

جزوه بیوشیمی عملی

تیتراسیون اسید و باز

✓ تعریف آرنیوس

این تعریف توسط سوانت آرنیوس دانشمند سوئدی در سال ۱۸۸۷ ارائه شد. در این تعریف اسید ماده ای است که در آب یون هیدروژن (H^+) تولید کند و باز ماده ایست که بتواند در آب یون هیدروکسید (OH^-) تولید کند. در این تعریف خنثی شدن به معنای واکنش H^+ و OH^- و تشکیل آب است. (یون هیدروژن در واقع یک پروتون است)

✓ تعریف برونستد-لوری

در سال ۱۹۲۳ یوهان برونستد و توماس لوری مستقل از یکدیگر نظریه ی گسترده تری ارائه کردند. در این تعریف اسید ماده ایست که H^+ به باز می دهد و باز ماده ایست که H^+ را از اسید می گیرد. پس هر چه اسید راحت تر پروتون از دست بدهد قوی تر است و باز هر چه توانایی بیشتری در گرفتن پروتون داشته باشد قوی تر است. در یک واکنش اسید و باز محصولات اسید و باز های جدیدی هستند زیرا اسید با از دست دادن پروتون به یک آنیون تبدیل می شود که می تواند دوباره پروتون بگیرد و یک باز است. و برعکس باز با گرفتن پروتون به یک کاتیون تبدیل می شود که می تواند یک پروتون بدهد و یک اسید است.

این دو ماده را که با گرفتن و دادن پروتون به هم تبدیل می شوند جفت مزدوج می نامند. و هر یک، اسید مزدوج و باز مزدوج نام دارند.

هرچه یک اسید قوی تر باشد (راحت تر H^+ بدهد) باز مزدوج آن ضعیف تر است زیرا میل کمتری به جذب پروتون دارد. و برعکس هرچه یک باز قوی تر باشد اسید مزدوج آن ضعیف تر است. همواره اسیدها و بازهای قوی با هم واکنش می دهند. که فرآورده ی آن اسید و بازی ضعیف است

✓ تعریف لوئیس

این جدیدترین تعریف اسید و باز است که در سال ۱۹۲۳ توسط گیلبرت لوئیس ارائه شد. اگر چه تا سال ۱۹۳۸ کار زیادی برای پیشرفت آن انجام نشد. در این نظریه اسید ماده ایست که به دلیل داشتن اربیتال خالی می تواند جفت الکترون بپذیرد و باز ماده ای است که دارای جفت الکترون نا پیوندی است. و خنثی شدن به وسیله ی تشکیل پیوند داتیو بین اسید باز انجام می گیرد.

نحوه انجام آزمایش تیتراسیون اسید و باز

- ▶ ۱- از سود (NaOH) ۲ نرمال؛ سود ۱/۰ نرمال تهیه کنید (۵ میلی لیتر سود ۲ نرمال را در بالن ژوژه ۵۰ میلی لیتری ریخته حجم را به ۵۰ برسانید)
- ▶ ۲- از این سود ۱/۰ نرمال ۱۰ سی سی را در یک بشر ریخته و به آن چند قطره (۲-۳ قطره) متیل اورنج اضافه کنید.
- ▶ ۳- بورت را تا عدد صفر از اسید کلریدریک پر کنید
- ▶ ۴- حال شیر بورت را باز کرده تا قطره قطره اسید به باز اضافه شود. زمانی که معرف متیل اورنج داخل سود به رنگ پوست پیازی دیده شد شیر بورت را بسته و میزان اسیدی که مورد استفاده قرار گرفته است را یادداشت کنید.
- ▶ ۵- سپس با استفاده از فرمول $N_1V_1 = N_2V_2$ نرمالیت اسید را محاسبه کنید.

اندازه گیری پروتئین های بدن (جلسه دوم)

نقش ایمنی پروتئین ها:

✓ CPR که مخفف C.Reaction Pro است و در بیماری های رماتیسمی افزایش می یابد.

