

612.4
E 97

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
NICOLAE TESTEMIȚANU

EXPLORAREA URINEI ÎN LABORATORUL CLINIC

(Recomandări metodice)

CHIȘINĂU
2008

5/2, 4
F 92

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
NICOLAE TESTEMIȚANU

EXPLORAREA URINEI ÎN LABORATORUL CLINIC

(Recomandări metodice)

679248



Sl

Chișinău
Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*
2008

Aprobat de Consiliul metodic central al USMF *Nicolae Testemițanu*,
Consiliul de experti al MS RM (proces-verbal nr.4 din 23 iunie 2006)

Autori:

Valentin Gudumac, prof., dr.hab.med., catedra Diagnostic de Laborator Clinic,
USMF *Nicolae Testemițanu*

Vasile Niguleanu, prof., dr.hab.med., catedra Diagnostic de Laborator Clinic,
USMF *Nicolae Testemițanu*

Jana Bernic, dr.med., conferentiar universitar, USMF *Nicolae Testemițanu*

Liliana Rotaru, asistent universitar, catedra Diagnostic de Laborator Clinic,
USMF *Nicolae Testemițanu*

Vera Sali, medic de laborator categorie superioară, IMSP Spitalul Clinic
Republican

Angela Ciuntu, dr.med., cercet.șt., Institutul de Cercetări Științifice în
Domeniul Ocrotirii Sănătății Mamei și Copilului

Recomandările metodice cuprind descrierea minuțioasă a metodelor de bază
practicate în majoritatea laboratoarelor clinice pentru examinarea urinei.

Sunt predestinate medicilor-rezidenți, specialiștilor-medici de laborator clinic,
mediciilor clinicieni de la cursurile de reciclare tematică, cadrelor didactice de la
colegiile de specialitate în care se predau cunoștințe în domeniul tehniciilor de laborator.

Recenzenți:

Constantin Babiuc, dr.med, prof.universitar, catedra Medicină Internă nr.2

Ion Dumbrăveanu, dr.med., conferentiar universitar, catedra Urologie
și Nefrologie Chirurgicală, USMF *Nicolae Testemițanu*

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII

Explorarea urinei în laboratorul clinic (Recomandări metodice) /aut. :

Valentin Gudumac, Vasile Niculeanu, Jana Bernic [et al.] ; Min. Sănătății al Rep.
Moldova, Univ. de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", – Ch. :
CEP "Medicina", 2008. – 105 p.

Bibliogr.: p. 105.

ISBN 978-9975-915-50-2

Tiraj: 100 ex.

612.461(076.5)

E 97

Redactor: Lidia Câssa

Machetare computerizată: Vera Florea

CUPRINS

Cuvânt înainte.....	5
Capitolul I. GENERALITĂȚI PRIVIND METODELE UNIFICATE ALE EXPLORĂRII URINEI	
1.1. Termeni și definiții.....	6
1.2. Referințe normative.....	9
Capitolul II. ELEMENTE DE STRUCTURĂ FUNCȚIONALĂ RENALĂ. MECANISMUL FORMĂRII URINEI.....	11
Capitolul III. RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA URINEI.....	21
3.1. Factorii care influențează rezultatele analizei urinei.....	21
3.2. Recoltarea probelor de urină.....	24
3.3. Contaminarea probelor de urină.....	28
Capitolul IV. PROPRIETĂȚILE FIZICE ALE URINEI.....	30
4.1. Probe funktionale.....	39
Capitolul V. PROPRIETĂȚILE CHIMICE ALE URINEI.....	44
5.1. Determinarea reacției urinei.....	44
5.1.1. Determinarea reacției urinei cu ajutorul indicatorului albastru de bromtimol.....	45
5.1.2. Determinarea pH-ului urinei cu ajutorul hârtiei indicatoare.....	46
5.2. Cercetarea corpilor cetonici.....	46
5.2.1. Depistarea corpilor cetonici prin reacția cu nitroprusid de sodiu..	47
5.2.2. Metoda expres de depistare a corpilor cetonici.....	48
5.3. Probele calitative la urobilină.....	48
5.4. Determinarea urobilinogenului prin reacția cu paradimetil-benzaldehidă.....	49
5.5. Determinarea porfobilinogenului în urină.....	53
5.6. Identificarea proteinelor în urină cu acid sulfosalicilic.....	55
5.7. Depistarea glucozei în urină prin reacția de reducere a cuprului..	59
5.8. Depistarea bilirubinei în urină.....	60
5.9. Importanța diagnostică a determinării enzimelor în urină.....	61
5.9.1. Determinarea activității pseudocolinesterazei în urină.....	64
5.9.2. Determinarea activității alfa-glucozidazei neutre în urină.....	66
Capitolul VI. EXAMENUL MICROSCOPIC AL URINEI.....	69
6.1. Elementele sedimentului organizat ale urinei.....	71

6.2. Determinarea numărului de elemente figurate ale săngelui în urină.....	78
6.2.1. Determinarea numărului de elemente figurate ale săngelui în urina de 24 ore (metoda Addis- Kakovski).....	78
6.2.2. Determinarea cantitativă a elementelor celulare în urină (metoda Neciporenko).....	80
6.3. Diferențierea leucocitelor în frotiurile vopsite.....	81
6.4. Elementele sedimentului neorganizat.....	82
Capitolul VII. TESTE-SCREENING PENTRU DEPISTAREA DEREGLĂRILOR METABOLICE CONGENITALE SAU DOBÂNDITE LA COPII. PRIMA ETAPĂ DE CERCETARE (CERCETAREA URINEI).....	89
7.1. Identificarea proteinelor, aminoacizilor, cetoacizilor și indicanului.....	89
7.2. Identificarea glucidelor.....	96
7.3. Identificarea calciului (proba Silcovici).....	98
Capitolul VIII. TESTE RAPIDE DE INVESTIGARE.....	100
Bibliografie.....	105

Cuvânt înainte

Explorările urinei au cunoscut în ultimii ani o evoluție considerabilă. Dintre cele peste 50 teste de laborator folosite pentru determinarea funcțiilor renale, practica cotidiană le-a selectat atât din punct de vedere al valorii diagnostice, cât și al utilității lor pentru monitorizarea pacientului.

Pe lângă metodele speciale de investigație, în lucrare sunt prezentate testele, tehniciile și utilizarea acestora pentru depistarea patologijilor renale, evaluarea și interpretarea sedimentului urinar, care pot fi efectuate în orice laborator. Din acest motiv recomandările metodice vor fi de mare folos nu numai în clinica nefrologică și urologică, dar și în clinicele de alt profil.

Cunoscând indicațiile, exigențele tehnice, dar mai ales limitele de interpretare ale explorărilor de laborator ale urinei, medicul clinician împreună cu medicul de laborator sunt datori să culeagă maximum de informații în favoarea pacienților lor. Avem convinserea că, în acest fel, medicii clinicieni și medicii de laborator care lucrează în laboratoarele clinice vor înțelege mai bine valoarea diagnostică și limitele diverselor investigații de laborator.

Materialul prezentat permite medicilor de laborator, rezidenților și specialiștilor care activează în laboratoare să însușească tehniciile moderne de examinare a urinei. Lucrarea conține o serie de informații pe care le poate utiliza clinicianul confruntat zi de zi cu patologia nefrologică și urologică.

Capitolul I

GENERALITĂȚI PRIVIND EXPLORAREA URINEI ÎN LABORATORUL CLINIC

1.1. Termeni și definiții

Termenii și expresiile de mai jos se definesc după cum urmează:

- a) *materialul biologic pentru cercetare* este materialul, în care se efectuează depistarea sau determinarea;
- b) *eșantion* este cantitatea de material biologic prezentat în laborator pentru cercetare;
- c) *proba de cercetat* este proba de material biologic supusă prelucrării în procesul de depistare sau determinare;
- d) *proba martor* este proba supusă aceleiași prelucrări asemenea probei de cercetat, însă care conține:
 - aceiași reactivi, dar fără materialul biologic (sau fără soluția etalon);
 - material biologic diluat în același mod ca și proba de cercetat, dar fără reactivi;
 - aceiași reactivi plus materialul biologic inactivat;
- e) *proba de control* este proba de material de control supusă aceleiași prelucrări ca și proba de cercetat pentru depistarea erorilor posibile și controlul calității lucrului efectuat;
- f) *soluția etalon, soluția de calibrare* este soluția care se folosește pentru construirea graficului de calibrare;
- g) *proba etalon, proba de calibrare* este proba de soluție etalon sau de calibrare supusă aceleiași prelucrări ca și proba de cercetat;
- h) *depistarea, identificarea* este proba calitativă;
- i) *determinarea, dozarea* este proba cantitativă;
- j) *urina* este produsul de excreție al rinichilor, prin care se

elimină din organism excesul de apă, de săruri și de alte substanțe, deseori toxice, provenite din metabolismul substanțelor alimentare sau celulare, aşa încât compoziția organismului și a sângeului să fie cât mai constantă;

k) *analiza urinei (examenul de urină)* include examinarea proprietăților fizice, chimice și morfologice ale urinei. Având în vedere importanța funcției pe care o au rinichii, examenele de urină sunt mai frecvent solicitate în laboratoarele clinice. Analiza urinei poate fi totală, sumară sau parțială:

l) *analiza totală a urinei (examenul total de urină)* se efectuează pe urina recoltată în 24 de ore, cercetându-se, în acest caz, cât mai multe dintre calitățile fizice și componentele chimice ale urinei. Recoltarea urinei eliminată în 24 de ore de bolnav se face astfel: dimineața, la deșteptare, bolnavul urinează și aruncă urina respectivă. Apoi, în tot cursul zilei și în noaptea următoare, ori de câte ori va urina, va strângă urina într-un borcan curat, fierb înainte în apă cu sodă și apoi bine spălat și limpezit cu apă de la robinet; borcanul se va păstra acoperit, într-un loc răcoros. Pentru a evita fermentația urinei, se pune în borcan câteva cristale de timol. A doua zi, la deșteptare, la aceeași oră, bolnavul va urina în alt vas. Această urină proaspătă va servi în special la cercetarea elementelor figurate din sediment, care în urina învechită se pot altera și distrugă.

Nu este nevoie ca întreaga cantitate de urină strânsă să fie trimisă la laborator; 100–150 ml, împreună cu urina proaspătă, sunt suficienți pentru analiză, cu condiția ca pe bonul de cerere să fie notată cifra corespunzătoare cantității de urină eliminată de bolnav în timpul zilei și al nopții;

m) *analiza sumară a urinei (examenul sumar de urină)* se execută pe urina corespunzătoare unei singure emisiuni, de obicei cea de dimineață, care este mai concentrată. Acest examen este, în linii generale, calitativ și cuprinde calitățile fizice – aspectul, reacția, culoarea, densitatea, unele componente chimice mai importante – proteina, glucoza, acetona, pigmenții biliari – urobilinogenul, bilirubina și sedimentul.

n) *analiza parțială a urinei (examenul parțial de urină)* se efectuează atunci când medicul urmărește anumite elemente din compoziția urinei. De exemplu, atunci când la bolnavii de ficat se caută numai elementele biliare – urobilinogen, urobilină, pigmenți biliari și săruri biliare – sau la diabetici – glucoza și acetona. Și aceste examene se pot face pe o singură probă de urină. Dacă însă se cere un examen cantitativ, cum este în general cazul la diabetici, pentru urmărirea glicozuriei, sau la renali, pentru urmărirea eliminării clorurilor, atunci dozajul trebuie executat pe o probă de urină din cantitatea strânsă în 24 de ore. Numai astfel examenul poate da cifra adevărată a eliminării zilnice; din dozarea acestor substanțe în urina unei singure miciuni nu se poate deduce eliminarea în 24 de ore, întrucât eliminarea este în legătură directă cu alimentația, crescând după ingerarea de alimente și scăzând în intervalul dintre mese;

o) *calcularea rezultatelor* se efectuează la determinare, dozare;

p) *aprecierea rezultatelor* se efectuează la depistare;

r) *intervalul de referință biologică* – intervalul central de 95% a distribuției valorilor de referință.

Nota 1. Acesta înlocuiește un astfel de termen utilizat greșit precum e "intervalul normal".

Nota 2. Este o înțelegere arbitrară, dar general acceptată de a defini intervalul de referință drept interval central de 95%. În unele cazuri particulare s-ar putea întâmpla ca altă mărime sau o configurație asimetrică a intervalului de referință să fie mai potrivită. Intervalele de referință (valorile „normale”) reprezintă mai curând date obținute statistic decât criterii de clasificare a pacienților în persoane bolnave și persoane sănătoase și se bazează pe definiția statistică a normalului (normale fiind acele persoane la care 95% dintre investigații sunt în limite normale, în timp ce restul de 5% dintre examinările independente au valori aflate în afara acestor intervale de referință, în absența unei boli).

În timpul cercetărilor se va ține cont de următoarele:

a) măsurarea cu căntarul analitic se efectuează cu precizia de 0,0002 g cu balanță tehnică – cu precizia de 0,01 g;

b) pentru determinarea volumelor lichidelor și prepararea soluțiilor se folosește vesela gradată ce corespunde: GOST 1770–74

pentru "cilindre, baloane cotate, pahare gradate" și GOST 20292-74 pentru "biurete, pipete gradate";

c) în cazul când se indică temperatura "la rece", se subînțelege temperatura de 12–15⁰C; "la cald" – temperatura de 18–20⁰C. În cazul "fierbinte" temperatura va fi de 40–50⁰C, iar la "fierberea pe baie de apă" se va ține cont de temperatura de 98–100⁰C ;

d) dacă pentru soluțiile nu este indicat solventul, atunci soluțiile se prepară pe apă, acestea sunt soluțiile apoase;

e) sub noțiunea de "apă" fără specificări, se folosește apa distilată;

f) apa distilată, folosită pentru prepararea soluției va corespunde GOST 6709–72;

g) se folosesc reactivi chimici cu termenul de păstrare neexpirat, iar ambalajul și condițiile de păstrare corespund cerințelor pentru reactivul dat, indicate pe etichetă.

Conform Sistemului Internațional (SI) al unităților, concentrația soluțiilor se exprimă în concentrație molară (mol/l) sau concentrație de masă (g/l).

Soluțiile folosite se prepară în volumele corespunzătoare pentru laboratorul dat, ținând cont de stabilitatea soluțiilor și de numărul de cercetări. Pentru majoritatea soluțiilor sunt indicate calificativele admise ale reactivilor. Când lipsesc aceste indicații, se vor folosi reactivi cu calificativul "*puritate chimică*", "*puritate analitică*" sau "*pur*".

Regulile de preparare a soluțiilor bazice sau acide sunt indicate în îndrumarele pentru tehnica lucrărilor de laborator.

Prelucrarea, spălarea și uscarea veselei de laborator se va face conform îndrumarelor corespunzatoare.

1.2 Referințe normative

GOST 3885–73. Reactivi și substanțe deosebit de pure. Reguli de recepționare, prelevare a probelor, împachetare, ambalare, marcare, transport și păstrare.

GOST 6709–72 – Вода дистиллированная (Апа distilată).

GOST 4212–76 – Реактивы. Методы приготовления растворов для колориметрического и нефелометрического анализа (Reactivi. Metodele de pregătire a soluțiilor pentru analiza colorimetrică și nefelometrică).

GOST 4517–87 – Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реагентов и растворов, применяемых при анализе (Reactivi. Metodele de pregătire a reactivilor auxiliari și a soluțiilor folosite pentru analiză).

GOST 257941–87 – Титрованные растворы (Soluții titrate).

GOST 1770–74 – Vase cotate de laborator. Cilindre, menzure, retorte, eprubete. Condiții tehnice.

Condiții privind protecția mediului ambiant:

Condițiile privind protecția apelor de suprafață contra poluării conform Regulamentului igienic “Protecția bazinelor de apă contra poluării”, apobat de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova prin ordinul nr. 06.6.3.23 din 03.07.1997.

Condițiile privind controlul emisiilor de substanțe poluante în atmosferă conform GOST 17.2.3.02 și San PiN 4946–89 “Reguli sanitare privind protecția aerului atmosferic în centrele populate”, aprobată de Ministerul Sănătății al URSS la 16.05.89 și ratificate de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova la 02.07.92, nr.232.

Condițiile privind protecția solului contra poluării cu deșeuri menajere și de producție conform San PiN 42–128–4690 “Reguli sanitare privind întreținerea teritoriilor centrelor populate”, aprobată de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova la 02.07.92, nr.232.

Capitolul II

ELEMENTE DE STRUCTURĂ FUNCȚIONALĂ RENALĂ. MECANISMUL FORMĂRII URINEI

Unitatea morfofuncțională a rinichiului este *nefronul*. La om fiecare rinichi conține 1 milion de nefroni. Lungimea unui nefron este în medie de 15 mm, deci întinderea totală a nefronilor într-un rinichi este de 15 km. *Nefronul* este alcătuit din 2 elemente: *glomerulul și tubul urinifer* (figura 2.1).

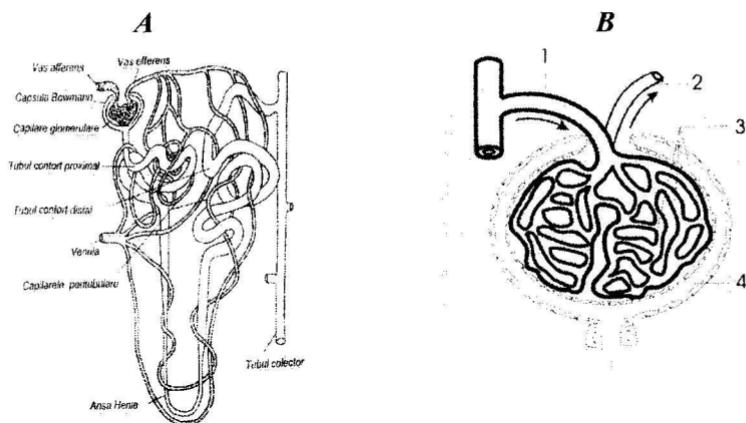


Figura 2.1 Schema nefronului (A) și structura glomerulului renal (B):

1 – vas afferens; 2 – vas efferens; 3 – rețeaua capilarilor glomerulare; 4 – capsula Bowmann (stratul dublu de celule epiteliale); 5 – tubul contort proximal.

Glomerulul este format dintr-o rețea de capilare sanguine arteriale, provenite dintr-o arteriolă aferentă și din care ieșe arteriola eferentă. Are forma și mărimea unei sfere cu diametrul de 200 µm și este constituit dintr-un înveliș, capsula Bowmann și un ghem de capilare.

Capsula Bowmann este formată din două straturi separate de celule epiteliale, unul intern și altul extern între care se formează un spațiu liber îngust.

Membrana capilarelor glomerulare este o membrană semipermeabilă și cuprinde trei straturi (*figura 2.2*).

Primul strat este alcătuit din celulele endoteliale ale capilarelor glomerulare care înconjoară în întregime lumenul capilar. Citozina celulelor endoteliale conține un număr mare de pori cu diametrul de 60–100 nm și de aceea poartă denumirea de *lamina fenestrata* sau *attenuata*.

Al doilea strat denumit *membrana basilaris*, *lamina densa* conține o membrană glicoproteică poroasă cu diametrul porilor de ≈ 5 nm.

Al treilea strat este constituit din celulele epiteliale ale peretelui intern al *capsulei Bowmann* denumite „podocite”, ele se sprijină de membrana bazală cu ajutorul trabeculelor alungite care se termină cu „pedicele” (piciorușe); distanța medie dintre pedicele podocitelor este de ≈ 50 nm. Între podocite, trabecule, piciorușe și membrana bazală se află spațiul subpodocitar care comunică liber cu spațiul capsulei Bowmann.

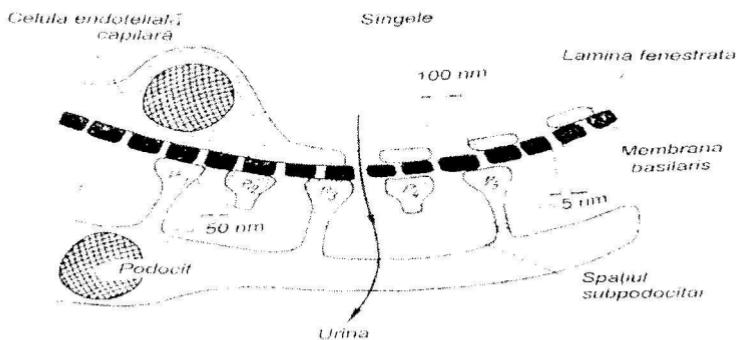


Figura 2.2. Schema membranei capilarelor glomerulare cu cele trei straturi:

T – trabecule; *P1, P2, P3, P4, P5* – pedicele (piciorușele).

Sângele din glomerul capilar trebuie să traverseze, deci o membrană ce constă din trei structuri: endoteliu capilar (fenestrat), membrana bazală și un strat epitelial complex (podocite cu trabecule și pedicele).

Complexitatea și dimensiunile structurilor de trecere condiționează permeabilitatea selectivă a suprafeței de filtrare în funcție de diametrul, forma, masa moleculară și de sarcina electrică a substanței ce urmează să traverseze membrana.

Tubul urinifer este alcătuit din: tubul contort proximal, ansa Henle și tubul contort distal. Ansa Henle conține segmentul descendant și segmentul ascendent.

Principala funcție a rinichiului este de formare a urinei și ea se realizează în trei etape: **filtrare glomerulară, reabsorbție tubulară și secreție tubulară.**

Filtrarea glomerulară. Formarea ultrafiltratului glomerular din plasma sanguină este rezultatul proceselor fizice ce decurg la nivelul glomerulilor, în urma căror se formează urina primară (aproximativ 180 l/24 ore).

