сти белков-переносчиков.

Ренальная глюкозурия наблюдается при нормальной концентрации глюкозы в крови, в ее основе лежит недостаточность систем транспорта глюкозы в прокси­мальных канальцах. Она может быть единственным симптомом почечного диабе­та, редкого наследственного заболевания. В ряде случаев глюкозурия наблюдает­ся в сочетании с аминоацидурией и фосфатурией (болезнь и синдром де Тони-Дебре—Фанкони).

Причиной ренальной глюкозурии может быть токсическое повреждение по­чечных канальцев солями тяжелых металлов, продуктами расщепления тетра­циклина.

Глюкозурией сопровождается также отравление морфином, стрихнином, хлороформом, фосфором и др.

Как временное явление глюкозурия может появляться при некоторых острых инфекционных заболеваниях.

Глюкозурия может иметь алиментарное происхождение, может быть следст­вием эмоциональных, стрессовых состояний.

Некоторые лекарственные препараты могут вызывать ложноположительную реакцию на глюкозу (фуразолидон, ацетилсалициловая кислота, стрептомицин, сульфаниламиды, хлоралгидрат, цефалоридин, цефалотин, цинкофен).

# **Методы определения кетоновых тел в моче**

В нормальной моче содержится минимальное количество **кетоновых тел** (за сутки выделяется 20 — 54 мг), которое не обнаруживается обычными качественными пробами. При выделении с мочой большого количества кетоновых тел качественные реакции становятся положительными – это явление патологическое и называется **кетонурией**.

Кетоновые тела появляются в моче при нарушении обмена углеводов, жиров и белков, которое сопровождается увеличением кетогенеза в тканях и накоплением кетоновых тел в крови (**кетонемия**).

Положительные реакции на кетоновые тела появляются чаще всего при тяжелом сахарном диабете. Массивная кетонурия – признак декомпенсированного тяжелого сахарного диабета, нередко – гипергликемической комы.

Кетонурия при диабете развивается вследствие усиленного кетогенеза и нарушения кетолиза. К усиленному кетогенезу приводит повышенная мобилизация жиров из жировой ткани, уменьшение образования оксалацетата в цикле Кребса, снижение биосинтеза жирных кислот.

Отсутствие глюкозурии при наличии кетонурии исключает диабет. При диабетической кетонурии мочу исследуют каждые 4 часа и, в зависимости от результатов анализа, корректируют дозу инсулина. Ликвидировать кетонурию необходимо в течение 1 — 2 суток.

У детей кетонурия может быть при различных заболеваниях ввиду лабильности углеводного обмена. Поэтому даже незначительные погрешности в диете, в особенности при наличии острой инфекции, нервного возбуждения, переутомления и т. п. могут привести к кетозу. Кетонурия в раннем детском возрасте может наблюдаться при токсикозах, длительных желудочно-кишечных расстройствах, дизентерии и других заболеваниях. У новорожденных повышение кетонов в моче почти всегда вызывается недокормленностью.

Присутствие кетоновых тел наблюдается также при голодании, беременности, безуглеводной диете, лихорадке, гиперинсулинизме, почечной глюкозурии, болезни Иценко-Кушинга, эклампсии, при употреблении пищи, богатой кетогенными веществами, алкогольной интоксикации, отравлениях (например, свинцом), при приеме значительных количеств слабощелочных продуктов, послеоперационных состояниях (кетонурия в послеоперационном периоде объясняется распадом белка вследствие операционной травмы), гликогенозах I, II и VI типов (нарушен кетолиз). Кетонурия наблюдается также при заболеваниях, связанных с усиленным расходом углеводов, например, при тиреотоксикозе, а также подпаутинных кровоизлияниях, черепно-мозговых травмах, сильном возбуждении или раздражении центральной нервной системы. Кетонурия нередко наблюдается при инфекционных заболеваниях: скарлатине, гриппе, туберкулезе, менингите. При этих заболеваниях кетонурия не имеет диагностического значения и является вторичным явлением.

При оценке кетонурии не следует также забывать и факторах, которые влияют на обнаружение кетоновых тел в моче.

К кетоновым телам относятся ацетон, ацетоуксусная кислота и бета-оксимаслянная кислота. Кетоновые тела в моче встречаются совместно, поэтому раздельное определение их клинического значения не имеет. В норме с мочой выделяется 20 — 50 мг кетоновых тел в сутки, которые не обнаруживаются обычными качественными реакциями, при повышении кетоновых тел в моче качественные реакции на них становятся положительными.

Принцип обнаружения кетоновых тел в моче. Нитропруссид натрия в щелочной среде реагирует с кетоновыми телами, образуя комплекс, окрашенный в розовато-сиреневый, сиреневый или фиолетовый цвет. Чувствительность проб около 50 мг/л кетоновых тел. Полуколичественную оценку результатов можно дать в интервале от 150 до 1500 мг/л.

К методам определения кетоновых тел в моче относятся:

* Проба Ланге
* Модифицированная проба Ротеры
* Проба Легаля
* Проба Лестраде
* Экспресс-тесты

***Факторы, влияющие на определение кетоновых тел в моче***

При оценке результатов проб на кетоновые тела в моче следует учитывать ряд факторов. Так, например, известно, что ацетоуксусная кислота в стерильной моче стабильна до 8 — 10 дней, при бактериурии или большом количестве дрожжевого грибка может полностью исчезнуть в течение 24 часов. Около 20% ацетона при комнатной температуре исчезает за 24 часа, но сохраняется в холодильнике. Поэтому важное значение имеет правильный сбор мочи, ее хранение и сроки выполнения анализа. Кроме того, кетоновые тела могут исчезать из мочи при бактериурии, что может привести к ложноотрицательным результатам.