✓ آنتی بادی ها

مقدار پروتئین بدن در حالت طبیعی ۶-۸ گرم بر دسی لیتر است

روشهای اندازه گیری پروتئین بدن:

۱. کیفی: که به دو روش صورت می گیرد و تنها معین می کند در محیط پروتئین وجود دارد یا خیر. روش اول رسوب نمکی است که در لوله ای حاوی محلول NaCl مقداری سرم یا مایع مغزی نخاعی تهیه شده را می افزاییم که بر اثر رقابت بر سر حلالیت در آب، نمک موفق به ایجاد پیوند می شود چون یونی تر است پس پروتئین رسوب می کند.
روش دوم: افزودن سرم یا مایع مغزی نخاعی به اسید سولفوروسالسیلیک که براساس کدورت درون لوله به آن عدد ۱- تا ۴+ اختصاص داده می شود که برای تعیین آن نوشته ای را جلوی لوله آزمایش می گیریم اگر نوشته خوانده شود ۱- اگر مات بود اما خوانده شد ۱+ اگر نوشته دیده شد ولی ناخوانا بود ۲+ سایه ای از نوشته دیده شود ۳+ و اگر رسوب ایجاد شود ۴+ را به خود اختصاص می دهد.
که ۱+ معادل ۵ گرم بر دسی لیتر، ۲+ معادل ۵-۱۰ گرم بر دسی لیتر، ۳+ معادل ۱۰-۵۰ گرم بر دسی لیتر، ۴+ معادل ۱۰۰-۵۰۰ گرم بر دسی لیتر و ۱- معادل صفر است.
۲. کمی: مقدار واقعی پروتئین را معین می کند که با استفاده از روش بیوره صورت می گیرد به این صورت که محلول سولفات مس به علاوه NaOH که دارای رنگ آبی است را با سرم یا مایع مغزی نخاعی مخلوط می کنیم و مس با پیوند پپتیدی واکنش داده و ایجاد رنگ می کند که به وسیله اسپکترمتومتر میزان طیف رنگ اندازه گیری می شود.

روش کار:

سه لوله خالی به نامهای T مخفف Test و S مخفف Standard و B مخفف Blank را از سرم پرمی کنیم به هر کدام ۴ CC معرف بیوره افزوده و ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای انجام بهتر واکنش قرار می دهیم و بعد شدت رنگ را به وسیله اسپکترمتومتر می سنجیم و با فرمول زیر مقدار پروتئین مشخص می شود.

$$\text{غلظت استاندارد} \times \frac{\text{میزان جذب } T}{\text{میزان جذب } S}$$

روشهای دیگر اندازه گیری

دیالیز: جداسازی پروتئین ها کوچک از بزرگ توسط غشای نیمه تراوا

ژل فیلتراسیون: ژلی از جنس آگار که نوعی پلی ساکارید است و بزرگترین پروتئین زودتر خارج می شود.

الکتروفورز: ژلی از جنس سلولز یا پلی اکریل آمید که سرطان زا است که کوچکترین و منفی ترین پروتئین زودتر جدا می شود که آلبومین است.

✓ در چه شرایط فیزیولوژی علائم بیماری وجود ندارد ولی میزان پروتئین کم است؟

بارداری، افزایش آب بدن، سوختگی ها، تزریق سرم یا مایعات

✓ نتایج کاذب پروتئین چه زمانی گزارش می شود؟ خطای آزمایشگاهی، خطای دستگاهها، اندازه گیری نادرست

اندازه گیری گلوکز خون (جلسه سوم)

هایپرگلیسمی: افزایش قند خون

هیپوگلیسمی: کاهش قند خون که زیاد درمان پراهمیتی ندارد.

علائم دیابت: پر خوری , پر نوشی , پرادراری

مضرات دیابت حاد: کیتواسیدوز دیابتی بر اثر اتمام انرژی سلولی و سوزاندن چربی ها و ایجاد محصولات کتونیک که عبارتند از اسیدواستیک, بتا هیدروکسی بوتیریک , استون در بدن فرد ایجاد می شود.