Filtrarea glomerulară se efectuează la nivelul porilor prezenți în stratul endotelial (lamina fenestrata) și mai ales a celor din membrana bazală (lamina densa), care permite trecerea selectivă a moleculelor, în funcție de masa lor moleculară; astfel, insulina cu masa moleculară 5,5 kDa trece în totalitate, hemoglobina (68 kDa) – în proporție de 3%, iar albumina serică (69 kDa) – sub 1%. Forța motrică care asigură ultrafiltrarea este gradientul dintre tensiunea sanguină și presiunea hidrostatică a spațiului glomerular din capsula Bowmann.

Presiunea de filtrare (presiunea eficace de filtrare – PF) reprezintă presiunea care forțează lichidele să traverseze membrana glomerulară și rezultă din interacțiunea conjugată a celor trei presiuni: capilară intraglomerulară (PG), oncotică (PO) și din capsula Bowmann (PC) la care se adaugă și presiunea intratubulară:

$$PF = PG - (PO + PC) = 75 - (25 + 10) = 40 \text{ mmHg}$$

În funcție de acești parametri și mai ales de oscilațiile mari ale presiunii intracapilare, s-a constatat că presiunea eficace de filtrare are limite cuprinse între 20–40 mm Hg, ceea ce permite o adaptare la modificările generale și a celor din căile urinare.

Tulburarea filtrării glomerulare. În urma alterării factorilor care participă la procesul filtrării glomerulare, cum sunt: presiunea din capilarele glomerulare, presiunea coloidosmotică, presiunea din capsula Bowmann și permeabilitatea membranei filtrante, au loc o serie de modificări cantitative și/sau calitative ale urinei primare.

Astfel, hipotensiunea arterială conduce la scăderea filtrării glomerulare, uneori până la anurie.

Presiunea coloidosmotică a sângeului este afectată în special prin scăderea valorilor sale, situație întâlnită în toate hipoproteinemii secundare unor pierderi excesive (hemoragii, arsuri, șocuri), unui aport insuficient proteic și a unor deficiențe de sinteză (hepatite, mielom multiplu, boală canceroasă).

Modificările inflamatorii din glomerulonefrita acută au adesea drept urmare o reducere intensă a filtrării glomerulare, în timp ce fluxul renal este normal sau crescut. În unele forme de insuficiență renală acută oligoanuria este expresia scăderii ratei de filtrare glomerulară, dar intervine și necroza epitelialui tubular, care devine o membrană nefuncțională de difuziune pasivă, ce reabsoarbe în totalitate ultrafiltratul glomerular.

Orice deshidratare globală conduce la diminuarea ratei de filtrare și oligoanurie. Se poate spune că mecanismele glomerulare ale oliguriei sunt reprezentate fie de scăderea fluxului renal și a filtrării glomerulare, fie de alterări morfologice ale membranei filtrante.

Presiunea din capsula Bowmann poate fi influențată de existența unor obstacole pe căile inferioare urinare (tumori, calculi etc.), situație în care aceasta crește peste 15 mm Hg, fapt ce reduce presiunea eficace de filtrare și scade astfel filtratul glomerular.

Reabsorbția și secreția tubulară. Din aproximativ 180 l de urină primară formați în decurs de 24 ore rezultă 1–1,5 l urină defi-

nitivă, drept urmare a proceselor de reabsorbție și secreție ce au loc la nivelul tubului urinifer (figura 2.3).

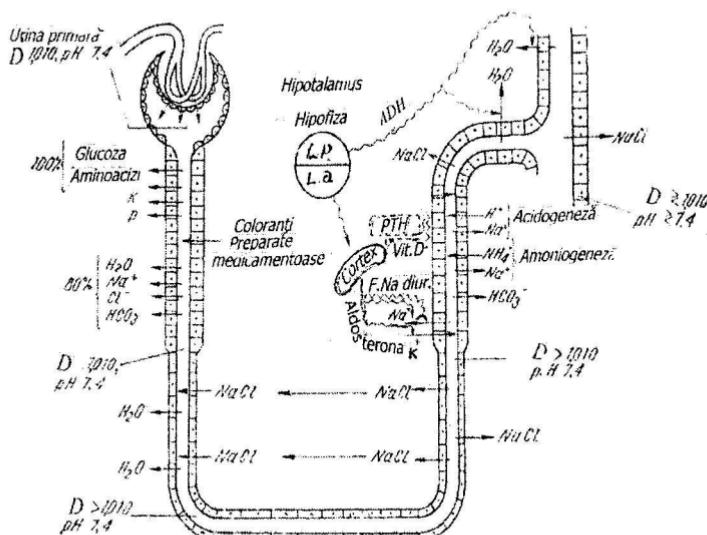


Figura 2.3. Schema proceselor de formare a urinei și reglarea ei:

D – densitatea relativă; ADH – hormonul antidiuretic; PTH – parathormonul; L.p. – lobul posterior al hipofizei; L.a. – lobul anterior; Cortex – stratul cortical al suprarenalelor; —— – acțiune reglatoare stimulantă.

În primul segment, *tubul contort proximal*, se reabsoarbe cea mai mare parte din filtratul glomerular: apă, Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , glucoza, aminoacizii, ureea. Apă și substanțele dizolvate se resorb în proporții echivalente, iar lichidul tubular rămâne izosmotic cu plasma.

Segmentele descendente și ascendent ale *ansei Henle* asigură procesul de concentrare a urinei prin proceze osmotice și electrochimice, în cea mai mare parte active.

Tubul contort distal și tubul colector definitează procesul de

diluție și concentrare a urinei: aici se absoarbe apa, sodiul, bicarbonații și are loc secreția de H^+ , K^+ și a amoniacului.

Activitatea tubulară are la bază două tipuri de mecanisme: activ și pasiv.

Transportul activ se desfășoară cu consum de energie în prezența unui transportor specific care transferă anumite substanțe prin celula tubulară de la polul urinar spre cel vascular și invers (mecanism de tip A), sau prin intermediul unui sistem de „pompă aspiratoare-respingătoare” care transferă alte substanțe împotriva unor gradiențe de concentrație osmotică sau electrochimică (mecanism tip B).

Drept exemplu care explică mecanismul de tip A poate servi reabsorbția glucozei. Sub acțiunea hexokinazei prezente în membrana polului luminal al celulelor tubulare glucoza cu participarea ATP celular se transformă în glucozo-6-fosfat care difundeață până la polul opus al celulei tubulare.

Aici glucozo-6-fosfatul sub acțiunea glucozo-6-fosfatazei se scindează, iar glucoza eliberată pătrunde apoi în sânge. La fel, prin același mecanism, cu participarea unor transportori specifici și ATP, se efectuează transportul aminoacizilor, acidului uric, fosfaților etc.

Cel de-al doilea mecanism de transport activ, de tip B, specific pentru resorbția de Na^+ , HCO_3^- etc. și secreția de K^+ și H^+ , se realizează împotriva unor gradiențe de presiune osmotică și electrochimică. Energia utilizată este necesară menținerii gradiențului electrochimic al activității pompelor active de Na^+ și K^+ prezente la nivelul tuturor segmentelor nefronului. În acest caz cantitatea de substanță transportată nu depinde de un „transportor”, ci de substanța care se resorbe sau se secreta.

O caracteristică a substanțelor resorbite activ este existența așa-numitului „*prag de eliminare*”, deci a unei concentrații sanguine a substanței respective, sub care nu are loc eliminarea sa prin urină. Exemplul de substanță cu prag de eliminare este glucoza, care nu trece în urină decât după ce concentrația sanguină depășește 9–10 mmol/l. Acest prag pentru glucoză crește cu vâr-

sta, în această categorie de substanțe cu prag de eliminare, pe lângă glucoză, mai fac parte și aminoacizii, ionii de Na^+ și K^+ .

Transportul pasiv. În acest mod se reabsoarbe în tubul contort proximal $\frac{3}{4}$ - $\frac{4}{5}$ din apa ultrafiltratului glomerular, precum și ionii de Cl^- în tubul contort proximal, distal și în ansa ascendentă Henle.

Există substanțe care nu sunt resorbite în tub, nici activ, nici pasiv și care *nu au prag de eliminare*. Ele sunt doar filtrate, așa cum este cazul creatininei endogene ce nu apare în lichidul de resorbție.

Prin secreția tubulară se produc la nivelul tubilor substanțe ce apar în urină, fără ca ele să fi existat în ultrafiltratul glomerular sau sunt prezente într-o concentrație mai mare. Din prima categorie face parte acidul hipuric, iar din cea de-a doua – K^+ și H^+ .

Secreția ionilor de H^+ în tubul contort distal și în cel colector se efectuează activ împotriva unui gradient de concentrație. Această secreție contribuie, pe de-o parte, la recuperarea ionilor de sodiu, iar pe de altă parte, la eliminarea valențelor acide din organism, proces care asigură menținerea în limite normale a pH-ului sanguin.

Secreția activă a ionilor de K^+ începe în tubul distal și se accentuează în tubul colector, în schimbul reabsorbției ionilor de Na^+ . Schimbul ionic între Na^+ și K^+ se realizează în urma modificărilor gradientului lor de concentrație, prin intermediul unui sistem de pompă $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, care reabsoarbe Na^+ din tubi și elimină din celulă în urină ionii H^+ și/sau K^+ .

Creșterea concentrației de K^+ în sânge (alcaloză) induce creșterea secreției sale tubulare distale și inhibă secreția ionilor de H^+ . Drept urmare se elimină valențele alcaline în schimbul reținerii H^+ , fenomen urmat de scăderea pH-ului mediului intern, readucându-l la normal. Scăderea concentrației K^+ sanguin (acidoză), dimpotrivă, induce scăderea secreției sale tubulare, conducând la eliminarea crescută a H^+ , ceea ce contribuie la restabilirea pH-ului normal.

679248

Autoreglarea funcțiilor renale

UNIVERSITATEA DE STAT
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMITEANU”

BIBLIOTECĂ

capacitate de autoreglare care acționează în corelare cu mecanismele de reglare neurovegetative și endocrino-umorale.

Controlul fiziologic al excreției urinare reprezintă un fenomen complex, în care intervine un mare număr de factori, care efectuează filtrarea glomerulară și reabsorbția tubulară a apei și sării. În acest proces de reglare sunt implicați în special tubul proximal și segmentul tubular distal. Creșterea concentrației osmolare și a sodiului activează local, intrarenal, sistemul renină-angiotensină.

Renina, principalul component al acestui sistem, este o glicoproteină cu masa moleculară 42 kDa care se sintetizează în aparatul juxta-glomerular al rinichilor (zona corticală), fiind apoi eliminată în sânge. Aici, *renina* acționează asupra *angiotensinogenului*, o glicoproteină din fracțiunea alfa₂-globulinică (formată în ficat) și din care se desprinde un decapeptid, *angiotensina I*. Aceasta, sub acțiunea enzimei de conversie a angiotensinei I, se transformă în *angiotensina II*, un octapeptid biologic activ cu acțiune hipertensivă și eliberatoare de aldosteron. Drept urmare se produce vasoconstricția arteriolei aferente și scăderea filtrării glomerulare. Adaptarea ratei filtrării glomerulare, în raport cu capacitatea de reabsorbție tubulară, limitează pierderile hidrosaline și contribuie la conservarea volumului lichidelor extracelulare.

Reglarea neuroendocrină. Mecanismele endocrino-umorale de reglare asigură, în special, adaptarea funcțiilor tubulare la modificări cantitative și calitative ale mediului intern și săngelui.

Aldosteronul este principalul hormon care controlează excreția și economisirea sodiului și potasiului. La nivelul nefronului acțiunea aldosteronului se exercită asupra segmentului terminal al nefronului. Aldosteronul activează reabsorbția sodiului și eliminarea potasiului, prin schimburi ionice între Na^+ , pe de o parte, și K^+ și H^+ , pe de altă parte. Aldosteronul stimulează de asemenea eliminările urinare ale Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ și H^+ , contribuind astfel la acidificarea urinei.

Hormonul antidiuretic (ADH), produs de sistemul hipotalamo-neurohipofizar, asigură reabsorbția facultativă a apci la nivelul

tubului distal și colector. ADH-ul acționează prin creșterea permeabilității pentru apă a tubului distal și colector, ceea ce conduce la formarea unei urini cu osmolaritate ridicată și volum redus; în absența ADH-ului tuburile distal și colector devin aproape impermeabili pentru apă și se elimină urină foarte diluată și în cantitate mare.

Parathormonul (PTH) acționează la nivelul tubului proximal și distal infuențând reabsorbția sodiului, calciului și fosfatului. Reabsorbția calciului este stimulată, pe când a sodiului și fosfatului este diminuată.

Alți agenți umorali pot influența, de asemenea, activitatea nefronului. Există așa-zise „hormoni tisulari” care au acțiune asupra circulației intrarenale și a tubilor. Astfel, *kalicrein-bradichinina* are acțiune vasodilatatoare și intervine în echilibrul hidrominerale.

Prostaglandinele sunt considerate hormoni cu efect reglator local. Acestea modifică filtrarea renală, măresc debitul sanguin renal, realizând creșterea excreției de apă și sodiu. Prostaglandinele din seria A și E îndeplinesc rolul fiziologic de factori antihipertensiivi în reglarea tensiunii arteriale. În felul acesta, funcția endocrină a rinichiului nu se limitează doar la secreția de renină, ci este dublată de rolul antihipertensiv al prostaglandinelor secrete de zona sa medulară.

Diverși alți factori hormonali pot interveni în reabsorbția tubulară a sodiului. Astfel, cortizolul, estrogenii, somatotropina și insulina pot mări reabsorbția sodiului, în timp ce glucagonul și progesteronul o pot diminua.

Tulburările mecanismului de diluție și concentrare a urinii. Diluția și concentrarea urinară reprezintă funcția prin intermediul căreia se realizează fie economisirea de electrolitii (procesul de diluție), fie economisirea de apă (procesul de concentrare urinară). Economisirea de electrolitii în procesul de diluție se realizează prin eliminarea excesului de apă cu cantități mici de electrolitii. Economisirea de apă prin procesul de concentrare urinară se realizează datorită eliminării excesului de electrolitii cu cantități mici de apă.

Mecanismele care fac posibilă diluția și concentrarea urinei depind de activitatea diferențiată a segmentului tubului urinifer, de particularitățile irigației sanguine peritubulare și a țesutului intersticial, toate formând o unitate morfofuncțională. Ea poate fi tulburată din cauza:

- deficitului de secreție de ADH (diureza apoasă – diabetul insipid);
- deficitului de secreție de ADH secundar unei ingestii massive de apă (polidipsie psihogenă);
- lezării diferitelor segmente tubulare care intervin în mecanismul de concentrare a urinei;
- nereceptivitatea funcționale a tubilor contorți distali și colectori datorită unor leziuni biochimice congenitale (diabet insipid nefrogen) și organice difuze (boli renale cronice și în particular pielonefrite cronice, uropatii obstructive, nefrite interstitiale cronice).

Un defect de concentrare a urinei semnalează posibile alterări morfologice ale ansei Henle, ale tubului contort distal și ale tubului colector cu eventuală lipsă de răspuns la acțiunea ADH.

Alterarea cantitativă a volumului urinar definitiv se datorește creșterii reabsorbției tubulare a clorurii de sodiu și a apei, secundară hipersecreției de aldosteron și ADH și constituie unul dintre principalele mecanisme ale oliguriei, care se instalează în unele stări edematoase.

Capitolul III

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA URINEI

3.1. Factorii care influențează rezultatele analizei urinei

Orice rezultat obținut al analizei urinei într-un laborator poate fi incorect datorită multor cauze, indiferent de performanțele tehnice; astfel de rezultate trebuie reverificate.

Dacă există indicații, trebuie recoltată o nouă probă de urină, care va fi însoțită de datele pacientului, transportată prompt la laborator și prelucrată imediat; în unele situații se impune confirmarea rezultatelor de către un alt laborator.

În cazul unor rezultate incorecte, cele mai frecvente sunt eroile corelate cu pregătirea pacientului pentru investigare, de aceea vor fi elaborate instrucțiuni pentru pacienți simple și precise, fără termeni medicali sofisticăți, adaptate capacitatei sale de înțelegere.

Trebuie acordată cea mai mare atenție etichetării și identificării complete și adecvate a fiecărei probe, care trebuie *întotdeauna* însoțită de un formular de prescripție a investigației. Formularul de cerere va conține informații suficiente pentru identificarea pacientului, precum și informații ce oferă date privind, după caz, examinările solicitate, informația clinică relevantă despre pacient, ce trebuie să includă sexul și data nașterii, ca un minimum necesar pentru interpretare; data și ora colectării probei primare; date și ora primirii probelor de către laborator.

Instrucțiunile specifice cu privire la colectarea și manipularea corectă a probei primare vor fi documentate și implementate de către conducerea laboratorului.

Laboratorul va monitoriza transportul probelor către laborator astfel ca acestea să ajungă la locul destinației:

- a) într-un interval de timp adecvat naturii cercetării solicitate

și a cerințelor disciplinare ale laboratorului;

b) într-un interval de temperatură specificat în manualul despre colectarea probei primare și cu protecția desemnată pentru asigurarea integrității probelor, și într-un mod care asigură securitate curierului, publicului larg și a laboratorului primitor, în conformitate cu reglementările în vigoare.

Toate probele primare recepționate vor fi înregistrate într-o carte de intrări, computator sau alt sistem comparabil. Vor fi înscrise data și ora recepționării probei, cât și identitatea persoanei care le-a administrat. Vor fi elaborate și documentate criterii pentru acceptarea sau refuzul probei primare.

Efectele *medicației* administrate asupra rezultatelor investigațiilor de laborator nu trebuie niciodată trecute cu vederea. Clinicianul trebuie să fie întotdeauna atent la regimul terapeutic urmat de pacient, la eventualele supradoze de medicamente, de vitamine și de preparate de fier. Adesea pacienții nu spun medicului ce tratează (prescrise de alți medici sau autoadministrate) urmează, ceea ce poate determina rezultate fals negative sau fals pozitive.

Clasele de medicamente cel mai des implicate sunt anticoagulanțele, anticonvulsivantele, antihipertensivele, antibioticele, antidiabeticele orale, hormonii și substanțele psihotrope. Acestea acționează prin unul sau mai multe mecanisme, uneori simultan (de exemplu, interferarea reacțiilor chimice din cadrul testului, lezarea unui anumit organ, precum ficatul sau rinichiul, competiția pentru receptori, accelerarea sau întârzierea sintezei sau excreției unei substanțe chimice etc.).

În cazul vîrstnicilor, rezultatele obținute trebuie interpretate în lumina mai multor factori care influențează valorile „normale” pentru această categorie populațională:

- alterarea funcțiilor prin procesul de îmbătrânire (de exemplu, diminuarea funcției renale);
- prezența unor afecțiuni cronice degenerative care au o prevalență mai mare la populația vîrstnică și care pot fi asimptomatice sau oculte;
- prezența concomitantă a mai multor afecțiuni, unele

putând avea efecte aditive asupra rezultatelor analizelor;

- utilizarea unei medicații care poate influența rezultatele analizei urinei (de exemplu, între 10 și 30% dintre persoanele în vîrstă primesc diuretice);
- valorile corespunzătoare vîrstei se compară întotdeauna cu cele ale adulților de același sex, exceptând situațiile când există alte precizări;
- atunci când sexul nu este precizat, valoarea respectivă se referă la ambele sexe.

Rezultatele negative ale investigațiilor de laborator (sau ale altor tipuri de investigații) nu exclud în mod obligatoriu un diagnostic stabilit clinic.

Factori de interferență:

1. Glicozuria apare mai frecvent în probele de urină recoltate după masă.
2. Proteinuria poate să apară după activitate fizică intensă sau la trecerea în ortostatism.
3. Hemoglobinuria poate să apară în cursul eforturilor fizice și intelectuale deosebit de intense.
4. Prezența infecției urinare, precum și numărul de germeni prezenti pot varia în cursul unei zile.
5. Materiile fecale, secrețiile vaginale, precum și sâangele menstrual pot contamina probele de urină.
6. Dacă probele de urină sunt păstrate mai mult de o oră la temperatură camerei, pot apărea următoarele modificări ale compoziției urinei:
 - bacteriile din urină descompun ureea, transformând-o în amoniac, ce determină alcalinizarea urinei;
 - cilindrii se degradează în urină după câteva ore;
 - eritrocitele sunt lizate în urina hipotonă;
 - pH-ul urinar foarte scăzut sau foarte crescut poate afecta diverse componente celulare ale sedimentului urinar (leucocitele etc.).

3.2 Recoltarea probelor de urină

Există mai multe modalități de recoltare a probelor de urină, în funcție de tipul de examinare solicitat:

- urina proaspătă, «de dimineață»;
- urina recoltată pe un interval prelungit de timp (12 sau 24 de ore);
- urina recoltată pe un anumit interval redus de timp (2–3 ore);
- probele de urină obținute prin cateterizarea vezicii urinare;
- recoltarea sterilă a urinei pentru însămânțare.

Cele mai multe analize de urină se efectuează pe probe de urină proaspătă «de dimineață», care este ideală pentru efectuarea examenului sumar de urină.

Anume prima urină de dimineață, fiind mai concentrată, permite detectarea elementelor anormale și substanțelor aflate în concentrații scăzute în urina diluată din cursul zilei. Urina de dimineață este relativ lipsită de influențele datorate alimentației, precum și de cele datorate eforturilor fizice. Anumite afecțiuni sau stări patologice necesită recoltarea probelor de urină pentru analiză pe un interval de 12–24 ore (sediment Addis-Kakovski) pentru evaluarea corectă a funcționalității rinichiului.

