جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت، درمان وآموزش پزشکی

تهیه و تنظیم :

آزمایشگاه مرجع سلامت

آزمایشگاه رفرانس

دستورالعمل ارزیابی نوارهای ادراری

مرداد ۱۳۹۰

کنترل کیفی نوارهای ادراری

نوارهای ادراری با استفاده از شیمی خشک پارامترهای مختلف (قند و پروتئین و ...) را در ادرار اندازه گیری می کنند . نظر به فراوانی استفاده از این نوارها و عدم وجود مواد کنترلی در دسترس برای همه آزمایشگاهها ، ارزیابی این نوارها نیز مانند سایر کیتها از اهمیت بسزایی برخوردار می باشد. برای ارزیابی نوارهای ادراری، در مورد هر یک از پارامترهای موجود در نوار به طور جداگانه نمونه هایی با غلظت مشخص تهیه می شود. پایه نمونه های تهیه شده ادرار تازه می باشد .

جمع آوری و نگهداری ادرار به عنوان پایه

برای این کار از ادرارهای تازه افراد سالم استفاده می شود.پس از اینکه یکایک ادرارها را با نوارهای ادراری معتبرکنترل نمودیم، ادرارهای طبیعی را انتخاب و با هم مخلوط می نماییم.در نهایت مجددا ادرار تهیه شده را با استفاده از نوار ادراری تائید شده کنترل می نماییم. حجم ادرار ی که جمع میگردد، متناسب با تعداد استانداردهایی که لازم است در آن روز تهیه شوند، می باشد.

طرز تهیه نمونه های معلوم العیار

۱- قند:

متناسب با غلظت قند ثبت شده روی ظرف نوار ادراری نمونه ها تهیه می گردند.به طور مثال برای تهیه نمونه ای با غلظت 50 mg/dl لازم است که میزان 50 mg گلوکز به 100 ml از ادرار جمع آوری شده اضافه گردد.به همین ترتیب نمونه هایی با غلظت های 100 ,250 , 300 , 500 , 1000 mg/dl تهیه می گردند . صحت غلظت نمونه های تهیه شده را با روش گلوکز اکسیداز و در مقابل کنترل صحت تائید می نماییم.

۲- پروتئین :

با استفاده از استاندارد آماده 5 g/dl ، غلظتهای 30,100,500 mg/dl تهیه می گردد. این استاندارد تنها آلبومین موجود در ادرار را مشخص می نماید .صحت استانداردهای تهیه شده با کیت توتال پروتئین (روش بیوره) و در مقابل کنترل صحت مورد بررسی قرار می گیرد.

۳- خون:

الف) هموگلوبین:

برای تهیه نمونه مشخص هموگلوبین، ابتدا هموگلوبین نمونه خون را اندازه گرفته سپس خون را با استفاده از آب مقطر لیز و رقیق می نماییم. برای این کار 0.1 ml خون را با استفاده از آب مقطر به حجم 100 ml می زسانیم. حال از این محلول غلظتهای مورد نظر 0.03,0.2 ,1 mg/dl هموگلوبین تهیه می کنیم.

مثال: فرض می کنیم نمونه خون ما 14g/100 باشد. 0.1 ml از خون را به 100 ml آب مقطر اضافه کرده و آن را لیز می کنیم. در عین حال غلظت هموگلوبین محلول به 14mg/dl رسیده است. حال برای تهیه غلظت 1 mg/dl به صورت زیر عمل می نماییم:

N1V1=N2V2

14 * V1 =1*10 V1 = 0.75 ml

به این ترتیب ۰.۷۵ میلی لیتر از محلول رقیق شده را توسط ادرار به حجم 10 ml می رسانیم.

ب) RBC

تهیه استاندارد RBC مشابه هموگلوبین می باشد ، با این تفاوت که نباید نمونه های ما لیز شود . بنابراین:

۱- نمونه ها باید در روز ارزیابی تهیه شود.

۲- برای رقیق کردن نمونه از ادرار به جای آب مقطر استفاده گردد.

۴- بیلی روبین :

با استفاده از استانداردهای بیلی روبین با غلظت مشخص می توان نمونه های مورد نیاز در ارزیابی نوارهای ادراری از نظر بیلی روبین را تهیه کرد. پس از تهیه نمونه ها صحت غلظت آنها را با روش Genderasick gruff و در مقابل کنترل صحت تایید می نماییم . غلظتهای مختلف بیلی روبین باید روزانه تهیه گردند و در طول مدت ارزیابی از برخورد نور مستقیم با استانداردهای تهیه شده جلوگیری گردد .