مضرات دیابت مزمن: ایجاد کتون در خون موجب افت PH خون شده و فرد به اغما می رود از موارد دیگر ایجاد هایپر اسمولاریته در فرد است . به کلیه ها و به چشم آسیب می رساند و آب مروارید یا Eye Contract را در فرد ایجاد می کند و ایمنی بدن فرد را به شدت کاهش می دهد. فعالیت آنزیم ها را مختل می کند چون در اثر اتصال آنها با قند گلیکوپروتئین ایجاد می شود و عمل آنزیم ها مختل می شود.

در آزمایشگاه به چند روش گلوکز خون اندازه گیری می شود:

۱. FBS (Fast Blood Sugar) : گلوکز خون به صورت ناشتا که به صورت طبیعی ۷۰-۱۱۰ تا ۱۱۵ میلی گرم بر دسی لیتر می باشد بهترین ساعت ۸ ساعت ناشتا بودن و مراجعه ساعت ۷/۵ صبح است .
۲. RBS (Random Blood Sugar) : گلوکز خون اورژانسی چون در مواقع مختلف روز مراجعه صورت می گیرد و مقدار طبیعی آن ۷۰-۱۴۰ میلی گرم بر دسی لیتر است.
۳. GCT (Glucose Challenge Test) : مخصوص خانم های باردار است و عکس العمل فرد باردار را به گلوکز خون نشان می دهد که احتیاج به ناشتا بودن نیست ۷۵ میلی گرم گلوکز را در ۳۰۰ سی سی آب مقطر به صورت سرد (چون در صورت گرم بودن فرد دچار حالت تهوع می شود) را به فرد به صورت کلی خورانده می شود پس از یک ساعت قند خون سنجیده می شود و اگر تا ۱۳۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود نرمال است در غیر این صورت فرد مشکوک به دیابت دوران بارداری است. در صورتی که فرد مشکوک به دیابت دوران بارداری بود تست قند ۳ ساعته را انجام می دهد به روشی که ابتدا تست قند خون ناشتا گرفته می شود و سپس ۷۵ یا ۱۰۰ گرم گلوکز را در ۳۰۰ سی سی آب مقطر حل کرده (به جای آن می توان یک کف دست نان خورده شود) و در عرض ۵ دقیقه خورده می شود و نیم ساعت , یک ساعت و دو ساعت بعد تست قند خون انجام می شود و باید بعد از دو ساعت قند نرمال ۷۰-۱۲۰ باشد ولی در افراد دیابتی بعد از این ساعات به حالت طبیعی بر نمی گردد. افراد مبتلا به دیابت دوران بارداری مستعد دیابت نوع دوم بعد از زایمان هستند.

اگر بعد از نیم ساعت قند ۱۹۵ باشد و یا بعد از ۱ ساعت ۱۶۵ و یا بعد از دو ساعت ۱۴۰ باشد نرمال است .

۴. 2hpp : ابتدا قند خون ناشتا سنجیده شده سپس ۷۵ میلی گرم گلوکز را در ۳۰۰ سی سی آب مقطر حل کرده و بعد از دو ساعت قند خون فرد سنجیده می شود.
۵. 4pm : قند خون در ساعت ۴ بعد از ظهر سنجیده می شود.

علت های افزایش قند خون یا ایجاد دیابت:

۱. دیابت نوع اول (IDDM): وابسته به انسولین , ارثی , دیابت نوجوانان و در سنین ۱۵ تا ۳۰ سالگی و علت آن Auto Anti Body هاست که بر علیه سلولهای β پانکراس اقدام می کنند و ۵٪ دیابتی ها را شامل می شود.
۲. دیابت نوع دوم : غیر وابسته به انسولین , در افراد چاق دیده می شود و ۹۵٪ افراد دیابتی را تشکیل می دهد دیابت دوران بزرگسالی و علت آن کاهش گیرنده های انسولینی است و در بعضی افراد آنتی بادی هایی بر علیه گیرنده های انسولینی عمل می کنند و بعد از مدتی با اینکه میزان انسولین خون فرد زیاد است سلول های β خراب می شوند و میزان انسولین به میزان زیادی کاهش می یابد که فرد را مجبور به استفاده از انسولین می کند.
۳. دیابت دوران بارداری (GDM): که دلیل آن چاقی و این که در سه ماه آخر بارداری مقاومت نسبی در بدن بر علیه انسولین ایجاد می شود و سلولها در مقابل پذیرش انسولین مقاوم می شوند.
۴. دیابت ثانویه: در موارد مختلف رخ می دهد مثل: افرادی که دچار ویروس سرخک می شوند, تومورهای جزایر پانکراس , ویروس CMV (سایتومگالوویروس) که از طریق جفت عبور کرده و جنین را به بیماری های قلبی, مغزی و کلیوی مبتلا می کند.

روش های تشخیص گلوکز:

۱. ادرار ,خون و یا مایع مغزی نخاعی را با معرف مولیش جهت تشخیص قنددار بودن نمونه استفاده می کنند که اگر رنگ ایجاد شد در نمونه قند وجود دارد سپس در صورت قند دار بودن با معرف بندیک که حاوی سولفات مس است مخلوط کرده اگر رنگ ایجاد کند مونوساکارید یا دی ساکارید احیا کننده وجود دارد و اگر رنگ ایجاد نکرد پلی ساکارید و دی ساکارید غیر احیا کننده می باشد در صورت رنگ دادن نمونه با معرف بارفورد مخلوط شده که اگر رنگ داد مونوساکارید و اگر رنگ ایجاد نشد دی ساکارید است که در صورت رنگ دادن با معرف سیلوانف تست می کنیم که اگر رنگ داد فروکتوز و اگر رنگ ایجاد نشد گلوکز یا گالاکتوز و یا پنتوز است سپس از معرف لیان استفاده می کنیم که اگر رنگ ایجاد کرد پنتوز و اگر رنگ ایجاد نشد گلوکز یا گالاکتوز است سپس با معرف فلین هیدرازین تست صورت می گیرد که قند ترکیبی با فلین هیدرازین پیوند داده و بلور ایجاد می شود اگر بلورها به شکل ★ بود گالاکتوز و اگر بلورها به شکل * بود گلوکز است.
۲. روش آنزیمی: سه لوله خالی S, B, T را اولی بل ۰/۰۰۱ سی سی محلول استاندارد و دومی با ۰/۰۰۱ سی سی آب مقطر و سومی با ۰/۰۰۱ سی سی محلول مجهول پر می کنیم این مقدار را با سم پلر برمی داریم غلظت

تمام این محلول ها ۱۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر است سپس به هر کدام ۲ سی سی معرف افزوده و ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می دهیم سپس هر کدام را در دستگاه اسپکتومتر قرار داده و میزان نور ۵۲۰ ناندا را از آن می گذرانیم و عدد داده را ثبت کرده و در فرمول زیر قرار می دهیم:

$$\text{میزان جذب } T \times \frac{\text{غلظت استاندارد}}{\text{میزان جذب } S}$$

اشتباه متداول:

دستگاه اسپکتومتر قند را تا ۴۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر می سنجد که اگر فرد دیابتی باشد اسپکتومتر عدد پرشی ۹۹۹ را نشان می دهد که در این صورت باید نمونه را رقیق کنیم پس به نمونه اولی دو غلظت می توان داد اگر غلظت $\frac{1}{4}$ بدهیم ۱ سی سی محلول و ۳ سی سی آب مقطر می افزاییم و اگر غلظت $\frac{1}{2}$ بدهیم ۱ سی سی محلول و ۱ سی سی آب مقطر می افزاییم سپس ۵۰ ناندا از محلول را جدا کرده و با اسپکتومتر می سنجیم و از فرمول زیر استفاده می کنیم:

$$\text{میزان جذب } T \times \frac{\text{غلظت استاندارد} \times ۲ \text{ یا } ۴}{\text{میزان جذب } S}$$

جلسه سوم : (آزمایش ادرار) Urine Analysis

عموما همراه با U/A آزمایش U/C (Urine Culture) هم انجام می شود که مربوط به کشت ادرار است .