Atunci când este necesar de a recolta urina pe un interval de 2–3 ore, pacientul este rugat să urineze (această porție se aruncă), se notează ora și apoi peste 2 sau 3 ore se recoltează întreaga cantitate de urină într-un recipient de volum mare. Pe eticheta recipientului se notează numele pacientului, ora începerii și terminării recoltării urinei, analizele care sunt solicitate din proba de urină.

La efectuarea probei celor trei pahare se recoltează urina de dimineață: pacientul după efectuarea igienei locale urinează la început în primul vas (recipient), apoi continuă în al doilea și termină în al treilea recipient. Porția a doua trebuie să fie mai mare după volum. În urologie la femei mai frecvent se folosește proba celor două pahare, deci cantitatea unei micăiuni se repartizează în două pahare; important este ca prima porție să fie mai mică după volum. La bărbați la efectuarea probei celor trei

pahare, ultima porție (a treia) se recoltează după masajul prostatei.

Toate recipientele (paharele) se pregătesc din timp, pe fiecare se indică numărul porției.

Păstrarea urinei un timp îndelungat la temperatura camerei conduce la modificări ale proprietăților fizice, liza elementelor celulare și creșterea bacteriană.

Probele colectate pentru analiza sumară a urinei nu trebuie păstrate mai mult de două ore (numai decât la rece); folosirea conservanților nu este preferabilă, dar se permite dacă de la recoltarea urinei și până la exminarea ei intervalul de timp este mai mare de 2 ore. Cea mai acceptată metodă de conservare a urinei este păstrarea ei la frigider, astfel se preîntâmpină distrugerea elementelor sedimentului urinar și creșterea microbiană, dar poate influența asupra rezultatelor determinării densității relative a urinei.

La recoltarea urinei de 24 ore se folosesc discriți conservanți (*tabelul 3.1*).

Tabelul 3.1

Conservanții folosiți la recoltarea urinei

Denumirea	Cantitatea adăugată	Observații
Timol	Câteva cristale la 100 ml urină	Este cel mai des folosit conservant, păstrează bine elementele sedimentului urinar
Toluol	Se adaugă câțiva ml în recipientul de urină, în aşa mod ca să acopere întreaga suprafață	Are efect bacteriostatic, nu împiedică la analiza compoziției chimice, dar provoacă o turbiditate ușoară a urinei
Formalină	Se adaugă 3–4 picături la 100 ml urină	Înhibă creșterea microbiană și păstrează bine elementele figurate, dar împiedică determinarea unor compozиti chimici (glucoză, indican)

Cloroform (apă cu cloroform – 5 ml la 1 l apă din robinet)	Se adaugă 2–3 ml de apă cu cloroform la 100 ml urină	De menționat efectul bacteriostatic insuficient, influențează asupra sedimentului urinar (modifică celulele) și asupra rezultatelor cercetării compoziției chimice
Acid boric	3–4 granule la 100 ml urină	Are efect bacteriostatic
Azid de sodiu	0,5–1,0 g la toată cantitatea de urină de 24 ore	„
Acid acetic glacial	5 ml la toată cantitatea de urină de 24 ore	„
Benzoat sau fluorură de sodiu	5 g la toată cantitatea de urină de 24 ore	„

Recomandări:

1. Pacienții trebuie să evite eforturile fizice intense cu câteva ore înainte de recoltarea probelor de urină, deoarece pot modifica conținutul sedimentului urinar, determinând apariția hematuriei sau chiar a cilindruriei.
2. Anumite teste pot cere restricții alimentare, caz în care se va informa corect pacientul.
3. Uneori poate fi necesară întreruperea medicației cu 42–72 ore înaintea testării la indicația medicului, întrucât unele medicamente pot modifica rezultatele analizei.
4. Nu se vor recolta probe de urină, dacă pacientul se află sub tratament diuretic masiv, întrucât în urina diluată anumite elemente ale sedimentului urinar sunt reduse numeric datorită lizei acestora.
5. Se va insista asupra practicării igienei locale înainte de colectare.
6. Se recomandă ca pacienții să urineze direct într-un recipient de unică utilizare steril și cu capac (cu sau fără conservanți), dedicat examenului solicitat.

7. La copii, probele de urină recoltate se obțin utilizând diverse tipuri de pungi de plastic, de unică folosință, prevăzute cu un dispozitiv adeziv și care permit copilului să urineze direct în recipient.

8. Se recomandă recoltarea jetului mijlociu urinar, deoarece prima parte a jetului urinar poate fi contaminată cu elemente celulare și bacteriene de la nivelul tractului urinar extern și de la nivelul organelor genitale externe.

9. În anumite situații, recoltarea primului jet urinar este importantă pentru diagnosticarea unor afecțiuni uretrale; prin comparația eșantioanelor de urină din primul jet urinar și din cel mijlociu se poate face o distincție între afecțiunile uretrale și cele ale vezicii urinare.

10) *În linii generale se preferă prima urină de dimineață datorită concentrației sale și pH-lui scăzut.*

11) Dacă nu este posibilă obținerea acestei probe, se menționează în formular ora la care a fost colectată proba.

12) În timpul colectării probei pe 24 ore se indică un apot normal de lichide (dacă nu este contraindicat de testul propriu-zis).

13) Ora la care începe recoltarea probelor de urină și ora la care se termină această operațiune vor fi notate pe eticheta recipientului de urină.

14) Se respectă protocolul laboratorului în privința conservanților, nu se vor înlocui conservanții fără aprobarea laboratorului!

15) Probele ar trebui puse la frigider imediat după colectare pentru a inhiba creșterea bacteriană până la analizarea lor.

16) După ce probele de urină au fost recoltate în recipiente de unică folosință, acestea vor fi etichetate corespunzător și trimise imediat la laborator pentru analiză.

17) Pentru evitarea contaminării bacteriene a probelor de urină, a distrugerii cilindrilor și a elementelor sedimentului urinar, eșantioanele de urină trebuie *examineate în maximum două ore de la colectare*, deoarece leucocitele, în anumite condiții, se pot repede liza.

18) Nu vor fi examinate urinile foarte alcaline, întrucât este favorizată liza leucocitelor, a cilindrilor și precipitarea fosfaților, care pot masca prezența altor elemente ale sedimentului urinar.

19) Nu se recomandă examinarea sedimentului urinar al fe-melor în perioada menstruală, motivul fiind contaminarea probei de urină cu eritrocite; o posibilă alternativă este folosirea tamponelor intravaginale, dar contaminarea poate apărea și în acest caz.

20) Dacă proba de urină se obține printr-un cateter vezical, este necesară clampinga cateterului pentru aproximativ 15 minute înainte de recoltare; este obligatorie curățarea și dezinfecțarea cateterului înainte de recoltarea probei de urină.

3.3 Contaminarea probelor de urină

Există numeroase substanțe care pot contamina probele de urină. Substanțele contaminante nu sunt importante *per se*, dar ele trebuie corect identificate pentru evitarea confuziilor ce pot apărea (Fogazzi G.B., 1999).

Principalele surse de contaminare a probelor de urină sunt reprezentate în *tabelul 3.2*.

Tabelul 3.2

Sursele de contaminare a probelor de urină

Pacient	Laborator	Mediu înconjurător ¹
Eritrocite, leucocite, celule scuamoase ²	Amidon, talc ce provine de la pudra conținută în mănușile folosite în laborator	Granule de polen
Spermatozoizi, Trichomonas vaginalis		Spori de plante
Pediculoză pubiană		
Bacterii		
Materii fecale ³	Fragmente de sticlă provenite de la spargerea lamelor sau lamelelor folosite la examinarea sedimentului urinar	Spori de fungi: – alternaria – cladosporium – helminthosporium – epicoccum
Celule intestinale ³		
E. vermicularis		
Fibre sintetice ⁴ grăsime	Bule de aer între lamă și lamelă	Fibre vegetale
Creme aplicate în re-giunea pubiană		

Notă: ¹ – recipientele de urină atunci când sunt păstrate fără capace pot contamina probele de urină în timpul manipulării probelor în laborator;

² – igienă defectuoasă a zonei genitale, infecții genitale;

³ – fistule între intestin și tractul urinar;

⁴ – fibre sintetice din materialele textile, pot fi confundate cu cilindri.

Contaminarea probelor de urină poate fi evitată prin pregătirea adecvată a pacienților pentru recoltarea urinei și prin recoltarea ei în condiții adecvate. De reținut că riscul de contaminare crește apreciabil, dacă recipientele pentru urină sunt păstrate fără capace.

Caracterele fizice și compoziția chimică a urinei normale

Cantitate	1200–1500 ml
Aspect	limpede
Culoare	galbenă-citrină
Reacție	slab acidă
Proteine	absente
Glucoză	absentă
Acetonă	absentă
Urobilinogen	urme
Urobilină	urme
Pigmenți biliari	absenți
Acizi biliari	absenți
Cloruri	10–15 g/l
Uree	15–20 g/l

Sediment: rare celule epiteliale; foarte rare leucocite

Urina normală, recoltată aseptic, nu conține germeni.

Capitolul IV

PROPRIETĂȚILE FIZICE ALE URINEI

Cantitatea. Cantitatea de urină eliminată în 24 de ore (*diureza*) în condiții fiziologice normale depinde de vârstă (*tabelul 4.1*).

Tabelul 4.1

Cantitatea de urină care se elimină în 24 de ore în condiții fiziologice

Vârstă	Cantitatea de urină (ml în 24 ore)	Vârstă	Cantitatea de urină
Noi-născu- ții	0–60 (în primele 1–3 zile se poate întâlni anuria fi- ziologică corelată cu in- gestia insuficientă de li- chide)	Noi-născuții ima- turi sau aflați la alimentația artifi- cială	Mai micșorată decât la copiii născuți în termen de aceeași vârstă
1-a zi	0–68 (19,5)	1–5 ani	600–900 (750,0)
2-a zi	0–82 (20,6)	5–10 ani	700–1200 (950)
3-a zi	0–96 (36,0)	10–14 ani	1000–1500
4-a zi	5–180 (64,8)		
5-a zi	20–217 (103,3)		
6-a zi	42–268 (124,5)	Adulți: bărbați	1000–2000
7-a zi	40–302 (146,6)	femei	1000–1600
8-a zi	59–330 (151,0)		
9-a zi	57–355 (175,4)		
10-zi	106–320 (190,0)		
11-a zi	120–217 (179,0)		
12-a zi	207–246 (227,0)		

Cantitatea de urină eliminată în 24 ore la un copil poate fi calculată după formula:

$$D = 600 + 100(A - I), \text{ unde:}$$

D – cantitatea de urină eliminată în 24 ore, ml;

A – numărul de ani ai copilului.

Diureza crește concomitent cu ingestia unei cantități mari de lichide, administrarea de alimente, care măresc eliminarea lichidelor din organism (pepene verde, pepene galben) și, dimpotrivă, scade la limitarea ingestiei de lichide.

Eliminarea de urină mai mare decât cantitățile menționate mai sus se numește *poliurie*. Eliminarea zilnică mai mică de 500–800 ml se numește *oligurie*.

Lipsa totală de urină se numește *anurie*. Ea trebuie deosebită de *retenția de urină*, în care rinichiul bolnavului respectiv secretă urina, dar aceasta nu mai poate fi eliminată din cauza unei piedici pe căile de eliminare. De asemenea, poliuria trebuie deosebită de *polakiurie*. În aceasta din urmă, bolnavul urinează mai des decât normal, dar foarte puțin, deci la un asemenea bolnav cu polakiurie cantitatea de urină este normală sau poate fi chiar oligurie din punctul de vedere al cantității de urină eliminate.

Dimpotrivă, micșorarea numărului de mișcări (urinarea rară) – *olakizuria* – se întâlnește în tulburările neuroreflectorice și drept fenomen fiziologic normal la nou-născuți în primele zile după naștere.

Mișcarea dureroasă – *dizuria* – se întâlnește în infarctul cu urați al nou-născutului, cistite, cistopielite, uretrite, vulvo-vaginite, etc.

Incontinența de urină – *enureza* – se întâlnește în inflamațiile căilor urinare, convulsii, boli ale sistemului nervos central, la copiii cu fond neurologic – *enureza nocturnă*.

Cea mai mare parte din urină, cca 75%, se elimină în timpul zilei, raportul în normă fiind între 4:1 și 3:1. Eliminarea unei cantități de urină mai mare în timpul nopții decât în timpul zilei este un semn de boală și se numește *nicturie*.

Cantitatea de urină scade vara sau în timpul muncilor foarte grele, din cauza transpirației. Ea scade și la bolnavii cu febră, cu diaree, la cardiați și în unele boli de rinichi. Poliuria se observă la diabetici și în scleroza renală la început.

Mirosul. Urina are un miros caracteristic special și el este foarte mult influențat de alimentație, mai ales de diverse medica-

mente. Un miros caracteristic, de mere, îl posedă urina care conține acetonă și care se elimină la unii bolnavi de diabet. Urina mai poate avea un miros fetid, de putreziciune, cum se întâmplă în infecțiile grave ale căilor urinare, cu formare de puroi, cu hemoragie sau cu distrugeri ale țesuturilor, care se elimină apoi prin urină și fermenteză în vezica urinară.

Aspectul. Urina normală, la emisiune, este limpede. Cu timpul ea formează un fel de nourași, care se lasă pe fundul vasului.

Unele urini depun pe fundul vasului un sediment abundant. Urina poate fi tulbure dacă conține :

- a) globule roșii sau albe din sânge;
- b) anumite săruri;
- c) microbi;
- d) mucus;
- e) celule epiteliale desprinse sau descuamate de pe căile urinare;
- f) grăsimi emulsionate.

Urina care conține globule roșii sanguine are o culoare roșietică. Cu timpul sau după centrifugare urina se limpezește și se depune un sediment format din globulele roșii. Prezența acestora se controlează la microscop.

De asemenea, urina care conține globule albe sau puroi se limpezește stând, iar pe fundul vasului se depune un strat de sediment purulent. Accelerarea depunerii se obține, ca și pentru hematii, centrifugând urina. În cazul în care într-o porțiune din această urină purulentă se adaugă câteva picături de hidrat de potasiu, atunci se obține o închegare gelatinoasă a urinei.

Sedimentul se controlează la microscop.

Pentru a ne da seama dacă tulbureala urinei se datorează sărurilor, avem la îndemână o serie de probe:

a) urina se centrifughează; sedimentul se examinează la microscop și se observă cristalele caracteristice ale sărurilor respective;

b) se pune o porțiune de urină într-o eprubetă și se încălzește partea de sus a eprubetei, ținând-o de fund. Dacă la locul încălzit urina se limpezește, în comparație cu porțiunea de jos, rece, care

rămâne tulbure, înseamnă că tulbureala a fost datorită prezenței de săruri de acid uric, deci de urați. Aceștia se dizolvă la cald și precipită din nou la rece;

c) dacă încălzim, ca în proba precedentă, și tulbureala nu dispără, dimpotrivă, ea se poate accentua, dar dacă ea dispără când adăugăm câteva picături dintr-o soluție de acid acetic de 10% și se formează bule de gaze, atunci tulbureala e cauzată de pezența de carbonați sau ea a fost datorată prezenței de fosfați, atunci când, după soluția diluată de acid acetic, limpezirea se face fără degajarea de bule de gaze;

d) dacă tulbureala nu se modifică prin încălzire, dar dispără prin adăos de acid clorhidric diluat, atunci ea este datorată oxalațiilor de calciu;

e) dacă tulbureala nu se modifică prin încălzire, dar se limpezește după adăos de hidrat de potasiu 33%, atunci ea a fost datorată prezenței acidului uric.

Urina care este tulbure din cauza prezenței microbilor nu se limpezește, dacă este încălzită și nici dacă este tratată cu reactivii citați mai sus: acid acetic și acid clorhidric diluat și hidrat de potasiu 33%. Ea nu se limpezește nici după centrifugare la centrifugile obișnuite, a căror forță nu este destul de mare ca să separe elemente de dimensiuni atât de mici cum sunt microbii.

Urina a cărei tulbureală se datorează prezenței de mucus devine și mai tulbure, dacă adăugăm acid acetic la o porțiune din urină diluată de trei ori cu apă.

Tulbureala urinelor datorită prezenței de celule epiteliale dispără cu timpul, acestea depunându-se pe fundul vasului; depunerea se poate accelera prin centrifugare, iar sedimentul se controlează la microscop, unde se observă celulele caracteristice.

Tulbureala cauzată de prezența de grăsimi în stare de emulsie, deci de picături foarte mici, nu se modifică nici prin încălzire, nici prin centrifugare și nici prin reactivii întrebuințați mai sus. Ea se modifică însă dacă amestecăm energetic într-o eprubeta o porțiune din urină cu un amestec de alcool-eter și apoi lăsăm să stea câteva minute. Amestecul se separă în două straturi, unul inferior, care

este compus din urina limpezită, altul superior, compus din eterul care a dizolvat grăsimile. Prezența de grăsimi în urină se numește chilurie sau lipurie.

Culoarea. Culoarea urinei normale variază între culoarea galbenă ca coaja de lămâie, numită și galbenă-citrină, până la culoarea galbenă-portocalie, ca coaja de portocală. Această culoare se datorează unor substanțe, cum ar fi urobilinogenul, urobilina și urocromul, conținute în urină. Intensitatea cularii depinde de cantitatea de urină. Cu cât o urină este în cantitate mai mică, mai oligurică, cu atât ea este mai colorată, pentru că rinichiul sănătos are proprietatea de a elimina aceeași cantitate de substanțe într-o cantitate mai mică de apă, dacă nu are mult din acest lichid la dispoziție. Această proprietate a rinichiului se numește funcția de concentra, deci de a elimina soluții, adică urine mai concentrate. Și, invers, cu cât o urină este în cantitate mai mare, mai poliurică, ea este mai puțin colorată, deoarece rinichiul are proprietatea contrară, de a dilua, adică de a elimina aceeași cantitate de substanțe într-o cantitate mai mare de apă, când are mult din acest lichid la dispoziție.

De aceea, urinele oligurice ale bolnavilor cu febră, de exemplu, au o culoare închisă, portocalie, pe când urinele poliurice ale bolnavilor de scleroză renală au o culoare abia gălbuie, palidă.

Unele medicamente, cum ar fi paracetamolul, phenotiazinele, fenacetina, nitrofurantoina și al., modifică culoarea urinei spre o culoare roșie-brună. După administrarea albastrului de metilen, culoarea urinei devine albastră-verzuie (*tabelul 4.2*).

Tabelul 4.2
Medicamente ce pot modifica culoarea urinei

Culoarea	Medicamentele
Albastru	Albastru de metilen, nitrofurantoină, triamterena
Albastru/verde	Albastru de metilen, amitriptilină, indometacină, salicilat de magneziu, propofol
Brună-închisă	Dexametazonă

Brună	Clorochină, levodopă, metildopă, metronidazol, nitrofurantoină, primachină, rifampicină, sulfonamide, sulfasalazină, warfarină
Mov	Fenolftaleină
Negru	Cotrimoxazol, levodopă, metildopă, săruri fieroase, sulfonamide
Oranj	Clorzoxazonă, dihidroergotamină, fenazopiridine, heparină, rifampicină
Roșie	Clorpromazină, daunorubicină, deferoxamină, dihidroergotamină, doxorubicină, fenazopiridine, fenitoină, fenolftaleină, fenotiazine, heparină, ibuprofen, metildopă, rifampicină
Roz	Aspirină, deferoxamină, fenitoină, metildopă, salicilată

Unele urine au o culoare foarte închisă, roșie-portocalie, datorită prezenței unei cantități mari de săruri precipitate ale acidului uric. În ele se depune un precipitat de culoare rozată, asemănător cu cărămida măruntită. În icter, culoarea urinei se închide, devenind roșiatică-brună-verzuie din cauza pigmentelor biliari. Ea pătează rușele în verde. Urina are o culoare roșie când conține sânge. Prezența de sânge în urină se numește hematurie.

Hematuria poate fi microscopică și macroscopică. Hematuria microscopică se numește astfel pentru că, în acest caz, sâangele se elimină în cantitate foarte mică, aşa încât culoarea urinei se modifică foarte puțin, greu de apreciat cu ochiul liber. Prezența globulelor roșii nu se poate descoperi decât după ce se examinează sedimentul, după centrifugare la microscop. De cele mai multe ori însă se pot observa și cu ochiul liber, în sediment, câteva puncte roșii, corespunzătoare grămezilor de hematii sedimentate.

Prezența de sânge se mai poate descoperi și cu ajutorul unor reacții chimice, dintre care cea mai întrebuintată este reacția Adler cu benzidină și apă oxigenată. Prințipiu reacției este următorul: hemoglobina lucrează ca o peroxidază și desface apa oxigenată în apă și oxigen molecular. Aceasta oxidează benzidina, formând un

compus de culoare albastră.

Reacția se efectuează astfel: într-o eprubetă se pun 10–15 picături de acid acetic glacial, peste care se adaugă un vârf de cuțit de benzidină. Se agită bine, până când o parte din benzidină se dizolvă. Se toarnă apoi 3–4 ml de urină și se agită din nou.

Acidul acetic lizează globulele roșii care s-ar găsi în urină și pune în libertate hemoglobina. Se picură apoi în eprubetă 5–6 picături de apă oxigenată.

Dacă urina conține sânge, apare o culoare albastră-închisă, ca cerneala.