۵- نیتریت:

مقدار بسیار جزئی از نیترات سدیم را با آب مقطر مخلوط کرده و به عنوان نمونه معلوم العیار نیتریت از آن استفاده می کنیم.

۶- اوروبیلینوژن :

استاندارد اوروبیلینوژن را نمی توان به طور مصنوعی تهیه کرد و برای ارزیابی نوارها از نظر این پارامتر باید از حداقل ۲۰ نمونه ادرار تازه اوروبیلینوژن مثبت استفاده کرد.

۷-آسکوربیک اسید :

برای تهیه غلظتهای مختلف آسکوربیک اسید میزان مشخص پودر ویتامین C را در ادرار حل می نماییم .

مثال : برای تهیه غلظت 10 mg/dl باید میزان 10mg پودر ویتامین C را در 100 ml ادرار حل نماییم .

۸-لکوسیت:

استاندارد لکوسیت را نمی توان به طور مصنوعی تهیه کرد و برای ارزیابی نوارها از این نظر باید ازحداقل ۲۰ نمونه ادرار تازه دارای سلولهای لکوسیت استفاده کرد.

۹- کتون :

با استفاده از دو ماده استن و استو استیک می توان نمونه ای با غلظت مشخص از کتون تهیه کرد. معمولا برای تهیه نمونه کتون به دلیل مقرون به صرفه بودن از استن می نماید . ولی به دلیل اینکه برخی از نوارها موجود در برابر استن واکنش نشان نمی دهند ، لذا برای کنترل آنها باید از استو استیک استفاده نمود.

برای تهیه نمونه استواستیک غلظتهای 5,15,40,80 mg/dl تهیه می کنیم.

برای تهیه نمونه استن میزان 25,100,300 میکرولیتر استن را به 10ml ادرار اضافه می کنیم . باید توجه داشت که پس از تهیه استانداردهای استن سریعا سر لوله ها را با استفاده از پارافیلم مسدود نماییم. لازم به ذکر است که نمونه استن باید روزانه تهیه شود.

pH -۱۰

برای بررسی پارامتر pH در نوارهای ادراری ابتدا نمونه هایی از ادرار تازه را جمع کرده سپس با استفاده از دستگاه pH متر ، pH ادرار جمع شده را اندازه گیری می کنیم در صورت بالا بودن pH ادرار با استفاده از چند قطره اسید سولفوریک pH آن را به زیر ۵ می رسانیم. حال قطره قطره سود اضافه کرده و pH آن را به ۵ می رسانیم در این حالت نوار را در محلول فرو برده و سریعا خارج می سازیم و پس از گذشت مدت زمان معین رنگ حاصله را با رنگ مربوطه روی قوطی نوار ادراری مقایسه می نماییم.

به همین ترتیب با اضافه کردن سود pH را به ترتیب به ۶و۷و۸و۹ می زسانیم و در pH معین نوارهای ادراری به صورتی که ذکر شد مورد ارزیابی قرار می گیرد.

Specific Gravity-۱۱

برای بررسی پارامتر وزن مخصوص از نمونه ادرار با وزنهای مخصوص متفاوت استفاده می کنیم برای این کار ابتدا وزن مخصوص حداقل ۲۰ نمونه ادرار را به کمک رفرکتومتر تعیین می کنیم سپس با نوار ادراری مورد نظر مقایسه می نماییم.

آزمایشگاه مرجع سلامت

روش انجام آزمایش:

ابتدا نوارها را از نظر فیزیکی بررسی می نماییم .

در مرحله بعد اگر هدف کنترل اولیه نوار ادراری باشد، لازم است حداقل ۲۰ نوار ادراری از ۳ ویال مختلف مورد ارزیابی را در هر یک از غلظتهای مورد نظر فرو برده و سریعا خارج می نماییم . (ادرار اضافی روی نوار را به کمک لبه لوله می گیریم) سپس با در نظر گرفتن مدت تعیین شده روی ویال صبر کرده و سپس رنگ حاصله را با کد رنگی روی ویال مقایسه می کنیم . رنگ حاصله باید کاملا هموژن و مطابق با کد رنگی مربوطه می باشد.

حال ۲۰ نوار مربوط به هر غلظت را با یکدیگر مقایسه کرده و جواب نهایی به صورت درصد گزارش می گردد . محدوده قابل قبول٪۹۵ ≤ می باشد.

این کار با نوار مرجع نیز به منظور مقایسه تکرار می گردد . که میزان اختلاف +/- یک پرده رنگی مورد قبول است .

سپس ، جهت بررسی کلینیکی، مقایسه حداقل ۴۰ نمونه بیمار با نوار مورد ارزیابی و نوار مرجع صورت می گیرد نمونه ها باید به گونه ای انتخاب شوند که هر دو طیف ادرار نرمال و پاتولوژیک را در تمامی پارامترها پوشش دهد .