ظرفی که به مریض دربخش داده می شود باید استریل و درب دار باشد و مقدار وسط ادرار باید دریافت شود که Midstream نامیده می شود ادراری که گرفته می شود بلافاصله به آزمایشگاه فرستاده شود و بیشتر از یک ساعت نباید بگذرد و یا ۲-۳ ساعت در یخچال باقی بماند که به علت رشد باکتری ها PH کاهش یافته و سنگهای ادراری در آن ته نشین می شوند و گلبولهای سفید و قرمز پاره یا متورم می شوند.

نکته مهم در آزمایش این است که اگر میزان بیشتر از 10^5 باکتری در ادرار یافت شود به عنوان کشت مثبت بوده و فرد آنتی بیوتیک دریافت می کند و اگر میزان کمتر از 10^5 باکتری در ادرار یافت شود به عنوان کشت منفی بوده و فرد آنتی بیوتیک دریافت نمی کند البته اگر نمونه زیاد بماند به علت رشد و تکثیر باکتری ها به کشت مثبت تبدیل می شود.

آزمایش ادرار به دو صورت انجام می شود:

۱. فیزیکی : رنگ، بو، شفافیت، وزن مخصوص، حجم و PH بررسی می شود.
 ۲. شیمیایی : گلوکز، کتون، پروتئین، بیلی روبین، اوریبیلینوژن (از محصولات بیلی روبین است که به مقدار کم یافت می شود)، خون و نیترات ادرار بررسی می شود .
- کتون در حالت نرمال در ادرار وجود ندارد که تنها در گرسنگی های طولانی و دیابت کتون قابل مشاهده است.
- پروتئین به حالت نرمال ۸۰-۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر در ادرار موجود است خون در حالت معمول دیده نمی شود ولی ممکن است یک یا چند گلبول قرمز دیده شود که نرمال است گلوکز در حالت نرمال دیده نمی شود ولی اگر میزان گلوکز خون بیشتر از ۱۸۰ گرم بر دسی لیتر باشد منجر به وجود آن در ادرار می شود وجود نیترات در ادرار مربوط به باکتری ها و عفونت های ادراری می باشد که در صورت وجود دلیل بر عفونت ادراری می باشد.
- اصطلاحات مربوط به حجم:

۱. پلی اوریا (Polyuria) : افزایش حجم ادرار است که در دیابت، تزریق وریدی، مصرف زیاد مایعات و کمبود هورمون ADH و آسیب کلیوی رخ می دهد.
۲. اولیگواوریا (Oligouria) : کاهش حجم ادرار که در بیماری گلومولونفریت یعنی التهاب گلومرولهای نفرون ها و پیلونفریت ها رخ می دهد.
۳. آنوریا (Anuria) : قطع کامل ادرار

حجم ادرار در سنین مختلف:

در بالغین در هر ۲۴ ساعت میزان ۷۵۰ سی سی تا ۲ لیتر است. در نوزاد سه روزه ۲۰-۵۰ سی سی و در نوزاد ۵ روزه ۳۵-۱۰۰ سی سی می باشد.

رنگ طبیعی ادرار زرد می باشد که به علت یوروکروم است اما رنگ آن تابع مواد دارویی و غذایی است.

۱. سبز مایل به زرد: بیماری مزمن کلیوی، دیابت قندی، دیابت بی مزه، کمبود شدید آهن دیده می شود.
۲. زرد پررنگ: ماندن طولانی ادرار و اتابراین یا کیناکرین دیده می شود.
۳. نارنجی: ریواس، ریوفلاوین، فورازولیدون دیده می شود.
۴. سبز: پیگمانهای صفاوی، سندرم کهنه آبی، وجود اندیکان به مقدار زیاد، بلوده متیلن، رباکسین (متاکاربامول) دیده می شود.
۵. صورتی یا قرمز: خون، فناستین، باکتری (سراشیا)، دیلاتین ماده ضد صرع دیده می شود.
۶. تیره و خاکستری: آلاکتونوریا، بیلیروبینوری، ملانین، داروهای تزریقی آهن، دارمفت هموگلوبین، مسمومیت با فتل و پورفیرینوری دیده می شود.