Pentru a descoperi hematurii foarte mici, este bine a face reacția cu benzidină pe sedimentul urinar, procedând astfel. Se umple o eprubetă de centrifugă cu urină și apoi se centrifughează. După aceea se decantează și nu rămâne în fundul eprubetei decât sedimentul. Peste acesta se varsă amestecul acid acetic-benzidină și se adaugă apă oxigenată. Dacă sedimentul conține un număr mare de hematii, atunci amestecul se colorează total în albastru ca cerneala; dacă conține hematii puține, atunci apar puncte colorate în albastru, corespunzătoare aglomerărilor de hematii.

Sticlăria care se întrebuințează pentru reacția Adler trebuie să fie foarte bine spălată de cele mai mici urme de sânge; altfel, din cauza acestora, reacția, care este foarte sensibilă, se soldează cu rezultate pozitive false. De aceea, o dată cu reacția propriu-zisă, este necesar să se facă și o probă albă: în două eprubete din același lot se toarnă amestec de acid acetic-benzidină, se agită bine și apoi se adaugă câteva picături de apă oxigenată. Dacă nu apare culoarea albastră caracteristică, înseamnă că eprubetele nu conțin sânge și deci au fost bine spălate.

Hematuriile mai mari modifică culoarea și aspectul urinei. Ea se tulbură și capătă, când hematuria nu este prea abundantă, o colorație roșiatică specială, ca apa cu care s-a spălat carnea. Când hematuria este mai mare, urina devine roșie asemenea săngelui.

Sângelile din urină poate proveni din rinichi, din vezica urinară sau din uretră. Pentru a deosebi locul hematuriei se întrebuințează proba celor trei pahare, în care bolnavul urinează, cantitatea unei

micțiuni repartizând-o în trei pahare. Dacă numai urina din primul pahar este roșie și celelalte au aspect normal, înseamnă că sâangele provine din uretră posterioară sau colul bășiciei urinare. Când urinele din toate trei pahare sunt la fel de roșii, înseamnă că sâangele vine de sus, de la rinichi. În cazul în care urina din ultimul pahar este singură colorată sau mai intens colorată, ultimele picături de urină semănând cu sânge curat, atunci hematuria își are originea în vezica urinară.

Urinele pot fi colorate în roșu ca sâangele și în hemoglobinurii, atunci ele au un aspect limpede.

Hemoglobinuria este eliminarea prin urină de hemoglobina provenită din globule roșii care au fost lizate în interiorul organismului. După ingerarea anumitor substanțe toxice, ca benzenul, cloratul de potasiu, anumiți microbi, uneori după transfuzie, în timpul acceselor de malarie tratate cu chinină etc. se pot observa asemenea lizări de globule roșii în organism. Hemoglobina liberată este dusă de sânge la rinichi care o elimină prin urină. Deosebirea dintre urina hematurică și cea hemoglobinurică constă în faptul că prima este tulbure, se decolorează prin centrifugare, globulele roșii depunându-se în sediment, și la microscop se observă prezența de globule roșii; urina hemoglobinurică este limpede, nu-și schimbă culoarea prin centrifugare, iar la examenul microscopic nu se observă globule roșii.

Pentru diagnosticul de laborator al unei hematurii sau hemoglobinurii nu trebuie să ne mulțumim numai cu examenul culorii și al aspectului urinei. Este absolut necesar ca el să fie confirmat de examenul chimic prin reacția cu benzidină-apă oxigenată și prin examenul microscopic.

Densitatea. Măsurarea densității urinei ne informează asupra concentrației ei, deci asupra cantității de substanțe solide, în special săruri minerale și uree, care sunt dizolvate în urină. Cu cât o urină conține o cantitate mai mare din aceste substanțe, cu atât va avea o densitate mai mare și, invers, cu cât va conține în soluție o cantitate mai mică de substanțe, cu atât și densitatea va fi mai mică.

Densitatea se măsoară cu ajutorul unui aparat numit urometru sau urodensimetru. El este constituit dintr-un tub de 10–15 cm lungime, care în partea lui inferioară este mai gros decât în porțiunea de sus. Pe partea mai subțire a urodensimetrului se află scara de densități, cuprinsă între 1000 și 1060. Aparatele sunt așa fel construite ca cifra de 1000 să corespundă densității apei distilate la anumită temperatură. Această temperatură, de obicei 15°C, este și ea scrisă pe aparat. Cifrele de densitate nu vor fi deci cele exacte decât dacă ea se măsoară la temperatura pentru care a fost construit densimetru.

Măsurarea propriu-zisă se face astfel: se pune într-un cilindru urină, în așa cantitate încât densimetru să poată pluti în urină, fără ca să atingă fundul vasului. Introducem apoi urometrul cu partea groasă în urină și-l lăsăm să plutească. După câteva mișcări în sus și în jos, el se oprește. Citim atunci pe scară cifra corespunzătoare locului unde suprafața urinei ar tăia urometrul. Lectura se face în așa fel încât suprafața urinei să fie la același nivel cu ochii observatorului. Se citește marginea inferioară a meniscului. Avem grija ca în acest timp urodensimetru să plutească liber în urină, să nu adere de pereții vasului. Lectura este îngreuiată de spumă. De aceea o vom înălțatura, absorbind-o cu hârtie sugătoare sau de filtru. Cu un termometru se măsoară temperatura urinei. Dacă ea corespunde temperaturii pentru care a fost construit aparatul, atunci cifra citită corespunde densității urinei. Dacă nu, trebuie să corectăm această cifră în felul următor: pentru fiecare 3 grade de temperatură în plus se adaugă 0,001 la cifra citită, iar pentru 3 grade de temperatură în minus, se scade 0,001.

Densitatea normală a unei porțiuni din urina recoltată în 24 de ore variază între 1012 și 1030 g/l. Densitatea relativă a urinei unui adult sănătos poate oscila în limite mari – de la 1002 până la 1040. Urina copiilor de vîrstă timpurie este mai puțin concentrată, din acest motiv ea are densitatea relativă cuprinsă între 1002–1030. În primele zile după naștere, urina nou-născutului are o densitate și mai scăzută – între 2002 și 1020.

După cum se știe, densitatea urinei primare este egală cu

densitatea plasmei lipsite de proteine, deci 1010. În funcție de necesitățile organismului rinichii pot dilua sau concentra urina primară, producând urina finală cu densitatea mai mare sau mai joasă decât 1010 (1002–1040). În bolile parenchimului renal (nefritele cronice, nefroscleroză) capacitatea de concentrare și diluare a rinichilor scade și în cazuri grave ea poate fi compromisă totalmente. În astfel de cazuri rinichii își pierd funcția de a concentra sau dilua urina primară, eliminând încontinuu o urină cu densitatea egală cu 1010. Eliminarea un timp îndelungat a urinei cu densitatea egală cu cea a urinei primare (1010) se numește *izostenurie*. Pierdere parțială a funcției rinichilor de concentrare și diluare, când densitatea urinei oscilează în limite înguste (1007–1015), poartă denumirea de *hipostenurie*.

4.1 Probe funcționale

În clinică se întrebuițează mai multe probe funcționale în care intervine examinarea urinelor.

Proba Zimnițki. Această probă cercetează funcția rinichilor de a dilua și de a concentra în condițiile când bolnavul se află la un regim alimentar obișnuit. Dimineața bolnavul urinează și aruncă urina. Apoi din trei în trei ore, timp de 24 ore, bolnavul urinează, în vase separate, deci în total 8 porțiuni de urină. La fiecare porțiune de urină se măsoară cantitatea și densitatea.

Rinichii normali elimină în 24 ore în medie 1500 ml de urină, raportul cantității de urină în porțiunile colectate ziua la cele de noapte constituie 1: 4, 1:3. În porțiunile colectate de urină densitatea oscilează în limite largi de la 1005 până la 1025–1030. Dacă o măsurăm pe diferite miciuni, ea poate varia între 1003 și 1030. Ea scade în probele de urină emisă după ce bolnavul a băut lichide multe și, invers, crește în probele de urină emisă pe nemâncate și nebăute după 12 ore.

Cu cât rinichiul este mai sănătos, cu atât densitatea diferitor porțiuni de urină emise în cursul a 24 de ore este mai variabilă și, invers, cu cât rinichiul este mai atins, cu atât densitatea emisiuni-

lor diferite de urină este mai constantă, în jurul cifrei de 1010.

Proba de diluție și concentrație. Această probă cercetează funcția rinichilor de a dilua și de a concentra.

Proba Volhard: pentru această probă bolnavul nu va mâncă din ajun. Dimineața bolnavul urinează și aruncă urina. Pentru proba de diluție, el bea un litru și jumătate de apă sau de ceai slab, timp de $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$ oră; apoi urinează din jumătate în jumătate de oră, timp de 4 ore, în vase separate, deci în total 8 porțiuni de urină. La fiecare porțiune de urină se măsoară cantitatea și densitatea.

Rinichii normali elimină în 4 ore întreaga cantitate de lichid băută, și anume în primele 2 ore mai mult decât jumătate, în porțiunile mai abundente de urină, densitatea scade până aproape de 1000, densitatea apei distilate.

Proba de concentrație se face a doua zi, tot pe nemâncate. După, ce urinează și aruncă urina, bolnavul ingeră un prânz de substanțe solide, de preferință carne și brânză nesărată (ca să nu i se facă sete) cu puțină pâine, fără lichide.

Bolnavul urinează în vase separate la intervale de 2 ore, timp de 6–10 ore. Se măsoară cantitatea și densitatea. În condiții fizioleice normale după 6–10 ore, densitatea urinei crește până la 1030 și mai mult.

Proba de concentrație se consideră micșorată atunci când densitatea urinei crește până la 1020–1022, tulburări pronunțate se constată atunci când densitatea oscilează între 1013–1016.

În cazul când osmolaritatea urinei se apropie de 400 mosm/l (densitatea 1010), aceasta indică prezența izostenuriei.

Proba de diluție poate fi folosită pentru determinarea orientativă a nivelului filtrației glomerulare.

În condițiile eliminării urinei hipoosmotice (<80 mosm/l, densitatea 1001) după valorile diurezei maxime se poate calcula în mod orientativ valoarea filtrației glomerulare (*tabelul 4.3*).

Tabelul 4.3

Calculul orientativ al valorilor filtrației glomerulare (F) după diureza maximă în proba de diluție Volhard (David A., 1963)

Diureza hidrică, ml/min	F, ml/min	Diureza hidrică, ml/min	F, ml/min
18,7	150	3,1	25
15,6	125	2,0	16
12,5	100	1,3	10
6,3	50	0,5	5

În tabelul 4.4 sunt expuși factorii fizici și patologici care conduc la perturbarea funcțiilor rinichilor de a elimina apă și de a efectua diluarea osmotică a urinei.

Tabelul 4.4

**Factorii fizici și patologici care conduc la perturbarea funcției rinichilor de a elimina apă și de a efectua diluarea osmotică a urinei
(Наточин Ю.В., 1974)**

Tulburări endocrine	Modificări renale	Alte cauze
Hipocorticismul	Micșorarea filtrației glomerulare	Anemia
Hipopituitarismul		Intervenția chirurgicală
Hipotireoidismul	Micșorarea purificării osmolare	Hipovolemia (hemoragii, perderi de lichide pe cale renală, intestinală, etc.)
Hipersecreția de vasopresină	Creșterea reabsorbției proximale de săruri și apă	Trecerea la activitatea normală după un repaus îndelungat la pat
Secreția extrahipofizară a substanțelor asemănătoare cu ADH (tumori bronhogene, adenocarcinomul pancreasului, tuberculoza pulmonară, etc.)	Micșorarea intrării lichidului în segmentul distal al nefronului Micșorarea circulației sanguine în stratul medular al rinichilor Diureza osmotică Transplantul renal	Preparatele farmacologice și alte substanțe: barbituricele, fenformina, clorpropamida, clofibrate, carbamazepina, amiontriptilina, fluorsenazina, vincristina, acetaminofena, unele diuretice, nicotina, drogurile

Micșorarea excreției apei la efectuarea probei de diluție poate fi corelată cu:

- reacția neadecvată a osmoreceptorilor;
- tulburările proprietății neurohipofizei de a reduce secreția hormonului antidiuretic (ADH) drept răspuns la micșorarea osmolalității plasmei sanguine;
- inactivarea încetinită a ADH;
- secreția ectopică a ADH (de pildă, cancerul bronhopulmonar, tuberculoza etc.);
- micșorarea volumului și tulburările de redistribuire a lichidului extracelular (după o imobilizare îndelungată la un bolnav în repaus la pat);
- tulburările funcțiilor renale legate de micșorarea ratei filtrației glomerulare și/sau perturbările funcției canaliculelor renale;
- încetinirea absorbției lichidelor în intestin;
- tulburări endocrine – insuficiența corticosuprarenalelor, glandei tiroide, lobului anterior al hipofizei;
- administrarea unor remedii farmacologice care influențează funcția centrului de sete, circulația sanguină renală și filtrația glomerulară, reabsorbția lichidelor în tubii proximali.

În tabelul 4.5 sunt expuse stările fiziologice și patologice care conduc la micșorarea capacității rinichilor de a produce concentrația maximă a urinei la efectuarea probei de concentrație.

Tabelul 4.5

Stările fiziologice și patologice care conduc la micșorarea capacitatei rinichilor de a produce concentrația maximă a urinei la efectuarea probei de concentrație (Наточин Ю.В., 1974)

Tulburări endocrine și modificări ale mediului intern al organismului	Patologia renală	Alte cauze
Hipocorticismul	Diabetul nefrogen	Areactivitatea osmoreceptorilor
Diabetul insipid	Amiloidoza stratului medular al rinichilor	Dieta săracă în proteine
Hipertireoidismul	Micșorarea filtrației glomerulare	Alcoolismul cronic
Hiperaldosteronismul primar	Glomerulonefrita cronică	Polidipsia
Hipercalcemia	Micșorarea clearencelui osmolar	Preparatele farmacologice: furosemid, acidul etacrinic și al.
Hiperhidratația	Insuficiența renală acută și cronică	Anemia falcipară
Hipopotasemia	Nefroscleroza	Hipotermia
	Guta	Mielomul multiplu
	Polichistoza, microchistoza	
	Necroza tubulară acută în stadiul poliuric	
	Uropatia postobstructivă	
	Hidronefroza	
	Diureza osmotica	
	Transplantul renal	

Capitolul V

PROPRIETĂȚILE CHIMICE ALE URINEI

Urina normală conține o serie întreagă de substanțe minerale și organice în anumită cantitate. Dintre acestea, cele mai importante sunt clorurile, fosfații, urobilinogenul, urobilina, ureea, acidul uric și indicanul. Urina conține și enzime, dintre care cea care se dozează mai frecvent este amilaza. Scopul examenului chimic de urină este de a stabili dacă conținutul urinei în aceste substanțe este normal sau dacă el este crescut sau scăzut.

În cursul diferitor boli, în urină pot apărea și alți corpi decât cei conținuți în urina normală. Aceștia sunt albumina, glucoza, corpuri cetonici, pigmenții biliari, sărurile biliare și sângele. Un alt scop al examenelor de urină este de a vedea dacă urina conține aceste elemente anormale și în ce cantitate anume.

În sfârșit, urina mai poate conține o serie de substanțe medicamentoase sau toxice care se elimină prin rinichi. Laboratorul clinic este solicitat uneori să răspundă dacă asemenea substanțe se găsesc sau nu în urina bolnavilor.

5.1. Determinarea reacției urinei

Reacția urinei se determină de obicei cu hârtia de turnesol, într-o probă de urină proaspătă, cât mai curând după emisie.

Urina omului normal, care mănâncă un regim alimentar mixt, este ușor acidă. Alimentația cu multe proteine acidifică urina și, invers, cea cu vegetale multe o alcalinizează. Urinele se alcalinizează și de la sine, suferind un proces de fermentație, din care se degajă amoniac.

Determinarea mai exactă a reacției se poate face cu ajutorul hârtiei indicatoare și prin determinarea pH-ului cu aparete speciale, numite ionometre.

5.1.1. Determinarea reacției urinei cu ajutorul indicatorului albastru de bromtimol

Principiu. Peacția urinei se determină folosind soluția indicatorului albastru de bromtimol, care are o zonă de trecere a culorii de la galben la verde și apoi albastru în limitele pH 6,0– 7,6.

Reactivi:

Sol. albastru de bromtimol (3,3 – dibromtimol sulfoftaleină) 1g/l: se dizolvă 0,1 g indicator praf în 20 cm³ alcool etilic încălzit și după răcire până la temperatura camerei se aduce cu apă distilată la 100 cm³.

Echipament special. Nu necesită.

Tehnica de lucru. Se examinează urină în primele 2–3 ore după mișcări. La 2–3 cm³ de urină se adaugă 1–2 picături soluție indicator. În funcție de culoarea obținută se stabilește pH-ul urinei (*tabelul 5.1*).

Culoarea galbenă corespunde reacției acide, brună-cenușie – reacției slab acide, culorii verzi ca iarba – neutre, brună-verde – slab alcaline, verde-albastră-alcaline.

Tabelul 5.1

Dependența pH-lui urinei de culoarea indicatorului albastru de bromtimol

Culoarea	pH
Roșie	4.6
Roșie-intensă	5.0
Roșie-galbenă	5.4
Galbenă	5.8
Galbenă-verzui	6.2
Verde	6.6
Verde-albastră	7.0
Albastră	7.4

5.1.2. Determinarea pH-ului urinei cu ajutorul hârtiei indicatoare

Se poate de folosit orice tip de hârtie indicatoare universală pentru măsurarea valorilor pH în intervalul 5,0–8,0. Se introduce în urină proaspăt emisă, timp de 1–2 secunde o bandă de hârtie indicatoare universală. După 30 de secunde se stabilește valoarea pH-ului, comparând culoarea hârtiei cu cea a scarii de culori care însoțește pachetul de hârtie indicatoare.

Valori normale ale pH-ului urinar: 5,0–7,4.

Notă: În condiții fiziologice, pH-ul urinar variază în funcție de alimentație. Într-o alimentație strict carnătă, urina este acidă, cu un pH cuprins între 5,2–5,3, în timp ce într-o alimentație exclusiv vegetariană, urina este alcalină, cu un pH cuprins între 7,0–7,5. În cazul unei alimentații mixte, reacția urinei este slab acidă, cu pH-ul 5,8–6,0.

Ca și volumul urinei, valoarea pH-ului este supusă unui ritm nictemeral. Urina cea mai acidă se elimină spre miezul nopții și cea mai puțin acidă (uneori alcalină) dimineață. Prin păstrare un timp mai îndelungat, urina poate deveni alcalină drept urmare a descompunerii bacteriene a ureei în amoniac.

O reacție acidă a urinei se observă în insuficiența renală gravă, când rinichiul a pierdut capacitatea de a elimina amoniacul, diabet zaharat și coma diabetică, în procesele maligne datorită catabolismului crescut al proteinelor, în febră, diaree profuză; un pH puternic alcalin se constată în infecțiile urinare cu anumiți microbi, care provoacă fermentația amoniacială a ureei, în alcaloză respiratorie, alcaloză metabolică, în vărsături acide abundente, precum și în timpul absorbtiei edemelor.

5.2. Cercetarea corpilor cetonici

Compușii cetonici rezultă în cazul dereglației catabolismului acizilor grași. Aceștia sunt: acidul acetilacetic, acidul hidroxibutiric, acetona. Ei se conțin în cantități mici în urina normală, mai ales sub formă de acetonă.

În cazurile patologice, cantitatea eliminată de compuși cetonici crește în mod considerabil și atunci apare în mod special acidul acetilacetic care la decarboxilare se transformă în acetonă.

5.2.1. Depistarea corpilor cetonici prin reacția cu nitroprusiat de sodiu

Metoda 1. Proba Langhe

Principiu. Nitroprusiatul de sodiu în mediu alcalin reacționează cu corpuri cetonici (acetona și acidul acetilacetic) cu formarea unui compus complex de culoare roșie.

Reactivi:

1. Soluție nitroprusiat de sodiu, 50 g/l: 0,5 g nitroprusiat de sodiu se dizolvă în 10 cm³ de acid acetic, 10 %;
2. Soluție de amoniac de 25 %.

Echipament special. Nu este necesar.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se măsoară 5 cm³ urină filtrată în prealabil la care se adaugă 1 cm³ soluție de nitroprusiat de sodiu. Se agită ușor, apoi se înclină eprubeta și se stratifică atent 1–2 cm³ soluție de amoniac. Se lasă pe 5 minute. În cazul când reacția este pozitivă, la limita de separare apare un inel violaceu. Intensitatea culorii variază în raport cu concentrația corpilor cetonici în urină.

Metoda 2 (modificația Rother)

Principiu. Același.

Reactiv Rother (praf care se păstrează un timp îndelungat):

- nitroprusiat de sodiu, 200 g ;
- carbonat de sodiu anhidru, 200 g ;
- sulfat de amoniu, 200 g.

Aceste substanțe sunt amestecate minuțios.

Tehnica de lucru: Pe o lamă de sticlă se pune un vârf de cuțit de reactiv Rother și se adaugă urină de cercetat până se formează o pastă. În caz că reacția este pozitivă, amestecul se colorează în violet, intensitatea culorii fiind proporțională cu concentrația corpilor cetonici.

5.2.2. Metoda expres de depistare a compușilor cetonici

Principiul metodei se bazează pe reacția specifică dintre compuși cetonici și nitroprusiatul de sodiu. Avantajele acestei metode sunt: rapiditatea efectuării și obținerii rezultatelor, specificitatea înaltă, posibilitatea efectuării cercetării fără o dotare specială și eficiența înaltă. Analiza se execută strict conform instrucțiunii la test.

Valori de referință. În condiții fiziologice normale cu urină timp de 24 ore se elibera 20–50 mg compuși cetonici.

Această cantitate nu se depistează prin această probă, de aceea în normă proba este negativă.