به منظور کنترل پایداری، ویال مزبور را باید تا پایان تاریخ انقضا نگهداری کرد . بهتر است به مدت ۴ ماه ، هر ماه یکبار نوارها را از نظر پایداری بررسی کنیم و یا به روش Accelerated Stability ، نوارها را در دماهای ۳۷ و ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده و پایداری آنها را برای مدت حداقل دو هفته ارزیابی کنیم .
برای این کار تمامی مراحل ذکر شده در قسمت قبل را با ۳ نوار ادراری تکرار کرده و نتایج حاصله را بررسی می کنیم.

جهت بررسی حساسیت نوارها برای پارامترهای مختلف می بایست استانداردهایی با حداقل غلظت ادعایی در بروشور برای هر پارامتر به روش ذکر شده تهیه گردد و نوارهای مورد کنترل از نظر حساسیت مورد ارزیابی قرار گیرد.

آزمایشگاه مرجع سلامت

اثر مداخله گرها

گلوکز :

مواد ضدعفونی کننده نتایج مثبت کاذب و موادی از قبیل اسید آسکوربیک و مواد کتونی (در غلظتهای بالا) نتایج منفی کاذب ایجاد می کنند.

پروتئین :

هموگلوبین و مواد ضدعفونی کننده نتایج مثبت کاذب ایجاد می کنند. ادرار قلیایی(pH>9) باعث پاسخ مثبت کاذب خواهد شد.

خون :

متابولیتهای میکروبی (در غلظت بالا) باعث پاسخ مثبت کاذب می شوند. همچنین مواد ضدعفونی کننده و پاک کننده نتایج مثبت کاذب ایجاد می کنند. اسید آسکوربیک در غلظت بالا باعث نتایج منفی کاذب می شوند.

کتون :

فنیل کتونها و ترکیبات حاوی فتالئین ایجاد واکنش رنگی غیر طبیعی (قرمز) می نماید.ترکیبات دارای ۲ مرکاپتواتال سولفونات سدیم یا سولفا هیدرید باعث ایجاد نتایج منفی کاذب می گردد.

بیلی روبین:

مقادیر بالای اسید آسکوربیک و نیتریت باعث مهار واکنش شده و در نتیجه سبب بروز پاسخ منفی کاذب می شود.

نیتریت:

مقادیر زیاد آسکوربیک اسید باعث نتایج منفی کاذب در آزمایش می شود.

اوروبیلینوژن:

مصرف ترکیبات فنوازوپیریدین باعث ایجاد نتیجه مثبت کاذب می گردد.

فرم کنترل کیفي نوار ادراري

نام نوار ادراري مورد ارزیابی: سري ساخت: Exp.date:

نام نوار ادراري مرجع : سري ساخت: Exp.date: تاریخ ارزیابي:

Parameters	نتیجه خوانده شده با نوار مورد ارزیابی	نتیجه خوانده شده با نوار مرجع
Hemoglobin		
(+1)		
(+2)		
(+3)		
RBC		
(+1)		
(+2)		
(+3)		
Bilirubin		

1 mg/dl		
2 mg/dl		
4mg/dl		
Protein		
30 mg/dl		
100mg/dl		
500 mg/dl		
Ketone		
5 mg/dl		
15 mg/dl		
40 mg/dl		
80 mg/dl		
160 mg/dl		

Parameters	نتیجه خوانده شده با نوار مورد ارزیابی	نتیجه خوانده شده با نوار مرجع
Nitrit		
Any pink color		
Ascorbic acid		
10 mg/dl		
25 mg/dl		
Glucose		
50 mg/dl		
150 mg/dl		
500 mg/dl		
1000 mg/dl		
PH		
5		
6		
6.5		
7		
8		

9		

توضیحات :

	Urobilinogen			Leukocyte			Specific Gravity		
Sample	نتایج نوار مورد ارزیابی	نتایج نوار مرجع		نتایج نوار مورد ارزیابی	نتایج نوار مرجع		نتایج نوار مورد ارزیابی	نتایج نوار مرجع	نتایج رفرکتومتر
1									
2									
3									
4									
5									

6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									

25									

Clinical Study

نوار ادراري مورد ارزيابی : نوار ادراري مرجع :

Sample	AS.A	Blood	Bilirubin	UBG	Keton	Glucose	Protein	Nitrit	Leukocyte	PH	S.G
Reference Strip											
Reference Strip											
Reference Strip											
Reference Strip											
Reference Strip											

Reference Strip											
Reference Strip											
Reference Strip											
Reference Strip											
Reference Strip											