ادرار باید شفاف باشد و بعضی مواقع ممکن است کدر شود مثل وجود شیلوری یا لنف، باکتری، چرک و خون، اکسالات، پروتئین، اورات آمورف، فسفات آمورف و دیر فرستادن نمونه به آزمایشگاه.

بوی ادرار:

۱. بوی موز: فنیل کتونوریا
۲. بوی استون: دیابت
۳. بوی تند: حاوی چرک
۴. بوی مواد غذایی: مصرف سیر، نعناع
۵. بوی میوه: تخمیر آمونیاک

PH نرمال ادرار ۵/۵-۶/۵ می باشد اما در بعضی موارد متفاوت است مثل:

۱. اسیدی: گرسنگی، متابولیسم چربی ها، رژیم غنی از پروتئین، وجود باکتری های تولید کننده اسید، اسیدوز تنفسی و متابولیک، داروهایی که جهت درمان سنگهای کربنات کلسیم و فسفات کلسیم تجویز می شوند.
۲. قلیایی: رژیم گیاهی، متابولیسم چربی ها، تولید آمونیاک در ادرار، تجزیه اوره در ادرار، آلكالوز تنفسی و متابولیک، داروهایی که جهت درمان سنگهای اسیداوریک و اگزالات تجویز می شوند.

وزن مخصوص ادرار نشاندهنده تغلیظ مواد موجود در ادرار است و با دستگاه Refractometer اندازه گیری می شود.

هرچه مواد بیشتری دفع شود وزن مخصوص بالا می رود مثل مواردی چون: نیشامیدن آب، تب، تعریق، استفراغ، اسهال، دیابت، بارداری، پروتئینوری، تومور و وجود زیاد ADH.

هرچه مواد کمتری در ادرار باشد وزن مخصوص کاهش می یابد: مصرف زیاد مایعات، تزریق وریدی، مصرف داروهای مدر، کاهش حرارت بدن، گلومولونفریت، پیلونفریت و فقدان ADH.

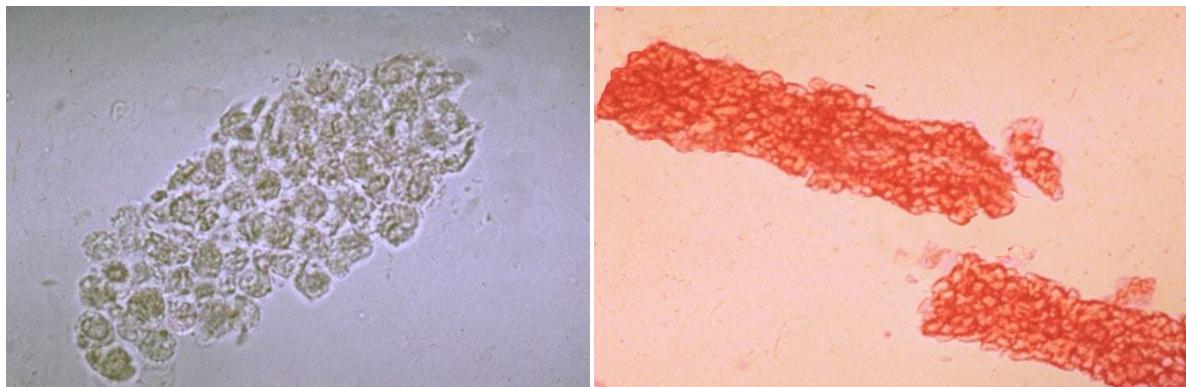
برای بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی از نوارهای ادرار برای روش کیفی استفاده می کنند که تنها PH و وزن مخصوص را نشان نمی دهند.