Notă. Acidul acetilacetic în proba sterilă de urină este stabil în decurs de 8–10 zile; în infecțiile căilor urinare și în prezența microbilor sau a levurilor compușii cetonici pot să dispară complet în proba de 24 ore.

5.2.3. Probele calitative la urobilină

A. Proba Florense. Urobilina formează cu acidul clorhidric compuși de culoare roșie.

Reactivi:

– acid sulfuric concentrat, eter dietilic, acid clorhidric concentrat.

Utilaj:

– eprubete 10 cm x 1 cm;

Tehnica de lucru. Se măsoară 8–10 cm³ urină și se acidulează cu 8–10 picături de acid sulfuric concentrat, se amestecă, se adaugă 2–3 cm³ eter etilic și se amestecă atent. Se colectează stratul de eter de la suprafață și se toarnă atent într-o altă eprubetă ușor înclinată ce conține 2–3 cm³ acid clorhidric concentrat în așa mod ca să se formeze 2 straturi.

Aprecierea rezultatului. În prezența urobilinei la limita dintre cele două lichide se formează un unel de culoare roșie.

B. Proba Bogomolov. Urobilina în prezența sulfatului de cupru formează un compus de culoare roșie-violetă.

Reactivi.

1. Soluție saturată de sulfat de cupru: în 100 cm³ de apă distilată se dizovă 23 g CuSO₄ · 5 H₂O.

2. Cloroform.

Utilaj:

– eprubete 10 cm x 1 cm;

Tehnica de lucru. La 10–15 cm³ de urină se adaugă 2–3 cm³ soluție saturată de sulfat de cupru. Dacă apare o turbiditate, atunci se adaugă câteva picături de acid clorhidric concentrat până la dispariția opalescenței. După 5 minute se adaugă 2–3 cm³ de clo-roform și se amestecă.

Aprecierea rezultatelor: În prezența urobilinei stratul de clo-roform se colorează în rosu-violet.

5.3. Determinarea urobilinogenului prin reacția cu para-dimetilaminobenzaldehidă

Principiu. Urobilinogenul reacționează cu paradimetilamino-benzaldehida în mediu acid cu formarea unui compus colorat în roșu, intensitatea căruia este direct proporțională cu cantitatea de urobilinogen. Pentru reducerea urobilinei în urobilinogen se utilizează acidul ascorbic și hidroxidul de fier. Pentru mărirea specificității reacției se adaugă acetat de sodiu.

Reactivi:

1. Paradimetilaminobenzaldehidă, puritate analitică.

2. Acid clorhidric concentrat, puritate chimică.

3. Reactivul Ehrlich: 0,7 g paradimetilaminobenzaldehidă se dizolvă în 150 cm³ de acid clorhidric concentrat, se adaugă 100 cm³ apă distilată și se amestecă. Soluția trebuie să fie incoloră sau ușor gălbui. Se păstrează în sticlă brună.

4. Soluție saturată de acetat de sodiu: 375 g CH₃COONa · 3H₂O (sau 226 g CH₃COONa) se dizolvă în 250 cm³ apă distilată caldă, se răcește până la temperatura camerei. Soluția trebuie să fie incoloră și transparentă.

5. Sulfat de fier (FeSO₄ · 7H₂O), soluție 200 g/l. Stabil 24 ore

la frigider.

6. Acid ascorbic.
7. Soluție de NaOH: a) sol. 100 g/l ; b) sol. 0,5 g/l.
8. Clorură de bariu, sol. 100 g/l.
9. Fenolsulfoftaleină (roșu de fenol). Se folosește pentru prepararea soluției de etalonare.
10. Soluție etalon stoc: 20,0 mg fenolsulfoftaleină se dizolvă în 100 cm³ 0,5 g/l NaOH. Este stabil la păstrare.

Soluția etalon de lucru se prepară prin diluarea soluției etalon stoc cu sol. 0,5 g/l NaOH de 100 ori. E stabilă la temperatura camerei o săptămână. Sol. de lucru ce conține 0,2 mg fenolsulfoftaleină în 100 cm³ este echivalentă după culoare cu 0,346 mg/100 cm³ soluție de urobilinogen.

Exactitatea preparării acestei soluții se poate verifica prin măsurarea absorbanței la spectrofotometru: la 562 nm densitatea optică va fi 0,38–0,39.

Utilaj:

- spectrofotometru sau fotoelectrocolorimetru;
- cânțar analitic cu precizia de 0,0002 g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005 \text{ cm}^3$;

P r e p a r a r e a p r o b e i. Se examinează urina proaspăt eliminată în primele 2–3 ore. Dacă urină este tulbure, se centrifughează. Se determină prezența bilirubinei cu ajutorul unei probe calitative. Dacă este prezentă bilirubina în probă, atunci se amestecă 8 cm³ de urină cu 2 cm³ 100 g/l clorură de bariu și se filtrează printr-un filtru de hârtie. Rezultatul final se înmulțește la coeficientul de corecție 1,25, luând în considerare diluția.

Tehnica de lucru: 100 mg de acid ascorbic se dizolvă în 10 cm³ urină proaspătă și apoi în două eprubete se măsoară câte

$1,5 \text{ cm}^3$ (proba de cercetat și proba martor) (tabelul 5.2).

În eprubeta cu proba martor se adaugă $4,5 \text{ cm}^3$ de amestec proaspăt pregătit a unui volum de reactiv Ehrlich cu două volume de soluție saturată de acetat de sodiu.

În eprubeta cu proba de cercetat se adaugă $1,5 \text{ cm}^3$ reactiv Ehrlich și imediat se adaugă $3,0 \text{ cm}^3$ de sol. saturată acetat de sodiu. Peste 5 minute se măsoară absorbanța la spectrofotometru la 562 nm sau la fotoelectrocolorimetru la $500\text{--}590 \text{ nm}$ într-o cuvă de 1 cm .

Soluția etalon se măsoară în aceleași condiții ca și proba de examinat.

Rezultatul se exprimă în unități Ehrlich: o unitate Ehrlich corespunde unui $1,0 \text{ mg}$ de urobilinogen la 1000 cm^3 urină).

Calculul se efectuează după formula:

$$Un.Ehrlich = \frac{Amartor - Aproba}{Aetalon} \cdot 0,346 \cdot \frac{6,0}{1,5} = \frac{Amartor - Aproba}{Aetalon} \cdot 1,38,$$

unde: $Aproba$ – absorbanța probei de cercetat;

$Amartor$ – absorbanța probei martor;

$Aetalon$ – absorbanța probei etalon;

$0,346$ – concentrația urobilinogenului în soluție ($0,346 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$), intensitatea colorației căreia este echivalentă cu intensitatea colorației soluției etalon de fenolsulfoftaleină;

$6,0$ – volumul probei (cm^3);

$1,5$ – cantitatea de urină în probă (cm^3).

Tabelul 5.2
Schema de determinare a urobilinogenului în urină

Nr. d/o	Ingredienții	Cantitatea (cm^3)		
		Proba de cercetat	Proba martor	Proba etalon
1.	10 cm^3 urină+ 100 mg acid ascorbic	1.5	1.5	–
2.	Reactivul Ehrlich	1.5	–	–
3.	Soluție saturată de acetat de sodiu	3.0	–	–

4.	Amestec de reactiv 2 și 3 (1:2)	-	4.5	-
5.	Soluție etalon fenolsulfoftaleină	-	-	6.0

Absorbanța se măsoară la 500–590 nm, cuva –1 cm.

Urina normală de 24 ore conține 0,2–0,6 mg, la copii 0–0,2 mg urobilinogen.

Notă:

1. Urina nu trebuie expusă la lumină, deoarece aceasta accelerează oxidarea urobilinogenului în urobilină. Se recomandă colectarea urinei în vesela din sticlă întunecată.

Pentru a obține cantitatea de urobilinogen eliminată într-un interval de timp (de exemplu 2 ore), analiza se efectuează în proba de urină, colectată în acest interval de timp și se calculează cantitatea de urobilinogen eliminat, ținând cont de volumul urinei, după formula:

$$\frac{\text{Amartor} - \text{Aproba}}{\text{Aetalon}} \cdot 1,38 \cdot \frac{V}{100}$$

unde: $\frac{V}{V}$ – volumul urinei (cm^3), eliminată într-un interval de timp;

$\frac{100}{100}$ – coeficientul de calculare a cantității de urobilinogen în 1cm^3 de urină.

Factorii de interferență la determinarea urobilinogenului sunt: bilirubina, porfobilinogenul, aldehida formică, acidul 5-hidroxi-indolilacetic și preparatele medicamentoase: acidul aminosalicilic, fenotiazidele, sulfanilamidele, procaina (cresc rezultatele); antibioticele cu spectru larg de acțiune care acționează asupra microflorii intestinale (cefalosporinele, ciprofloxacina, neomicina, etc.), clorura de amoni, acidul ascorbic (scad rezultatele).

Semnificația clinică: în urina proaspăt emisă se conține urobilinogenul care sub influența oxidenului atmosferic se oxidează în

urobilină. Urobilinogenul și alți derivați al bilirubinei sub denumirea de urobilinoizi sau corpi urobilinici se formează din bilirubina eliminată cu bila în intestine sub influența microflorei și a enzimelor celulelor mucoasei intestinale. În diverse stări patologice urobilinoizii (corpii urobilinici) se elimină în cantități sporite cu urina. Urobilinoiduria reprezintă unul din simptomele caracteristice ale leziunilor parenchimului hepatic (hepatite, ciroze), a stărilor hemolitice și afecțiunilor intestinale (enterite, ocluzia intestinală, constipații). Absența totală a urobilinoizilor în urină este caracteristică pentru sindromul de obturație (icterul mecanic) când bila nu pătrunde în intestin.

5.5 Determinarea porfobilinogenului în urină

Principiu. Porfobilinogenul (PBG) reacționează cu paradimetilbenzaldehida cu formarea unui complex de culoare roșie. Pentru mărirea specificății reacției se adaugă acetat de sodiu. Compușii, care reacționează în mod analogic cu paradimetilbenzaldehida (urobilinogenul, derivați ai indolului și scatolului etc.), se înlătură prin extracția cu cloroform și butanol. PBG nu se dizolvă în butanol sau cloroform.

Reactivi. Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică și apa folosită trebuie să fie distilată sau apă de puritate echivalentă.

1. Paradimetilbenzaldehidă.

2. Acid clorhidric concentrat.

3. Reactiv Ehrlich: 0,7 g paradimetilbenzaldehidă se dizolvă în 150 cm^3 acid clorhidric concentrat, apoi se adaugă 100 cm^3 apă distilată și se agită. Soluția trebuie să fie incoloră sau slab-gălbuiie. Se păstrează într-un vas de culoare brună. Reactivul este stabil.

4. Soluție saturată de acetat de sodiu: $375\text{ g CH}_3\text{COONa}\cdot3\text{H}_2\text{O}$ (sau $226\text{ g CH}_3\text{COONa}$) se dizolvă în 250 cm^3 apă distilată caldă, se răcește până la temperatura camerei. Se păstrează la temperatură camerei. Soluția trebuie să fie incoloră și transparentă.

5. Cloroform.

6. Alcool butilic.

7. Hârtie indicatoare pH (cu intervalul de 4,0–5,0).

Utilaj:

- analizor biochimic cu lungimea de undă 630 ± 10 sau 690 ± 10 nm;
- cânțar analitic cu precizia de 0,0002 g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05 \text{ cm}^3$;

Tehnica de lucru. Se examinează urina eliminată în primele 2–3 ore. Într-o eprubetă se introduc $2,5 \text{ cm}^3$ reactiv Ehrlich, $2,5 \text{ cm}^3$ urină, se adaugă 5 cm^3 soluție saturată de acetat de sodiu și se agită viguros. Se măsoară pH-ul, care trebuie să fie în intervalele 4,0–5,0; dacă pH-ul este mai mic de 4,0, se mai adaugă soluție de acetat de sodiu pentru a stabili pH-ul necesar (*tabelul 5.3*).

Tabelul 5.3

Schema determinării PGB și interpretarea rezultatelor

Componenții	Cantitatea (cm^3)	Interpretarea rezultatelor	
		Prezența (+) ori lipsa (-) culorii roz sau roșii	Compușii depistați
Urină	2,5	(-)	PBG-negativ
	2,5		PBG, urobilinogen, indol, indoxil-3-acetat, scatol, melanogen, acid opisopiroldicarboxilic și al.
	5,0		
Cloroform	5,0	Strat de apă (-)	PBG negativ
		Strat de apă (+)	PBG, melanogen acid opisopiroldicarboxilic și al.
		Strat de cloroform (+)	Urobilinogen, indol, indoxil-3-acetat, scatol și al.

Alcool butilic	3,0–4,0	Strat de apă (-)	PBG negativ
		Strat de apă (+)	PBG pozitiv
		Strat de alcool butilic (+)	Melanogen, acid opso-pirol-dicarboxilic și al.

Notă. La păstrarea urinei mai mult de 3 ore la temperatura camerei reacția pozitivă poate deveni negativă, fiindcă porfibilinogenul la lumină și aer se transformă în porfirine. Dacă nu este posibil ca urina să fie examinată imediat după emisie, ea trebuie păstrată la rece sau se îngheată. În urina cu pH-ul adus la 6,0–7,0 și la păstrarea la frigider, PBG este stabil un timp îndelungat.

Norma (0,0–0,2 mg/l), însă la acest nivel PBG în urină nu se depistează. Prin metoda descrisă se depistează concentrații de PBG mai mari de 6,0 mg/l.

Interpretarea rezultatelor: În cazul în care colorația roșie este absentă, rezultatul este negativ. Dacă apare culoarea roz sau roșie, atunci se adaugă 5 cm³ de cloroform și se agită viguros. Când culoarea trece în stratul de cloroform, iar stratul de apă devine incolor sau galben, rezultatul este negativ.

Dacă după adăugarea cloroformului culoarea roșie a stratului de apă se păstrează, atunci se transferă 6–8 cm³ din stratul colorat de apă într-o altă eprubetă, se adaugă alcool butilic în proporție de 2:1 și se agită. De obicei straturile se despart foarte repede; în caz contrar amestecul se centrifughează. În cazul în care culoarea trece în stratul de butanol, rezultatul este negativ. **CÂND STRATUL DE APĂ RĂMÂNE COLORAT, REZULTATUL ESTE POZITIV PENTRU PBG.**

5.6. Identificarea proteinelor în urină cu acid sulfosalicilic

Principiul metodei constă în precipitarea proteinelor de către acidul sulfosalicilic. Apariția turbidității indică prezența proteinelor în urină.

Reagenti: Soluție de acid sulfosalicilic de 20 %;

Utilaj:

- eprubete de 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul de $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru: În 2 eprubete se toarnă câte 3–4 cm³ de urină filtrată. În proba de cercetat se adaugă 6–8 picături de acid sulfosalicilic de 20%. A doua eprubetă servește drept martor. Se agită ușor, apoi se compară eprubeta de cercetat cu eprubeta martor. În eprubeta de cercetat urina care conține proteine devine opalenscentă (proba pozitivă). Dacă urina rămâne transparentă, proteina lipsește. Rezultatul se citește pe fond negru. Cantitatea minimă de proteină depistată prin această metodă este de 0,015 g/l.

Urină unui om sănătos conține o cantitate neînsemnată de proteine care prin metoda descrisă mai sus nu se depistează.

Notă:

1. Urina pentru cercetare se filtrează sau se centrifughează.
2. pH-ul urinei trebuie să fie acid, în caz contrar se acidulează cu acid acetic 5–10 % până la reacția acidă.

Importanța clinică: Proteinuria reprezintă un simptom frecvent în patologia nefrologică. Limita normală a excreției urinare de proteine este considerată de 100 µg/min sau 150 mg/zi.

Proteinile excretate urinar provin din:

- plasma sanguină (10% sunt reprezentate de albumină, imunoglobuline intace și fragmente de imunoglobuline, între care lanțuri ușoare și fragmente de antigene leucocitare);
- secretate de rinichi și căile urinare (mucoproteina Tamm-Horsfall reprezintă majoritatea ≈ 25 mg/zi).

Caracterizarea tipurilor de proteinurie și orientarea diagnosticului etiologic în funcție de gradul de exprimare a proteinuriei sunt expuse în *tabelele 5.4 și 5.5*.

Tabelul 5.4

Caracterizarea tipurilor de proteinurie

Tipul	Mecanismul de producere	Boala de bază	Tipul predominant
Prerenală	Apariția în plasmă a proteinelor patologice cu masa moleculară mică (sub 40 kDa), care sunt filtrate glomerular și satură mecanismele de reabsorbție tubulară. Apariția lor în sânge este corelată cu majorarea sintezei (lanțurile ușoare ale Ig în gamapatiile monoclonale) sau distrucția țesuturilor și celulelor (miodistrofia, hemoliza)	Mielom multiplu Leucemia monocitară Hemo- și mioglobinurie Miodistrofia	Lanțurile ușoare, proteina Bens-Jones, fragmente Fc,hemoglobinuria, mioglobinuria
Glomerulară	Tulburarea principiului selectivității filtrului glomerular. Există 2 forme: proteinuria selectivă (se caracterizează prin apariția în urină a proteinelor cu masa moleculară medie 40–100 kDa) și neselectivă (apariția proteinelor cu masa moleculară > 100 kDa de tipul IgA, IgG)	Glomerulopatii	albumină – anomalii minore ale MBG conduc la o filtrație excesivă de albumină – alterații mai intense conduc la apariția în filtratul glomerular a unor proteine cu masa moleculară mai mare
Tubulară	Tulburarea reabsorbției proteinelor și a degradării lor în tubuli contorți proximali. Se caracterizează prin eliminarea cu urina a proteinelor cu masa mică < 40 kDa	Boli tubulo-intersitiale Tubulopatii provocate de intoxicația cu Pb, Hg, Cd, CCl ₄ , etilenglicol, preparate nefrotice – aminoglicozide	α_2 -globulina β_2 -globulina lizozima β_2 -microglobulina

Un marker sensibil al proteinuriei tubulare este creșterea marcată a excreției de β_2 -microglobulină în raport cu excreția de albumină.

Mixtă (glomerulo-tubulară)	Se caracterizează prin eliminarea cu urina a tuturor tipurilor de proteine plasmaticice, proteinuria poartă un caracter persistent, neselectiv	Insuficiența renală în stadiul manifest	Toate fracțiile proteice
Post-renală	Se caracterizează printr-o proteinurie redusă sau moderată, neselectivă	Hemoragii și infecții ale căilor urinare, tumori și polipoza vezicii urinare	Toate fracțiile proteice, hemoglobina
Secretezie	Creșterea secreției de proteine în căile urinare	Pielonefrite	IgM IgA

Notă: MBG – membrana bazală glomerulară.

Proteinuria glomerulară spre deosebire de cea tubulară conține în cea mai mare parte proteine cu masa moleculară mare.

Un marker sensibil al proteinuriei glomerulare este creșterea marcată a pseudocolinesterazei urinare

Tabelul 5.5

Orientarea diagnosticului etiologic în funcție de gradul de exprimare a proteinuriei

Gradul	Afecțiunile întâlnite
Proteinurie redusă, < 1 g/24 ore	Pielonefrite, nefropatii interstițiale (plumb, fenacetină), infecții urinare, polichistoză renală, litiază renală, nefropatii tubulare
Proteinurie moderată, 1–3 g/24 ore	Glomerulonefrite (acute, subacute, cronice), nefropatie diabetică, nefropatie lupică, amiloidoză, mielom multiplu, tumori, intoxicația cu aur, mercur, nefroangioscleroză
Proteinurie intensă, peste 3 g/24 ore	Sindrrom nefrotic (primitiv sau secundar), tromboză de venă renală

5.7. Depistarea glucozei în urină (proba Haines)

Principiu: Metoda se bazează pe proprietatea glucozei de a reduce hidroxidul de cupru de culoare albastră la încalzire în mediu alcalin, în hidroxid și oxid cupros de culoare galbenă-cărămizie. Pentru a preîntâmpina formarea precipitatului negru de oxid de cupru din hidroxidul de Cu la încălzire reactivul Haines conține glicerol a cărui grupe hidroxilice leagă hidroxidul de Cu.

Reactivi:

Soluția Haines.

1) 13,3 g de sulfat de cupru cristalin $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ „chimic pur” se dizolvă în $400 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$ distilată;

2) 50,0 g NaOH se dizolvă în 400 cm^3 de apă distilată;

3) 15,0 g glicerol pur se dizolvă în 200 cm^3 de apă distilată.

Se amestecă soluțiile 1 și 2 și imediat se adaugă reactivul 3. Soluția este stabilă.

Utilaj:

- eprubete de $10 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul de $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru. La $3\text{--}4 \text{ cm}^3$ soluție Haines se adaugă 8–12 picături de urină și se încalzește la flacăra arzătorului de gaz sau spirtierei partea de sus a amestecului până la începutul fierberii. În prezența glucozei culoarea albastră a soluției se schimbă în galbenă-cărămizie. Porțiunea de jos a eprubetei, nefiind supusă încălzirii, servește drept martor. Pentru lucru în serie, eprubetele cu amestecul de reacție se introduc în baia cu apă cloicotită și se încălzeșc 1–2 minute. În lipsa glucozei culoarea albastră a soluției Haines se păstrează.

Valorile de referință. Urina unui om sănătos conține o cantitate neînsemnată de glucoză (0,06–0,08 mmol/l), care prin proba descrisă nu poate fi detectată.

Notă:

1. Pentru cercetare se folosește urină proaspătă.

2. Pentru conservarea urinei se folosește cloroform, timol, toluol – 0,1 cm³ la 100–200 cm³ de urină.

Din punct de vedere clinic glucozuria poate fi provocată nu numai de diabetul zaharat, dar și de alte cauze (*tabelul 5.6*).