К ложноположительным результатам может привести использование фенолфталеина, метаболитов некоторых препаратов (например, леводопы и каптоприла); кислая моча, повышенный удельный вес мочи. Все эти факторы приводят к химическому завышению результатов анализа, то есть непосредственно влияют на химическую реакцию определения кетоновых тел в моче, а количество самих кетоновых тел в моче может быть нормальным.

Необходимо помнить, что существуют также факторы, приводящие к клиническому повышению кетоновых тел в моче, то есть непосредственно влияющих на их уровень в моче за счет воздействия на обменные процессы, связанные с образованием кетоновых тел. К таким фактором относится прием некоторых лекарственных препаратов — инозитола, метионина, метформина, фенформина, феназопиридина, эфирного наркоза, интоксикация изониазидом, изопропиловым спиртом, ацетилсалициловой кислотой.

Классификация унифицированных методов определения кетоновых тел в моче

|  |
| --- |
| Методы |
| Ланге | Легаля | Лестраде | Ротеры | Экспресс-метод |

*Определение кетоновых тел производят по специальному требованию врача или без него, если в моче больного обнаружена глюкоза*.

# **1. Проба Ланге**

Принцип: Нитропруссид натрия в щелочной среде реагирует с кетоновыми телами с образованием комплекса красно-фиолетового цвета.

Реактивы: 1. 5% Нитропруссид натрия (свежеприготовленный)

 2. СН3СООН (конц)

 3. 25% аммиак

Ход определения:

Исследуют свежевыделенную мочу. К 5 мл мочи приливают 5-10 капель нитропруссида натрия и 0,5 мл СН3СООН, смешивают и наслаивают 2-3 мл аммиака.

При положительной реакции на границе двух сред появляется фиолетовое кольцо. Результат наблюдают 2-3 минуты.


# **2. Проба Легаля**

 Реактивы: 1. 5% Нитропруссид натрия (свежеприготовленный)

 2. СН3СООН (конц)

 3. 10% NаОН

Ход определения:

К 5 мл мочи прибавляют несколько капель нитропруссида натрия и 0,5 мл NаОН, появляется красное окрашивание. Добавляют 5 мл СН3СООН, если красный цвет исчезает – проба отрицательная, если сохраняется – проба положительная. Слабо-розовая окраска считается положительной.

# **3. Проба Лестраде**

Реактивы: Реактив Лестраде: 1г нитропруссида натрия, 20г сульфата аммония и 20г безводного карбоната натрия помещают в ступку и расстирают.

Ход определения:

На предметное стекло, помещенное на белый лист бумаги, наносят щепотку реактива Лестраде, к которому добавляют 2-3 капли исследуемой мочи.

Оценка результатов:

+ (слабоположительная) – слаборозовое окрашивание, появляющиеся через 2-3 мин.

++ (положительная) – отчетливая фиолетовая окраска, появляющаяся через 1-2 мин.

+++ (резкоположительная) – вишневая окраска появляется сразу же после нанесения мочи

- (отрицательная) – цвет смеси не изменился.

# **4. Проба Ротеры**

Реактивы: 1. 5% Нитропруссид натрия (свежеприготовленный)

 2. 25% аммиак

 3. сульфат аммония (крист.)

Ход определения:

В пробирку вносят 0,2г сульфата аммония, 5 капель мочи, 2 капли нитропруссида натрия, тщательно смешивают. На эту смесь наслаивают 10-15 капель аммиака. При наличии кетоновых тел на границе раздела в течение 3-5 минут появляется фиолетовое кольцо. Интенсивность окраски кольца позволяет ориентировочно судить о концентрации кетоновых тел в моче.

|  |  |
| --- | --- |
| Интенсивность окраски | Вещество в г/л |
| Ацетоуксусная кислота | Ацетон |
| «+» | 0,05 | 0,2 |
| «++» | 0,3 | 2,5 |
| «+++» | 0,8 | 8,0 |

# ***5.* Экспресс-тесты**

К экспресс-тестам определения кетоновых тел в моче относятся: набор для экспресс-анализа ацетона в моче и диагностические полоски. Исследование проводится согласно инструкции.

# **Заключение:**

1. Ошибки при исследовании показателей мочи чаще всего происходят из-за нарушений правил преаналитического этапа – пациентам не всегда объясняют, как правильно подготовиться к сдаче анализа мочи, что приводит к недостоверным результатам. Поэтому мною был создан буклет, для информирования пациентов как правильно подготовиться к сдаче анализа мочи.

2. Исследование мочи методом сухой химии – не является 100% точным исследованием и результаты необходимо подтверждать унифицированными методами. Метод «сухая химия» можно использовать в качестве скрининга.

3. Важным параметром в исследовании мочи является обнаружение глюкозы и кетоновых тел в моче.

4. Выделено ряд преимуществ определение химических показателей в моче тест - полосками по сравнению с обычными лабораторными методами: быстрота выполнения анализа и экономия времени. Отсутствие необходимости в каком-либо вспомогательном оборудовании, что значительно снижает материальные затраты на исследование. Сухие реактивы устойчивее жидких, компактнее, удобнее при транспортировке и хранении.

5. При оценке результатов проб на химические показатели в моче выяснено, что разные показатели в моче неустойчивы.