اگر در هر زمینه ۲-۴ گلبول سفید یا WBC باشد نرمال است در غیر این صورت التهاب کلیه یا عفونت در فرد وجود دارد. اگر در هر زمینه ۱-۲ گلبول قرمز یا RBC باشد نرمال است در غیر این صورت عفونت حاد شکم یا آپاندیسیت و یا سنگ کلیه در فرد وجود دارد. جهت افتراق آپاندیس از درد کلیه دو آزمایش CBC و U/A انجام می شود که اگر تعداد سلولهای خونی شمرده شده در آزمایش CBC مقدار WBC را بیشتر از ۱۰۰۰۰ گزارش کرد آپاندیس است اما اگر در U/A خون دیده شده باشد و یا اگزالات کلسیم و یا فسفات کلسیم و یا اورات فسفات ثبت شده باشد و WBC نرمال باشد مشکل کلیوی است.

معمولا ۱-۲ اپی تلیال در ادرار مردان و ۲-۴ اپی تلیال در ادرار زنان به صورت نرمال وجود دارد ولی اگر مقدار آن زیاد گزارش شد و همراه با آن گزارش U/C, U/A هم نوشته شده بود نمونه درست گرفته نشده و یا عملی منجر به کنده شدن سلولهای اپی تلیال شده است. گاهی در ادرار اسپرم هم یافت می شود.

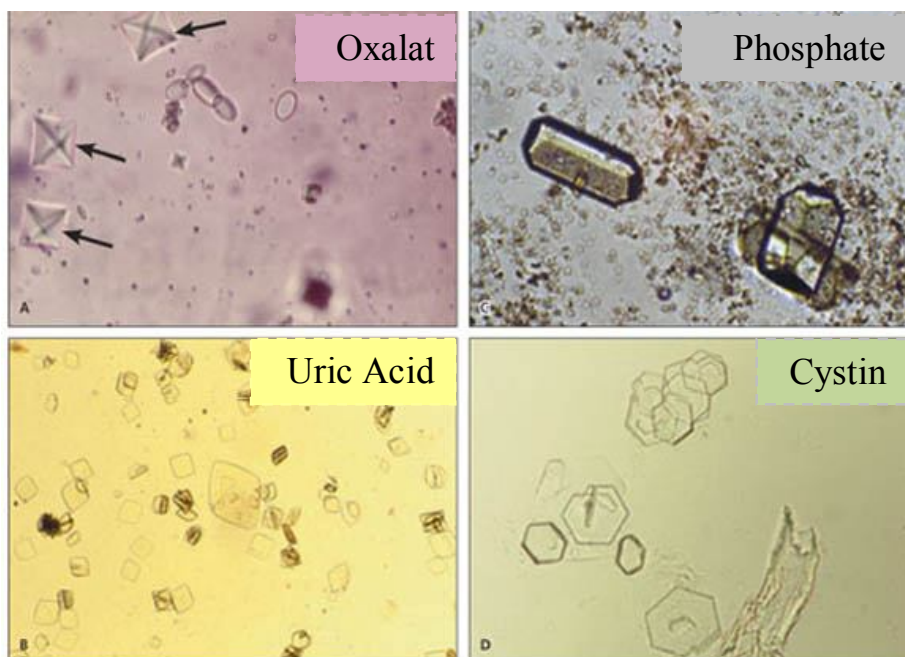
در ادرار معمولا کریستال و یا کست Cast هم دیده می شود که تنها در مواقع بیماری Cast قابل رویت است که به شکل بیضی است و از تعداد زیادی سلول (اپی تلیال، گلبول سفید، گلبول قرمز،) چسبیده به هم تشکیل شده است.

هرگاه عفونت در فرد وجود داشته باشد تعداد WBC های دفعی زیاد می شود و به صورت حالت تجمعی Cast در می آید.



اگر Cast به مدت زیادی در نمونه بماند از بین می رود و یا قطعه قطعه می شود و یا سلولهای درونی آن تجزیه می شوند و به آن کست گرانوله Granular casts گفته می شود که نشان دهنده فاقد ارزش بودن نمونه و یا حالت پاتولوژی است. متداولترین کست دیده شده در ادرار کست هیالن است که اگر مقدار آن بیشتر از یکی باشد بیماری را نشان می دهد.