Tabelul 5.6

Caracterizarea tipurilor de glucozurie

Tipurile de glucozurie	Afectiunile întâlnite
Pancreatică	– diabetul zaharat, pancreatita acută și cronică, necroza pancreatică
Hormonală	– hipertireoza, feocromocitomul, sindromul Cușing, acromegalia, tumori ale suprarenalelor, supradoxarea corticosteroizilor și ACTH
Renală	– diabetul renal, glucozuria gravidelor, insuficiența renală acută (diabetul renal secundar)
Alimentară	– ingerarea alimentelor bogate în glucide
Medicamenteasă	– administrarea morfinei, anestezicelor, sedativelor și a preparatelor care posedă efecte hiperglicemice și nefrotoxice

5.8. Depistarea bilirubinei în urină

A. Depistarea bilirubinei prin sedimentarea cu săruri de bariu

Principiu. Bilirubina din urină este succesiv precipitată cu clorură de bariu și apoi oxidată în prezența reactivului Fouchet.

Reactivi:

1. Soluție 15 % de clorură de bariu (BaCl₂).
2. Reaktivul Fouchet (26,0 g de acid tricloracetic se dizolvă în 100 cm³ apă distilată și se adaugă 1,0 g clorură de fier).

Utilaj:

- eprubete de 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul de 100 ± 0,1 cm³;

Tehnica de lucru. La 10 cm³ de urină se adaugă 5 cm³ sol. clorură de bariu de 15%. Se agită și se filtrează. Apoi filtrul de hârtie se scoate din pâlnie și se întinde pe un alt filtru uscat. Se picură 1–2 picături de reactiv Fouchet în centrul filtrului ce conține precipitat de clorură de bariu. În prezența bilirubinei apar pete de culoare verzi-albastrui sau albastre. Reacția se socoate pozitivă.

Normă. Urina unui om sănătos conține o cantitate infimă de bilirubină care prin metodele obișnuite de laborator nu se detectează.

Notă. Urină alcalină trebuie acidulată adăugând câteva picături de acid acetic concentrat.

B.Depistarea bilirubinei cu soluția alcoolică de iod (proba Rozin)

Principiu: Se bazează pe oxidarea bilirubinei în biliverdină sub acțiunea iodului.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se toarnă 3–4 cm³ urină și apoi, foarte atent!!!, se stratifică câteva picături de I₂. În prezența bilirubinei la limita dintre două straturi apare un inel de culoare verde.

Urină normală conține o cantitate infimă de bilirubină, care nu se depistează prin metoda descrisă mai sus.

Notă.

1. La administrarea antipirinei și în prezența sângelui proba devine pozitivă.

2. În toate cazurile suspecte pentru excluderea reacției fals-poitive este necesar de a efectua proba Fouchet.

5.9. Importanța diagnostică a determinării enzimelor în urină

Una din problemele actuale ale biochimiei medicale este studiul secreției enzimelor din țesuturile umane în urină, legate de modificările patologice în organism, în special, maladiile renale.

Activitățile enzimatice detectabile în urină pot proveni din următoarele surse:

- filtrarea glomerulară a enzimelor din plasma sanguină;
- remanierea permanentă a celulelor renale, ureterale și vezi-

cale;

- creșterea tranzitorie a permeabilității membranei celulelor tubulare renale;
- secreții genitale;
- celule sanguine (hematii, leucocite);
- bacterii.

Cu excepția amilazei pancreaticice și salivare și a pepsinogenului gastric (uropepsinogenului), filtrarea glomerulară a enzimelor din plasmă în condiții fiziologice este limitată de masa lor moleculară ridicată. Drept urmare, valorile crescute ale enzimelor în urină pledează pentru leziuni ale celulelor tubulare renale și ale filtrului glomerular.

Determinarea activității enzimelor în urină este o metodă neinvazivă accesibilă de diagnostic, iar informația obținută poate fi folosită pentru depistarea precoce a leziunilor țesuturilor și organelor sistemului urinar, ameliorarea calității diagnosticului diferențial și alegerii conduitei terapeutice adecvate.

Pentru enzimodiagnosticul leziunilor țesutului renal a fost propusă abordarea complexă privind studierea activității enzimelor în urină. În acest scop se folosește dozarea unor astfel de enzime – marcheri ai afectării aparatului glomerular și tubular al rinichilor cum sunt pseudocolinesteraza (PCE), fosfataza alcalină (FA), gamma-glutamil-transpeptidaza (GTP), lactatdehidrogenaza (LDH), ALAT și ASAT, N-acetil-beta-glucozaminidaza (beta-NAG), alfa-glucozidaza neutră și al. Aceste enzime se caracterizează printr-un conținut înalt în țesutul renal (cu excepția PCE), se găsesc preponderent în epitelium tubular proximal și nefronului și cel mai important este că ele au o localizare intracelulară diferită. Astfel enzime cum sunt FA și GTP sunt legate de membrana cu „marginea în perie” și membrana citoplasmatică a epitelium tubular proximal. Dozarea acestor enzime în urină poate fi folosită pentru aprecierea gradului de afectare a structurilor superficiale ale membranelor celulare.

LDH, ALAT și ASAT sunt localizate în citoplasma celulelor epiteliale tubulare, iar ASAT se găsește atât în citoplasmă, cât și în

mitocondriile epiteliului renal.

Trecerea activă a acestor enzime în urină mărturisește despre leziunile profunde ale membranelor citoplasmatiche ale epiteliului tubular cu eliminarea componentelor citozolice în lumenul tubilor renali.

Beta-NAG este prezentă în țesutul renal sub două forme: A-forma ce se depisteză și în ser și în urină; B-forma nu se depisteză în condiții fiziologice în ser și urină. În urina normală este depistată numai A-forma beta-NAG; B-forma se depisteză în urină numai în leziunile țesutului renal.

Pentru depistarea leziunilor rinichilor de regulă se determină în urină activitatea sumară a beta-NAG care include ambele forme A și B. Acest test este informativ în diverse boli ale rinichilor și de asemenea la bolnavii cu transplant renal, iar creșterea activității se determină la etapele timpurii de reget al transplantului renal.

Cel mai mare interes pentru depistarea leziunilor renale îl prezintă enzimele cu o origine strictă renală. Una din aceste enzime este alfa-glucozidaza neutră. Enzima se conține în rinichi și în mucoasa intestinului subțire și practic lipsește în alte țesuturi și organe. În rinichi enzima este localizată în celulele epiteliale ale tubilor renali contorți proximali și ansa Henle și lipsește în glomerule și alte țesuturi renale. Alfa-glucozidaza renală neutră are masa moleculară de 440 kDa și pH-ul optim 5,75–6,50. Se consideră unul din cei mai specifici markeri al leziunilor tubulare renale.

În scopul studierii stării filtrului glomerular se cercetează activitatea în urină a PCE. După cum se știe, PCE este o enzimă de origine hepatică, are masa moleculară de 348 kDa, nu se conține în țesutul renal și elementele figurate ale sângeului, în condiții fiziologice este prezentă în cantități considerabile în plasma sanguină.

PCE se consideră *markerul specific al leziunilor filtrului glomerular*.

În condiții fiziologice prin membrana glomerulară intactă trec numai proteinele cu masa moleculară de 50–80 kDa. În cazul afecțiunii glomerulare, ultrafiltrăției sunt supuse și proteinele macro-

molecularare, inclusiv PCE. Activitatea înaltă a PCE în urină indică creșterea permeabilității filtrului glomerular, ceea ce este caracteristic pentru glomerulopatii, spre deosebire de nefroze, nefroscleroze și pielonefrite pentru care leziunile glomerulare nu sunt caracteristice.

Se cunosc 5 sindroame enzimomorfologice care se întâlnesc în afecțiunile renale:

- sindromul majorării permeabilității glomerulare;
- sindromul afectării epitelialui tubular „cu marginea în perie”;
- sindromul permeabilității majorate ale citomembranelor nefroteliului;
- sindromul de citoliză a nefroteliului;
- sindromul insuficienței enzimatice a epitelialui tubular.

5.9.1 Determinarea activității pseudocolinesterazei în urină

Principiu. Pseudocolinesteraza (PCE) hidrolizează butirilthiocolina, iar cantitatea de tiocolină eliberată se determină după reacția cu ditio-bis-nitrobenzoatul de sodiu.

Reactivi. Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică și apa folosită trebuie să fie distilată sau apă de puritate echivalentă.

1. Tampon fosfat 0,05 M cu pH-ul 7,7: 7,075 g KH_2PO_4 și 1,5 g NaOH se dizolvă în 300 ml H_2O distilată, se aduce cu sol. de NaOH 1 M pH-ul până la 7,7.

Reactiv 2. Sol. de acid 5,5-ditio-bis-nitrobenzoic (DTBNB), 0,26 mmol/l: 0,103 g DTBNB se dizolvă în 500 ml tampon fosfat, pH 7,7. Volumul se aduce până la 1000 ml cu apă distilată. Stabil 6 săptămâni la +4 – +8 °C.

Reactiv 3. Sol. S-butiriltiocolină iodată (BTC), 218 mmol/l: 0,0792 g BTC se dizolvă în 10 ml H_2O distilată. Stabil 6 săptămâni la +4 – +8 °C.

Utilaj:

- analizor biochimic, filtrul 630 ± 10 sau 690 ± 10 nm;
- cânțar analitic cu precizia de 0,0002 g;

- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05 \text{ cm}^3$;

Tehnica de lucru: Se aduc reactivii la temperatura camerei. Se pipetează:

În cuva termostatată (25°, 30°, 37°C):	Proba de cercetat (25°, 30°, 37°C)	Proba blanc	Concentrația finală a reagenților în probă
Reactiv 2	750 µel	750 µel	50 mmol/l tampon fosfat, 0,25 mmol/l DTBNB
Proba (urina dializată)	50 µel	—	—
H ₂ O distilată	—	50 µel	—
Reactiv 3	25 µel	25 µel	7 mmol/l BTC

Se amestecă și se incubează 60 s. Se citește absorbanța fiecare 60 s timp de 5 min. Se determină $\Delta A/\text{min}$. Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conținut normal și alta – patologic); ele se prelucrează la fel ca și proba de cercetat.

Calculul se efectuează după formula:

$$PCE, \text{ mkmol/s}\cdot\text{l} = \frac{V \cdot 10^6}{\Sigma \cdot l \cdot v \cdot 10^3} \times \frac{\Delta A}{\Delta t},$$

unde: V – volumul amestecului de incubare în litri ($0,78 \cdot 10^{-3}$),

v – volumul urinei în litri ($0,050 \cdot 10^{-3}$);

ΔA – modificarea absorbanței pe minut;

l – grosimea stratului de lichid în cuva de măsurare, metri ($1 \cdot 10^{-2}$);

Σ – coeficientul de absorbție molară a 2-nitro-5-mercapto-benzoatului ($\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$);

10^6 – coeficientul de recalculare din moli în µmoli;

10^3 – coeficientul de recalculare din m^3 în litri.

Valoarea coeficientului de absorbție molară a 2-nitro-5-mer-

capto-benzoatului ($\text{m}^2\text{-mol}^{-1}$) depinde de temperatură: la 25°C el este egal cu $13,3 \cdot 10^2 \text{ m}^2\text{-mol}^{-1}$; la 30°C – $14,3 \cdot 10^2 \text{ m}^2\text{-mol}^{-1}$; la 37°C – $14,66 \cdot 10^2 \text{ m}^2\text{-mol}^{-1}$

Date mai precise se obțin la recalcularea valorilor PCE $\mu\text{mol/s.l urină}$ în $\text{nmol/s.mmol creatinină urinară}$.

Activitatea înaltă a PCE în urină mărturisește despre prezența sindromului permeabilității mărite a filtrului glomerular, ceea ce este caracteristic pentru glomerulopatii, spre deosebire de nefroze, nefroscleroze și pielonefrite pentru care leziunile glomerulare nu sunt caracteristice.

În tabelul 5.7 sunt expuse rezultatele privind evaluarea activității pseudocolinesterazei (PCE) în urină în diferite boli renale la copii.

Tabelul 5.7

Activitatea pseudocolinesterazei (PCE) în urină în diferite boli renale la copii ($\text{nmol/s.mmol creatinină}$)

Grupele cercetate		Numărul de copii	Activitatea PCE în urină	Veridicitatea statistică
1	Martorul	20	$11,8 \pm 2,4$	
2	GN, forma mixtă	16	$428,7 \pm 45,6$	$P_{1-2} < 0,01$, $P_{2-5} < 0,05$ $P_{2-5} < 0,01$
3	GN, forma nefrotică	14	$49,3 \pm 9,9$	$P_{1-3} < 0,01$, $P_{3-5} < 0,05$ $P_{3-5} < 0,01$
4	GN, forma hematurică	12	$57,5 \pm 11,4$	$P_{1-4} < 0,01$
5	Pielonefrita cronică	15	$28,7 \pm 7,8$	$P_{1-5} < 0,01$

Notă: GN – glomerulonefrită

5.9.2 Determinarea activității alfa-glucozidazei neutre în urină

Principiu. Alfa-glucozidaza neutrală hidrolizează maltoza în me-

diu neutru cu eliberarea glucozei, iar cantitatea de glucoză eliberată este direct proporțională cu activitatea enzimatică.

Reactivi. Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică și apa folosită trebuie să fie distilată sau să fie apă de puritate echivalentă.

1. Tampon fosfat 0,2 M cu pH-ul 6,5: 7,16 g Na₂HPO₄·2H₂O se dizolvă în 100 ml H₂O distilată; 2,72 g KH₂PO₄ se dizolvă în 100 ml H₂O distilată. Ambele soluții se amestecă în raportul 6:4, deci 6 părți sol. Na₂HPO₄·2H₂O și 4 părți sol. KH₂PO₄; apoi se aduce pH-ul cu ajutorul ionometrului la 6,5.

2. Sol. NaCl 25 mmol/l ce conține 1 mmol EDTA: 1,46 g NaCl și 387 mg EDTA se dizolvă în 1000 ml H₂O distilată.

3. Substrat – 8,3 mmol/l maltoză în 0,2 M tampon fosfat, pH 6,5: se dizolvă 265,6 mg maltoză în 100 ml 0,2 M tampon fosfat, pH 6,5.

4. Sol.standard glucoză 10 mmol/l.

Tehnică: Se dializează 5,0 ml urină în soluția de dializare ce conține 25 mmol/l NaCl și 1 mmol/l EDTA timp de 24 ore la +4 grade Celsius. Apoi într-o eprubetă se pipetează 0,1 ml urină dializată și 0,2 ml de substrat ce conține 8,3 mmol/l maltoză în 0,2 M tampon fosfat, pH 6,5. Se amestecă și se incubează 30 min la 37°C. După aceasta se stopează reacția enzimatică prin fierbere în baia cu apă clocoțită 3 min. Se determină cantitatea de glucoză în proba de cercetat prin metoda glucozo-enzimatică.

Activitatea alfa-glucozidazei neutre (nmol/s/l urină) este direct proporțională cu cantitatea de glucoză eliberată în urma reacției enzimaticе. Date mai precise se obțin la recalcularea valorilor nmol/s/l urină în nmol/s/mmol creatinină urinară.

Activitatea înaltă a alfa-glucozidazei neutre în urină mărturisește despre leziunile epitelialului tubilor renali caracteristice pentru glomerulonefritele cronice, nefroze, nefroscleroze și pielonefrite.

S-a demonstrat existența unei interconexiuni directe dintre starea pacientului și activitatea enzimei care scade lent atingând valori normale numai la survenirea remisiei totale corelate cu restabilirea funcțiilor tubulare renale. Pentru N-acetyl-beta-glucosaminidază (beta-NAG) este caracteristică normalizarea precoce a activității en-

zimatică deja la etapa remisiei parțiale. Puseurile bolii sunt însoțite de creșterea activității ambelor enzime, atât ale alfa-glicozidazei neutre, cât și beta-NAG. O concordanță deplină între datele de laborator ale stării bolnavului și activitatea enzimatică s-a constatat numai pentru alfa-glucozidaza neutră, aceasta la ora actuală fiind considerată cel mai sensibil marker al leziunilor tubulare renale. Ea poate fi folosită în clinică pentru diagnosticul leziunilor tubulare renale, controlul eficacității terapiei aplicate, monitoringul evoluției bolii.

Capitolul VI

EXAMENUL MICROSCOPIC AL URINEI

În afară de substanțele dizolvate, urina mai conține în suspensie și o serie de elemente care formează sedimentul urinar. Sedimentul urinar este compus din elemente organizate și elemente neorganizate.

Elementele organizate sunt celule vii sau moarte care ajung în urină fie trecând din sânge, fie desprinzându-se din căile urinare: rinichi, ureter, vezica urinară și uretră. Tot elemente organizate pot fi considerate anumite formațiuni speciale numite cilindri urinari.

Celulele sanguine care se găsesc în urină sunt globulele roșii și albe. Urina omului sănătos nu conține globule roșii, dar poate conține un număr foarte mic de leucocite izolate. Prezența unui număr mare de leucocite grupate în gramezi este un semn de infecție a căilor urinare. Eliminarea unui număr foarte mare de leucocite dă urinei aspectul unui puroi diluat. Această eliminare de puroi în urină se numește piurie.

Urina omului sănătos poate conține în sediment câteva celule descuamate (desprinse) din căile urinare, mai puține la bărbat și mai multe la femeie. Prezența unui număr foarte mare din aceste celule, grupate în placarde, este un semn de iritație a căilor urinare.

Cilindrii urinari sunt niște elemente de formă cilindrică, compuse din substanțe proteice sau celulare, care reprezintă tiparul interior al tubilor în care se formează urina și care sunt mișcați cu forță mai departe pe căile urinare de urina care se formează. După aspectul și compoziția lor, cilindrii se împart în hialini, granuloși, eritrocitari, leucocitari, epiteliali etc. Urina omului sănătos nu conține cilindri.

În sfârșit, sedimentul urinar mai poate conține, tot din grupul elementelor organizate, microbi și paraziți. Dintre ultimii, cel mai important este tricomonas.

Elementele neorganizate conținute în sedimentul urinar pot fi sub formă de cristale sau fără formă cristalină – amorfă. Asemenea elemente sunt: acidul uric, oxalatul de calciu, fosfați, carbonați, urați etc.

Prepararea sedimentului urinar se face din urină proaspătă, cât mai repede după emisiunea ei, pentru că elementele lui se alterează din cauza fermentațiilor care au loc în urina ce se învechește.

O porțiune din urină se pune într-o eprubetă de centrifugă și, după echilibrare, se centrifughează la o turație mică, până la 1000–1500 de turații, timp de 5 minute. Turațiile mari pot deteriora elementele sedimentului organizat, în special, pot rupe cilindrii.

După centrifugare se decantează stratul de urină de deasupra, iar sedimentul rămas la fund se omogenizează, agitând energetic eprubeta. Pe o lamă curată se lasă să cadă, întorcând eprubetă cu gura în jos, o picătură cât mai mică de sediment și se acoperă cu o lamelă, având grija să nu se formeze bule de aer. Stratul de sediment pentru a putea fi bine studiat la microscop trebuie să nu fie prea gros.

Pentru aceasta, dacă după centrifugare obținem o cantitate prea mare de sediment, nu decantăm toată urina, ci lăsăm, după ochi, o oarecare cantitate care prin agitare să dilueze convenabil sedimentul.

Prepararea sedimentului se mai poate face luându-l după centrifugare cu o pipetă Pasteur din care lăsăm să cadă pe o lamă o mică picătură, pe care apoi, cu precauțiile expuse mai sus, o acoperim cu o lamelă.

Sedimentul se examinează la microscop direct sau după ce se colorează cu o picătură de soluție Lugol care se adaugă cu o pipetă Pasteur la marginea lamelei. Prin capilaritate, soluția pătrunde între lamă și lamelă și se amestecă cu sedimentul.

Elementele sedimentului se recunosc la microscop (obiectiv

8x, ocular 10x, sau obiectiv 40x, ocular 10x) după forma și culoarea lor caracteristică. Se numără în câteva câmpuri de vedere elementele figurate și se indică numărul lor în câmpul de vedere. Numărul de celule epiteliale, de cristale se apreciază cu cuvintele: multe, pronunțat, însemnat, neînsemnat, puține.

Depistarea leucocitelor se poate efectua cu ajutorul testelor expres.

6.1 Elementele sedimentului organizat al urinei

Eritrocitele. În sedimentul urinar se depistează eritrocite modificăte și nemodificate.

Eritrocite nemodificate – în formă de discuri de culoare galbenă-verde, se depistează în urina neutră, slab alcalină și alcalină (pH-6,5–8,0).

În urina acidă (pH-ul 4,5–5,0) cu densitatea relativă de 1002–1009 eritrocitele își pierd hemoglobina transformându-se în umbre eritrocitare și iau forma de inele biconturate. La densitatea relativă 1030–1040 eritrocitele iau forma de steluțe.

În urina cu densitatea relativ joasă și reacția alcalină pronunțată (pH 8,5–10,0) eritrocitele au forma de discuri de culoare galbenă deschisă, fiind de 1,5 ori mai mari decât eritrocitele normale.

Eritrocitele trebuie diferențiate de cristalele de oxalat de calciu care au formă ovală și celulele levurice. Celulele levurice de asemenea au formă ovală, sunt de culoare albăstruie și refractă lumină. Reacțiile microchimice se efectuează pe lamă: se amestecă o picătură de sediment și o picătură de acid acetic sau acid clorhidric. Adăugul la sediment de acid acetic de 30% hemolizează eritrocitele și nu schimbă oxalații și celulele levurice. Colorantul azur-eozină colorează eritrocitele în roz-liliachiu, iar celulele levurice – în negru. Oxalații se dizolvă la adăugarea la sediment a picăturii concentrate de acid clorhidric.