کریستالهای موجود در ادرار: فسفات ها منشوری شکل، اگزالات ها پاکتی شکل، اوریک اسیدها لوزی شکل، سیستین ها شش وجهی.



اگر لیمو با لبنیات مصرف شود ترشی ها با اگزالات موجود در خود و ترکیب شدن با کلسیم موجود در لبنیات سنگ کلیه اگزالات کلسیم را ایجاد می کنند که شبیه پاکت نامه است. اگر خون در ادرار باشد اوریک اسید قابل رویت است.

روش آزمایش:

برای مشخص شدن وجود خون در ادرار از فرمول زیر استفاده می شود:

2ml ادرار + 2ml الکل پیرامیدون + 1ml آب اکسیژنه = رنگ آبی نشانه وجود خون

برای مشخص شدن وجود گلوکز در ادرار از فرمول زیر استفاده می شود:

2cc معرف گلوکز (بندیک) + یک قطره ادرار = رنگ قرمز نشاندهنده وجود گلوکز

برای مشخص شدن وجود پروتئین در ادرار از فرمول زیر استفاده می شود:

2cc ادرار + سه قطره اسیدسولفورو سالیسیلیک = کدورت را درجه بندی می کنیم

برای بیلی روبین از معرف ژافه استفاده می شود که اگر زرد شد وجود دارد و برای بیلی روبلینوژن از ارلیخ و کتون از واکنش روترا استفاده می شود.

جلسه چهارم : اندازه گیری اوره خون

به طور غیرمستقیم میزان فعالیت کلیه ها را نشان می دهد اوره در هر ۲۴ ساعت ۶۰۰ میلی گرم بری سی لیتر و کراتینین ۵۰ میلی گرم بردسی لیتر دفع می شود. اوره در کبد تولید می شود وقتی پروتئینها سوخته می شوند یون آمونیاک تولیدشده به کبد می رود و با CO₂ ترکیب شده و اوره را می سازد.

اوره در اختلالاتی مانند دی هیدراسیون، نارساییهای قلبی، شوک افزایش می یابد بسته شدن میزراه به وسیله سنگ باعث کاهش مقدار اوره در ادرار و افزایش آن در خون می شود.

اوره به مقدار طبیعی ۱۰-۵۰ میلی گرم در بزرگسالان است که در حاملگی کاهش می یابد چون رقیق شدن خون میزان آن را کاهش می دهد .

تست های مربوط به اوره:

BUN که با اندازه گیری مقدار نیتروژنهای اوره و از تقسیم مقدار ثبتي اوره بر ۲/۱۴ بدست می آید . تست کراتینین همواره با تست اوره درخواست می شود که محصول کراتین فسفات در عضلات و تبدیل آن به کراتینین محلول است و بهترین تست برای عملکرد کلیه هاست.

میزان کراتین را با پرورش اندام، مصرف کراتین، مصرف زیاد پروتئین، افراد ژيگانتيس، آکرومگالين می توان بالا برد. سایمتادين، جنتامایسین، سفالوسپورین روی آزمایش کراتینین موثر است .

مقدار کراتینین در بزرگسالان ۰/۵ تا ۱/۲ میلی گرم بر دسی لیتر است.

نحوه انجام آزمایش:

لوله تست	لوله استاندارد	لوله بلنک	
۲۰ L μ	-	-	سرم نمونه مجهول
-	۲۰ L μ	-	استاندارد
-	-	۲۰ L μ	آب مقطر
۲۰۰ L μ	۲۰۰ L μ	۲۰۰ L μ	معرف I
مخلوط کرده و ۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه می گذاریم			
۲/ ۵CC	۲/ ۵CC	۲/ ۵CC	معرف II
۲/ ۵CC	۲/ ۵CC	۲/ ۵CC	معرف III
مخلوط کرده و ۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه می گذاریم و در اسپکتومتر با طول موج ۵۷۸ نانومتر می گذاریم.			