Leucocitele – sunt celule polimorfonucleare (neutrofile, eozinofile, bazofile), fiind de 1,5–2,0 ori mai mari comparativ cu eritrocitele nemodificate. Ele se prezintă în urină sub formă de celule

incolore rotunde cu granulații fine și cu nucleul de formă și mărime diferită.

În urina cu densitatea relativă joasă și reacția alcalină sau alcalină pronunțată (ph 8,0–9,5) neutrofilele se măresc în dimensiuni, se umflă, în citoplasmă se poate depista mișcarea brouniană a granulației neutrofilelor.

Ele pot fi confundate cu celulele renale; diferențierea se face cu soluția Lugol care colorează leucocitele în brun, iar celulele renale în galben-deschis.

Eozinofilele se diferențiază după granulația sferică orană în citoplasmă, care refractă lumina.

Limfocitele se diferențiază în froturi colorate după Romanovski.

Orientativ în sedimentul urinar – la bărbați în normă se depistează 0–2 leucocite în câmpul de vedere; la femei – până la 2–3 în câmpul de vedere.

Celulele epiteliale. Celulele epiteliului plat de formă rotundă sau poligonală de 3–5 ori mai mari în raport cu leucocitele, incolore, cu nuclee mici picnotice sunt repartizate pe frotiu în grupuri sau separat.

Celulele epiteliale nimeresc în urină drept urmare a spălării lor în timpul mișcărilor din partea de jos a uretrei și organele sexuale externe. La femei celulele epiteliale sunt frecvent acoperite cu bacterii.

Celulele epiteliului tranzitoriu sunt polimorfe după mărimi (de 3–6 ori mai mari decât leucocitele) după formă (rotunde, cilindrice), colorate cu pigmentii urinari în galben pronunțat sau mai puțin pronunțat (*figura 6.1*).

În citoplasma epiteliului tranzitoriu se depistă modificări distrofice în formă de granulație grosolană, vacualizare și picături de grăsimi. Epiteliul tranzitoriu pătrunde din bazinete și calice, uretră, vezică urinară, ductele prostatei și partea anterioară prostatei a uretrei la bărbați. Morfologia celulelor depinde de durata găsirii lor în urină, pH mediului, densitatea relativă. Celulele epiteliului tranzitoriu unice se întâlnesc în preparat în urina persoanelor

mature.

Celulele epiteliului renal (epiteliu tubular) sunt de formă iregulată, rotundă, unghiulară sau patrulateră, de 1,5–2,0 ori mai mari decât leucocitul, colorate de pigmenții urinari în galben-deschis, galben sau galben-cafeniu (*figura 6.2*). În citoplasma celulelor sunt prezente modificări distrofice sub formă de granulații, infiltrări lipidice, vacuole; deseori nucleele nu pot fi evidențiate. În preparatele native celulele epiteliului renal sunt repartizate în grupuri, în lanț și se suprapun pe cilindrii hialinici. Uneori formează cilindri. În stările de distrofie adipoasă celulele sunt de mărimi mai mari (de 4–6 ori mai mari comparativ cu leucocitele), de formă rotundă și refractă lumina. În perioada de oligoanurie a insuficienței renale acute celulele epiteliului renal sunt mari, fiind repartizate pe cilindri sau în grupuri sub formă de structuri glandulare ce caracterizează nefronecroza pronunțată.

Cilindrii urinari (sau cilindrii adevărați) sunt formațiuni cilindrice, bine conturate, cu capete rotunde sau rupte, cu diferite lungimi, grosimi, structuri și moduri de formare (*figura 6.3, 6.4*).

Ei se formează la nivelul tubului contort distal și colector, în special, din mucoproteine (mucoproteine Tamm-Horsfall) care sunt secrete de către celulele epiteliale ce căptușesc ansa Henle, tubii distali și colectoari.

Mucoproteina Tamm-Horsfall este o glicoproteină cu masa moleculară imensă în jur de 7 milioane de Daltoni; 25%–40% din greutatea ei revine componentelor glucidice. Cantitatea normală excretată pe zi este de 25–50 mg.

Mucoproteina Tamm-Horsfall este substanța fundamentală a cilindrilor. Factorii responsabili de precipitarea acestei mucoproteine în tubii renali nu sunt complet elucidați, dar se pot asocia cu pH-ul acid și concentrația urinei din aceste zone. Un rol important la formarea cilindrilor îl au: albumina, staza urinară, descuamarea celulară, rata scăzută a filtrării glomerulare, prezența unor proteine (Bence-Jones, mioglobina, hemoglobina), osmolalitatea între 200 și 400 miliosmoli/kg (Fogazzi G.B., et al., 1999).

Cilindrii se pot forma în prezență sau absența celulelor în lumenul tubular. Dacă celulele sunt prezente (celule epiteliale,

leucocite), ele pot adera de asemenea la cilindru. Morfologia finală a cilindrilor depinde de diametrul tubilor renali în care s-au format. Când tubii renali sunt dilatați (în atrofia renală sau în obstrucțiile renale), în urină apar cilindri de dimensiuni mari care sunt sugestivi pentru insuficiența renală (Fogazzi G.B. et al, 1999).

Cilindrile sunt instabili în urină, în special, în urina diluată și/sau alcalină. Se consideră că cilindrile celulare, granuloși și ceroși reprezintă stadii diferite de degenerare celulară în compozitia cilindrului. Apariția cilindrilor observați în sedimentul urinar depinde în mare parte de timpul cât aceștia rămân în tubi anterior eliminării lor în urină.

Un cilindru celular se elimină rapid după ce a fost format, în timp ce un cilindru ceros este reținut mult timp în sistemul tubular înaintea eliminării sale.

Cilindrile se apreciază raportând numărul lor per câmp (cu obiectivul 10X sau 20X) și se clasifică după tip (de exemplu, cilindrile ceroși: 5–10/câmp); în urina indivizilor normali sunt absenți sau rari.

Caracterizarea tipurilor de cilindri:

Cilindri hialinici sunt omogeni, semitransparenți, cu contururile gingăse, marginea rotundă. Pe suprafața lor se depun cristale (urați), bacterii, leucocite, eritrocite, epiteliu plat. Cilindrile hialine sunt formați în absența celulelor; conțin numai proteină Tamm-Horsfall care le conferă un indice de refracție foarte redus; în consecință ei pot fi observați mai bine în contrast de fază sau prin reducerea luminii. Cilindrile hialine nu indică întotdeauna o boală renală clinic semnificativă, fiind depistați uneori în număr mic (0–1 /câmp) în urina concentrată a diferitor pacienți fără afectare renală.

Numărul mare de cilindri hialini pot fi observați în asociere cu proteinuria de origine renală (boală glomerulară) sau extrarenală (proteinuria din mielom). Se presupune că excesul de proteine serice în lumenul tubular favorizează precipitarea mucoproteinei Tamm-Horsfall (Fogazzi G.B., et al., 1999).

Cilindri granuloși au structură granulară măruntă sau grosolană de culoare galbenă sau pot să fie incolori, se formează la distrugerea celulelor epiteliale renale, neutrofilelor sau la degene-

rarea lor granulară drept consecință a descompunerii proteinelor în urină. Se consideră că acești cilindri sunt alcătuși din detritusuri celulare de diferite tipuri, inclusiv din leucocitele degenerate.

Cilindri ceroși se numesc astfel, deoarece au aspectul caracteristic asemănător cu ceară topită. Au o consistență fină, marginea bine conturată, capetele abrupte; sunt de culoare galbenă cu structură omogenă dură, granulară, sunt voluminoși. Ei se formează din cilindri hialinici și granuloși în canaliculele renale (dacă stau acolo un timp îndelungat) și, spre deosebire de aceștia, *au întotdeauna o semnificație patologică*.

Cilindri pigmentați – de structură granulară galbenă-cafenie sau verde-galbenă. Se formează la coagularea hemoglobinei și mioglobinei.

Se situează pe un fond de masă granulată. Cu reactivul Adler se vopsesc în culoare albastră.

Cilindrii epiteliali sunt alcătuși din celulele epiteiului renal, se colorează intensiv de către pigmenții urinari și se depistează pe fondul celulelor epiteliale. Se depistează în sedimentul urinar la pacienții cu sindrom nefrotic, amiloidoză, glomerulonefrită, intoxicație cu metale grele, necroză tubulară acută.

Cilindrii grăsoși se formează din picături de grăsimi (lipoizi) în canaliculele renale. Se situează pe un fond de epiteliu renal concrescut cu grăsimi, cristale de colesterol și ace ale acizilor grași. Refractă lumina și la mărimi mici ale microscopului par negri asemenea epiteiului renal concrescut cu grăsimi. Apar în afecțiunile cronice renale și indică existența unor leziuni degenerative și inflamatorii tubulare.

Cilindrii leucocitari – formațiuni de culoare surie, sunt alcătuși din leucocite și se situează pe fondul lor. Sunt definiți drept cilindri cu o matrice de hialină purtătoare de incluzii cu leucocite (cel mai des neutrofile), se formează în lumenul canaliculelor renale în prezența piuriei. Prezența lor indică existența unei infecții la nivelul parenchimului renal. Cilindrii leucocitari sunt considerați patognomoni pentru pielonefrite.

Cilindrii eritrocitari – de culoare roz-galbenă, se formează în

canalicule în cazul hematuriilor renale, sunt alcătuiri din masă eritrocitară și sunt situați pe fondul ei. Ei trebuie distinși de cilindrii cu hematii: cilindrii eritrocitari adevărați au o matrice asemănătoare cilindrilor ceroși cu capete abrupte și crăpături tipice, pe când un cilindru cu hematii are o matrice cu hialină. De menționat că ambele tipuri de cilindri au aceeași semnificație clinică – *indică prezența unor leziuni inflamatorii acute sau vasculare ale glomerulu lui renal* (glomerulonefrită acută, collagenoze, infarct renal, etc.).

Cilindroizi – sunt elemente alungite care au un capăt rotunjit, asemănător cu extremitatea unui cilindru, iar celălalt capăt este alungit și seamănă cu un filament de mucus. Cauza apariției acestei alungiri este explicată prin faptul că cilindroizii se formează la nivelul joncțiunii ansei Henle cu tubul distal contort. Prin aceasta ei se deosebesc de cilindrii adevărați care se formează la nivelul tubului contort distal și colector. Se consideră că cilidroizii sunt o variantă morfologică a cilindrilor cu aceeași implicație clinică ca aceștia (Fogazzi G.B., et al., 1999).

Pseudocilindri – formațiuni asemănătoare cu cilindrii urinari, dar care spre deosebire de aceștia sunt lipsiți de matricea caracteristică. Există mai multe tipuri de pseudocilindri: pseudocilindri anorganici (de acid uric, din săruri de urați, fosfați) și pseudocilindri organici (bacterieni, hemoglobinici). Pseudocilindrii sunt diferenți de cilindrii urinari prin faptul că au marginile drepte, iar forma lor este adesea neregulată și nu este similară cu forma tubilor renali. Cei formați din săruri pot fi confundați cu cilindrii granuloși. Pseudocilindrii nu au însemnatate diagnostică.

În figurile 6.1 – 6.4 sunt expuse diferite tipuri de celule epiteliale și cilindri care pot fi depistați în sedimentul urinar.

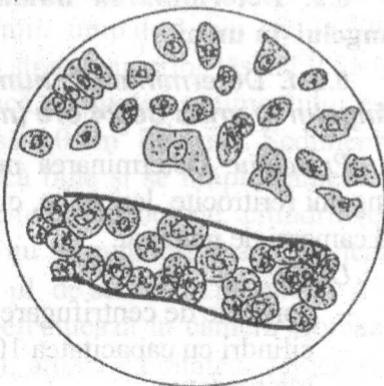
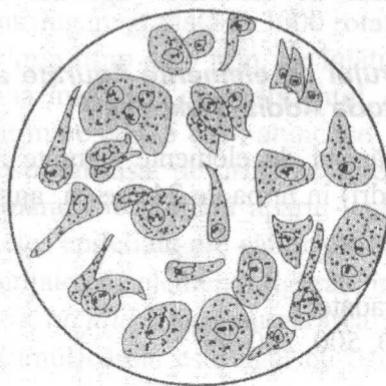


Fig. 6.1. Epiteliu tranzitoriu.

Fig. 6.2. Epiteliu renal în stare de distrofie microgranulară proteică.

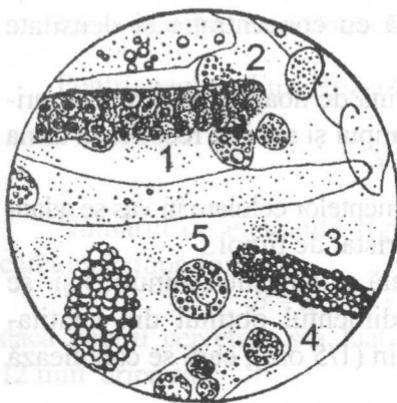


Fig. 6.3. Cilindri ceroși (1), epiteliali (2), grăsosi (3), hialini cu epiteliu renal (4), și epiteliu renal în stare de distrofie adipoasă (5).

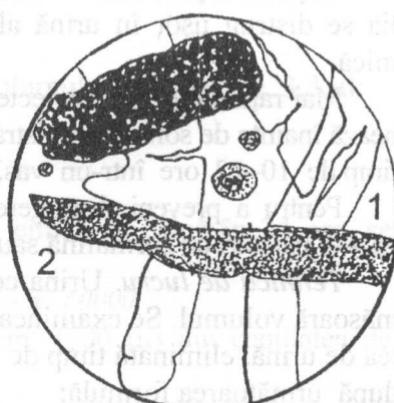


Fig. 6.4. Cilindri: hialini (1), granuloși (2).

6.2. Determinarea numărului de elemente figurate ale săngelui în urină

6.2.1. Determinarea numărului de elemente figurate ale săngelui în urina de 24 ore (metoda Addis- Kakovski)

Principiu. Determinarea numărului de elemente figurate ale săngelui (eritrocite, leucocite, cilindri) în urina de 24 ore cu ajutorul camerei de numărat.

Utilaj:

- eprubete de centrifugare gradate;
- cilindri cu capacitatea 1000, 500, 250 cm³;
- microscop;
- cameră de numărat.

Recoltarea urinei. Urina se colectează 10–12 ore. În ziua recoltării urinei se limitează consumul de lichid pentru a menține valorile constante ale densității specifice și pH-lui urinei, ceea ce este important pentru citirea numărului de cilindri hialinici. Aceștia se distrug ușor în urină alcalină cu concentrație și densitate mică.

Mai rațional e să se colecteze urină de noapte: pacientul se urinăză înainte de somn, înregistrând timpul și apoi se recoltează urina timp de 10–12 ore într-un vas.

Pentru a preveni distrugerea elementelor celulare în vas se adaugă 4–5 picături de formalină sau un cristal de timol.

Tehnica de lucru. Urina colectată se amestecă minuțios și se măsoară volumul. Se examinează sedimentul obținut din cantitatea de urină, eliminată timp de 12 min (1/5 oră), care se calculează după următoarea formulă:

$$Q = \frac{V}{t \cdot 5},$$

unde: Q – volumul urinei elimitat timp de 12 min (cm³);

V – volumul urinei, colectat timp de 10–12 ore (cm³);

t – timpul în care s-a efectuat colectarea urinei (ore);

5 – coeficientul de recalculare la $\frac{1}{5}$ oră.

Cantitatea de urină calculată se centrifughează într-o eprubetă de centrifugare gradată la 3000 rotații/min timp de 3 min sau la 2000 tur/min timp de 5 min. Se înlătură stratul superior lăsând 0,5 cm³ urină împreună cu sedimentul. Dacă cantitatea sedimentului este mai mare de 0,5 cm³, atunci se lasă 1,0 cm³ de urină. Sedimentul cu stratul lăsat de urină se amestecă bine și se umple camera de numărat. Se numără aparte leucocitele, eritrocitele, cilindrii (celulele epiteliale ale căilor urinare nu se numără) și se calculează cantitatea de elemente figurate în 1 µl de sediment urinar.

Calculul. Dacă numărarea se efectuează în camera Goriaev, volumul căreia este egal cu 0,9 µl, atunci cantitatea elementelor într-un µl se calculează după formula următoare:

$$X = \frac{A}{0,9},$$

unde: X – numărul de elemente celulare în 1 µl;

A – numărul elementelor celulare, calculate în toată camera Goriaev;

0,9 – volumul camerei Goriaev în µl.

Pentru camera Fux-Rozental, volumul căreia este de 3,2 µl:

$$X = \frac{A}{3,2},$$

Numărul de elemente figurate, emise cu urină în 24 ore, se calculează după formula:

$$B = x \cdot 500 \cdot 5 \cdot 24 = x \cdot 60000,$$

dacă pentru cercetare s-a luat 0,5 cm³ (500 µl) din cantitatea de 12 min urină sau:

$$B = x \cdot 1000 \cdot 5 \cdot 24 = x \cdot 120000,$$

dacă cantitatea sedimentului a fost abundantă și a fost lăsat 1 cm³ (1000 µl),

unde: B – numărul de elemente celulare, emise în 24 ore;

x – numărul de elemente celulare 1 µl urină, luate pentru examinarea sedimentului urinar;

500 sau 1000 – cantitatea de urină (µl) luată împreună cu sedimentul pentru examinarea porției de urină de 12 min.

Îmulțind la 5 și 24, aflăm numărul de elemente celulare emise în 24 de ore.

Valorile normale ale elementelor celulare emise în 24 de ore cu urină: până la 2000 000 leucocite, 1000 000 eritrocite, 20 000 cilindri.

Notă: Pentru a calcula cantitatea de cilindri e necesar de examinat patru camere Goriaev sau o cameră Fux-Rozental.

6.2.2. Determinarea cantitativă a elementelor celulare în urină (metoda Neciporenko)

Se colectează proba din mijlocul jetului urinar. Pentru ca specimbul să nu fie contaminat cu microorganisme, mucus, celule uretrale etc., se instruiește pacientul să efectueze mai întâi igienă locală, apoi să colecteze porția de mijloc a urinei; în acest scop, la început, pacientul se urinează în vasul de toaletă, iar la scurt timp colectează 15–20 ml urină în recipientul steril pus la dispoziție (porția de mijloc). Ultima porție de urină ca și prima se aruncă.

Principiu. Determinarea numărului de elemente celulare (eritrocite, leucocite, cilindri) la $1,0 \text{ cm}^3$ de urină din porția de mijloc cu ajutorul camerei de numărat.

Utilaj:

- eprubete de centrifugare gradate;
- centrifugă clinică cu rotor orizontal;
- cameră de numărat Goriaev.

Tehnica de lucru. Se ia porția de mijloc a urinei în timpul urinării (se recomandă dimineața), se determină pH-ul urinei (în mediu alcalin poate avea loc distrugerea elementelor celulare). Se centrifughează $5,0\text{--}10,0 \text{ cm}^3$ de urină la 3000 tur/min timp de 3 min, se înlătură supernatantul și se lasă $0,5 \text{ cm}^3$ ($500 \mu\text{l}$) urină; dacă sedimentul este abundant, atunci se lasă $1,0 \text{ cm}^3$ ($1000 \mu\text{l}$). Se amestecă bine sedimentul și se umple camera de numărat. În toată plasa camerei se numără aparte eritrocitele, leucocitele și cilindrii.

Calcularea rezultatelor. Se calculează numărul de celule în $1 \mu\text{l}$ de sediment al urinei după formula (1) sau (2). Numărul de elemente

celulare într-un cm^3 se calculează după formula:

$$N = \frac{x \cdot 500}{V}, \text{ la } 0,5 \text{ cm}^3 (500 \mu\text{l}) \text{ sediment urinar} \quad (1)$$

sau

$$N = \frac{x \cdot 1000}{V}, \text{ la } 1,0 \text{ cm}^3 (1000 \mu\text{l}) \text{ sediment urinar} \quad (2),$$

unde: N – numărul elementelor celulare la $1,0 \text{ cm}^3$ urină;

x – numărul elementelor celulare într-un $1,0 \mu\text{l}$ de sediment urinar;

500 (sau 1000) – cantitatea de urină (μl) lăsată cu sedimentul urinar pentru cercetare;

V – volumul de urină luat pentru centrifugare.

Valori normale: Într-un $1,0 \text{ cm}^3$ de urină se elimină până la 2000 leucocite și până la 1000 eritrocite; cilindrele lipsesc sau se depistează nu mai mult de unul la o cameră Fux–Rozental sau la 4–5 camere Goreaev (până la 20 în 1 cm^3 de urină).

6.3. Diferențierea leucocitelor în frotiurile vopsite („formula leucocitară urinară”)

Se efectuează în urina proaspătă. Urina se centrifughează timp de 10 min la 1500–2000 rot/min. Se varsă urina deasupra sedimentului. Pentru a se fixa mai bine pe lamă sedimentul se suplimentează cu 1–2 picături de ser sanguin incolor. Picătura de sediment se plasează la marginea lamei și cu ajutorul lamei șlifate se întind frotiuri subțiri, se usucă la aer, se fixează și se vopsesc la fel ca și frotiurile de sânge. Se numără (ocular 10x, obiectiv 90x) 200 celule, rezultatul se raportează în procente.

Semnificația clinică. Prezența eozinofilelor urinare este un indicator pentru nefritele interstitionale acute alergice. Eozinofiluria (10–30% din leucocitele urinare) se întâlnește și în alte stări patologice (glomerulonefritele rapid progresive, nefropatii cu IgA, purpura Schönlein-Henoch, schistosomiază, pielonefrite cronice și al.).

Limfocituria și monocituria pot fi identificate cu certitudine

doar în froturile colorate. La pacienții cu transplant renal limfocituria este un marker al rejetului acut. Monocituria a fost depistată în nefritele interstițiale acute alergice și în glomerulonefritele rapid progresive.

6.4 Elementele sedimentului neorganizat

Este necesar de menționat că în urina persoanelor sănătoase sărurile se găsesc atât în stare dizolvată, cât și sub formă de cristale. Cel mai des se întâlnesc fosfați, urați și oxalați. Din punct de vedere clinic, importanța sedimentului neorganizat este mai mică decât cea a sedimentului organizat.

Multe cristale nu au însemnatate diagnostică. Însă depistarea frecventă, în cantități majorate a cristalelor în urină, poate fi cauzată de deregările metabolismului și prezența nefropatiei dismetabolice.

Pentru depistarea acesteia se determină cantitatea cristalelor de săruri și proprietatea anticristalică a urinei (de inhibiție a cristalizării). Doze majorate de medicamente pot provoca apariția în urină a diferitor cristale.

Sedimentul neorganizat (cristalic) – sunt cristale de formă regulată sau masă amorfă. Apariția sedimentului neorganizat depinde de componența coloidală a urinei, alimentație, pH-ul și alte proprietăți. Unele cristale sunt prezente exclusiv în urina acidă, în timp ce altele se găsesc numai în urina alcalină (*figurile 6.5 – 6.11*).

Astfel, în urinele acide, sunt prezenti urați, iar în cele alcalene – fosfatul amorf. Este necesară însă precauție pentru că există situații în care fosfații amorfi și fosfatul triplu sunt observați și în urinele ușor acide.

Pentru diferențierea cu certitudine a componentelor cristaline sau amorse ale sedimentului neorganizat se aplică așa-numitele probe chimice orientative. Acestea se practică direct pe lama microscopului, în acest scop se amestecă sedimentul urinar și reactivul respectiv în proporție de 1:1 (*tabelul 6.1*).

Tabelul 6.1

Reactivii folosiți pentru diferențierea sedimentului neorganizat al urinei

Sol. 10% de hidroxid de sodiu (NaOH)	Eter etilic
Soluție 30% de acid acetic	Cloroform
Acid clorhidric concentrat	Sol. 10% de amoniac
Sol. 5% de acid clorhidric	Sol. 5% de ferocianură de potasiu
Acid sulfuric concentrat	Paradimetilaminobenzaldehidă
Acid azotic concentrat	Sol. 2% clorură de fier
Alcool etilic de 96%	Sol. acid oxalic de 2,24 %

În cazul reacției alcătuite a urinei la o picătură de sediment se adaugă o picătură de acid organic (acid acetic). Dacă cristalele nu s-au dizolvat, se ia o picătură nouă de acid mineral (acid clorhidric sau sulfuric). Atunci când reacția urinei este acidă, este necesar de început examinarea cu adăugarea unei picături de bază la picătura de sediment.

Caracterizarea sedimentului neorganizat (cristalic) este expusă în *tabelul 6.2*.

Tabelul 6.2

Caracterizarea sedimentului neorganizat (cristalic)

Cristale	Forma, colorația	Depistarea în urină		Dizolvarea	Însemnatatea clinică
		Acidă	Alca- lină		
1	2	3	4	5	6
Acid uric	Plăci rombice, prisme, rozete, gantele, fasci- cule de ace de culoare galbe- nă, pot fi și in- colore și cafe- nii	+		La încălzirea cu baze	Se întâlnesc în urina puternic concentrată, ali- mentația bogată cu car- ne, la transpirație neînse- mnătă, descompunerea celulară (leucemii, abce- se, radiație, insuficiență renală severă, boala uro- litiazică, gută)

Urații: de sodiu, calciu, potasiu, magneziu	Săruri amorfă, de culoare roșie-cărămizie, roz sau albă	+	-	La încălzire cu baze	Se depistează în urina rece, la pacienții cu febră, în leucemii, diaree, vomă
Uratul acid de amoniu, uratul de amoniu	Bulgărași de diferite dimensiuni, des cu ace, de culoare cafenie închișă, gantele de culoare galbenă-cafenie	+	+ copii matuți	La încălzire cu baze cu eliminarea NH ₃ , în acizi minerali, CH ₃ COOH cu formarea cristalelor de acid uric	În cistite, diateză urică, boala urolitiazică
Fosfații amorfă, (fosfații de Ca, Mg, K)	Bulgărași incolori, grăunțe mărunte incolore sau a unor sfere mici	-	+	În CH ₃ COOH, acizi minerali	La alimentație vegetală, apă minerală, alcalină, putrefacțiile amiacal-bacteriene
Triphosfatii, fosfatul amonia-co-magnezian	Capace „în formă de sicriu” „fulgi”, aripi de fluture incolore sau surie	-	+	— « —	— « —
Fosfatul neutru de calciu	Plăci mari, rombice și alungite, conuri, se suprapun în rozețe incolore sau sure fragmentate	-	+	— « —	Putrefacție bacterială amiacală
Oxalatul de calciu (oxalați)	Octaedri pătrăti, puternic refrigerenți sau ovoizi incolori sau în urina icterică-galbeni	++	+ +	În acizi minerali	Folosirea măcrișului, salatei, spanacului, tomaterelor, măzării verzi, strugurilor de poamă, portocalelor, merelor, calculilor renali din oxalați, diatezei oxalurice

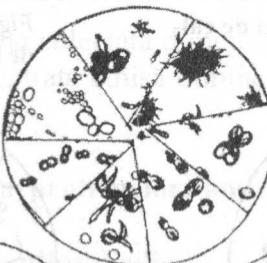
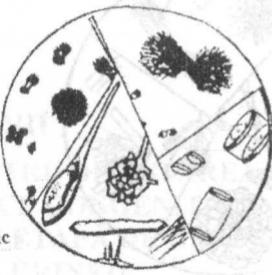
Calcium sulfuros	Ace subțiri incolore, fascicule, rozete	*	-	HCl puternic diluat	Nu are
Carbonatul de calciu	Granule sau sfere mici legate între ele grămajoare compuse din 4-6 sfere	--	*	CH ₃ COOH, acizi minerali cu eliminarea CO ₂	Absent
Cisteină	Placi hexagonale transparente, incolore	+	-	HCl și NH ₃	Cistinoze (dereglera metabolismului cisteinic), cisteinuria, boala urolitiazică.
Tirozină	Ace, subțiri strălucitoare galbene, repartizate în fascicule	+cu pigmenți biliari	--	NH ₃ , în baze, HCl diluat și HNO ₃	Intoxicări cu fosfor, hepatite, cirozele hepatice, atrofia acută a ficatului, anemia B ₁₂ deficitară, leucemii
Lecitină	Granule strălucitoare mici cu striație concentrată și radială	+ , cu pigmenți biliari	-	La încălzire în baze, acizi minerali și CH ₃ COOH	-<-
Colesterol	Plăci subțiri, transparente, incolore, aşezate în formă de scări	+	-	H ₂ SO ₄ cu formarea compușilor condensați de culoare roșie	Hiluria, distrofie lipidi că a epitelialui renal, calculi de colesterol
Bilirubină	Ace scurte mici, de culoare galbenă-cafenie situate în fasciculi	+ cu pigmenți biliari	-	Cloroform, baze, HCl, CH ₃ COOH, acetonă	Hepatite, atrofia ficatului, intoxicații cu fosfor
Hematoiodină	Rombi și ace de culoare galbenă-aurie	+	-	HNO ₃ – cu loare albastră	Hemoragii cronice, abces renal, prostatite, calculi renali, tumori, necroză

Hemosiderină	Granule amorfă de culoare cafenie intracelular și liberi	+	-	În 5% HCl și 5% feroci-anură de potasiu – oxizi de culoare albastră	Anemii hemolitice (hemoliză intracelulară)
Albastru de indigo	Plăci, ace, granule amorfă de culoare albastră	+	+	Cloroform, eter etilic	Abces hepatic, cistite, ciroză hepatică, gastro-enterocolite cronice
Xantină	Plăci rombice foarte mici, incolore	+	-	HCl, la încâlzire formează compuși roșii-violeti	Se întâlnesc rar, confirmă prezența calculelor de xantină
Amido-pirină	Ace de culoare roz suprapuse în fascicule	+	--	În cloroform cu 2% clorură de fier 1:1	Folosirea amidopirinei
Sulfanilamide	Ace în formă de fascicule, rozete, „bânturele” de culoare galbenă-cafenie	+	+	În acetonă; cu indicatorul Erlih capătă o culoare galbenă-deschisă	Doze mari de sulfanilamide, riscul formării calculilor

*Notă: Pregătirea indicatorului Erlih: Ig paradiacetilaminobenzaldehidă se dezvoltă cu 2 ml de HCl, se adaugă 98 ml de 2,24% de acid oxalic. Reactivul se aplică pe harti de filtru, se usucă și se tăie fâșii, se păstrează în cutie Petri la 37°C.



Cristale de acid uric



Cristale de urat acid de amoniu

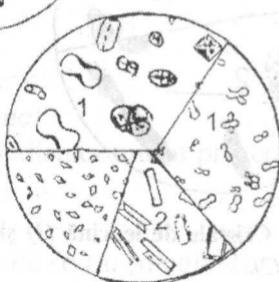
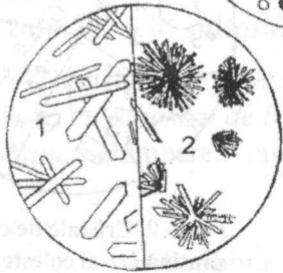


Fig. 6.5. Cristale de fosfați amorfi (1) și fosfat amoniaco-magnezian (2).



Fig. 6.6. Cristale de fosfat de calciu neutru.



Fig. 6.7. Cristale de albastru de indigo.

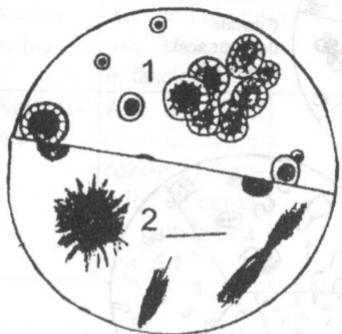


Fig. 6.8. Cristale de leucină (1) și tirozină (2).

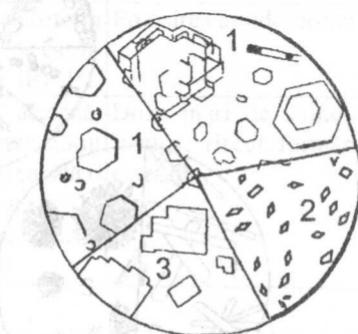


Fig. 6.9. Cristale de cistină (1), xantină (2) și colesterol (3).



Fig. 6.10. Cristale de sulfazol (1) și sulfidină (2).

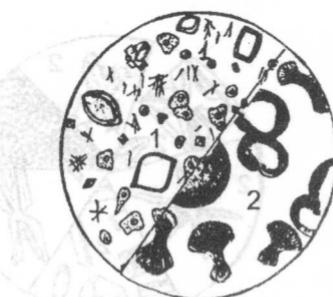


Fig. 6.11. Cristale de amidopirină în combinație cu cristalele de acid uric (1) și cristale de sulfodimetoxină (2).

Capitolul VII

TESTE-SCREENING PENTRU DEPISTAREA DEREGLĂRILOR METABOLICE CONGENITALE SAU DOBÂNDITE LA COPII. PRIMA ETAPĂ DE CERCETARE (CERCETAREA URINEI)

Se analizează urină colectată dimineața. Se colectează o porție de urină mai concentrată emisă dimineața și se măsoară volumul ei.

7.1. Identificarea proteinelor, aminoacizilor, cetoacizilor și indicanului

A. Proba cu acid sulfosalicilic

(Vezi "Depistarea proteinei în urină",

B. Proba cu albastru de bromfenol

Principiu. Schimbarea culorii indicatorului în prezența proteinelor.

Reactivi:

1. Acid 5,5-dietilbarbituric sare de sodiu (medinal).
2. Acetat de sodiu ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).
3. Acid clorhidric, 0,1 mol/l.
4. Sol.tampon barbital-acetat, pH 8,6:8,16 g medinal și 6,48 g acetat de sodiu se dizolvă în aproximativ 100 cm³ H₂O distilată, se adaugă 60 cm³ de acid clorhidric și se aduce cu H₂O distilată până la 1 l.
5. Albastru de bromfenol, solubil în apă, indicator.
6. Sulfat de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).
7. Soluție de indicator: 0,5 g albastru de bromfenol, 50,0 g de sulfat de zinc se dizolvă în 1 l H₂O distilată.
8. Acid acetic. La 1 cm³ de acid acetic concentrat se adaugă

9,0 cm³ de H₂O distilată.

9. Sol.etalon de albumină: se toarnă 1,0 g de albumină într-un balon cotat de 100 cm³ și se aduce cu sol.fiziologică până la cotă. Soluția de lucru de albumină se pregătește prin diluția sol.etalon de albumină cu H₂O distilată de 2; 4; 8; 16 ori.

10. Hidroxid de sodiu, sol. 0,02 mol/l.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005$ cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN

în vigoare;

Tehnica de lucru: 0,02 cm³ urină se picură pe hârtia de filtru, îmbibată în prealabil cu soluție tampon barbital-acetat și se usucă. Se usucă încă o dată și se colorează, introducând hârtia în indicator, apoi se spală cu acid acetic timp de 5–7 minute.

Aprecierea rezultatelor. Rezultatul se apreciază vizual cu ajutorul sol.de lucru de albumină, prelucrate în același mod ca și probă de cercetat. Metoda permite de a identifica în urină proteina în concentrație de 2 µg în probă.

B. Proba pentru depistarea hiperaminoaciduriei

Principiu. Aminoacizii la încălzire cu ninhidrină formează compuși de culoare albastră-violetă.

Reactivi:

1. Ninhidrină.
2. Acetonă.
3. Acid acetic glacial.
4. Sol.de ninhidrină: la 0,5 g ninhidrină se adaugă 95 cm³ acetonă, 1 cm³ acid acetic glacial și 4 cm³ H₂O distilată;
5. Glicină.
6. Sol.de glicină: 150 mg glicină se dizolvă în 100 cm³ H₂O dis-

tilată. 1 cm^3 soluție conține $1,5\text{ mg}$ glicină, ce corespunde $0,28\text{ mg}$ aminoazot. Din soluția dată de glicină se pregătesc diluțiile: 1; 3; 6; 9; 18; 24; 36; 54 cm^3 sol.glicină se aduce până la 100 cm^3 cu H_2O dist. Diluțiile pregătite corespund: $0,28$; $0,84$; $1,68$; $2,52$; $5,04$; $6,72$; $10,08$; $16,12\text{ mg}$ aminoazot în 100 cm^3 . Soluțiile sunt stable la păstrarea lor în frigider, timp de 1 lună.

Utilaj:

- analizor biochimic cu lungimea de undă 630 ± 10 sau $690 \pm 10\text{ nm}$;
- cânțar analitic cu precizia de $0,0002\text{ g}$;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de $0,01\text{ g}$;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1\text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1\text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05\text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005\text{ cm}^3$;

Tehnica de lucru: $0,02\text{ cm}^3$ urină se picură pe hârtie de filtru și după uscare se colorează cu soluție ninhidrină, apoi se usucă la aer până la dispariția completă a miroslui de acid acetic și se introduce în dulapul de uscare la $t = 60^\circ\text{C}$ pentru 15 minute. Soluția de glicină pregătită se prelucrează la fel ca urina, luând câte $0,02\text{ cm}^3$ de fiecare soluție de glicină.

Aprecierea rezultatelor. Colorarea probei se compară cu culoarea soluțiilor de glicină. Rezultatele se măsoară în "mg" aminoazot, eliminat cu urina în decurs de 24 ore. Eliminarea aminoazotului cu urina la copii în normă nu depășește $1\text{--}2\text{ mg/kg corp}$. În timpul noptii se elimină $\frac{2}{3}\text{--}\frac{3}{4}$ din cantitatea totală de 24 ore.

B. Identificarea cistinei și homocistinei

Principiu. Azidul de sodiu și iod formează compuși complecsi de culoare brună, care se decolorează în prezența cistinei și homocistinei.

Reactivi:

1. Azid de sodiu.
2. Iod-cristalic.
3. Soluție I_2 : $12,69\text{ g}$ de iod cristalic se căntărește în boxă, sc

dizolvă în soluție saturată de KI (37 g KI în 26 cm³ H₂O dist.), se transferă într-un balon cotate și se aduce cu H₂O până la 1 l. Se poate folosi fixanalul de I₂, 0,1 n.

4. Alcool etilic 96⁰

5. Soluție azid de sodiu: 1,5 g azid de sodiu se dizolvă în 50 cm³ soluție iod și se aduce volumul până la 100,0 cm³ cu alcool etilic. Soluțiile se păstrează în vas de sticlă brună la frigider.

Utilaj:

- eprubete de 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru: 1 picatură de urină se picură pe hârtia de filtru și după uscare se adaugă 1 picatură azid de Na. Timp de 5 minute se urmărește dispariția culorii brune.

Aprecierea rezultatelor. După timpul (în minute) dispariției culorii se determină prezența aminoacizilor în probă. În normă culoarea dispare peste 2–3 minute. În scopul obținerii rezultatelor calitative culoarea probei se compară cu scara colorată. Pentru obținerea ei se pregătesc soluții de cistină și homocistină, care conține 0,6 mg de fiecare aminoacid în 1 cm³. Nivelul inferior al sensibilității probei este de 0,3 mg/cm³.

Nota: Reacții fals-pozitive pot provoca acetona, unele preparate medicamentoase.

D. Identificarea prolinei și altor aminoacizi

Principiul. Izatina formează cu unii aminoacizi compuși complexi specifici.

Reactivi:

1. Izatină.
2. Acetonă.
3. Soluție de izatină în acetonă, 0,2 g/l. Soluția se păstrează în frigider la t +4 °C.
4. Acid clorhidric – 1 mol/l.

Tehnica de lucru: Hârtia de filtru se îmbibă cu soluție de izatină în acetonă și apoi se usucă. După uscare pe hârtia de filtru se

picură 1 picatură de urină. Se usucă la $t = 100^{\circ}\text{C}$ timp de 10 min, apoi se umectează cu HCl și după aceea se clătește cu apă curgătoare din robinet.

Aprecierea rezultatelor. O culoare albastră-surie se obține în cazul când conținutul fenilalaninei este ridicat, brună – triptofanul, purpurie – amestecul a mai multor aminoacizi, iar apariția culorii albastre în formă de cerc indică prezența în urină a prolinei libere (nu mai puțin de $0,1 \text{ mg/cm}^3$).

Culoarea probei se poate de comparat cu scara colorată. În acest scop se pregătesc sol.etalon de prolină, fenilalanină și triptofan, ce conțin câte $0,5 \text{ mg}$ de aminoacizi în 1 cm^3 . Din aceste soluții se pregătesc diluțiile ce conțin de la $0,1$ până la $0,5 \text{ mg}$ de aminoacizi respectiv în 1 cm^3 .

E. Identificarea cetoacizilor

Principiul. Clorura de Fe (III) în prezența acidului clorhidric formează cu cetoacizii compuși specifici colorați.

Reactivi:

1. Clorură de fier ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 100 g/l soluție.
2. Soluție de acid clorhidric de 10% .
3. Clorură de magneziu ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).
4. Amoniac (NH_4OH) concentrat.

5. Sol $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: la $11,0 \text{ g}$ clorură de magneziu se adaugă 20 cm^3 amoniac concentrat, apoi volumul se aduce cu H_2O dist. până la 1 l.

Tehnica de lucru:

Varianta I. La $0,5 \text{ cm}^3$ urină se adaugă $0,25 \text{ cm}^3$ sol. de clorură de fier (III). Reacția este pozitivă în cazul apariției sedimentului de culoare verde-închisă.

Varianta a II-a. La 4 cm^3 urină se adaugă 1 cm^3 sol.clorură de magneziu (pentru înlăturarea fosfaților care amestecă reacția) se agită bine și peste 5 minute se filtrează. La sol.filtrat se adaugă 2 picături sol.HCl și 2 picături sol.clorură de fier (III). Apariția culorii se urmărește timp de 5 minute.

Aprecierea rezultatelor. Apariția culorii indică nu numai pre-

zența cetoacizilor, dar și a altor compuși. Prezența sau lipsa cetoacizilor se apreciază după culoarea aparută (*tabelul 7.1*).

Tabelul 7.1
Reacțiile de culoare ale diferitor compuși cu clorură de fier (III)

Culoarea	Compușii
Galbenă	Acizii piruvic, a-cetoizovalerianic
Galbenă ce dispare imediat	Acizii para-hidroxifenipiruvic, imidazolpiruvic
Verde sau albastră-verzuie	Acizii fenilpiruvic, imidazolpiruvic
Albastră-verzuie	Bilirubina
Verde-inchisă care trece mai târziu în cafenie (brună)	Acidul xanturenic
Roșie-brună	Acizii acetilacetic și para-aminosalicilic
Rosie-brună cu trecerea în verde-albastră	Acidul vanilinic
Roz-liliachiu	Acidul orto-hidroxifenilacetic
Purpurie	Derivații fenotiazinei, salicilații
Purpurie care trece apoi în purpurie-brună	α-cetobutiratul
Brună-întunecată care apare brusc	Acidul 3-hidroxiantranilic
Sură cu nuanță verzuie	Acizii α-cetoizocapronic, α-cetoizo-valerianic, α-cetometilmalonic

F. Identificarea cetoacizilor după reacția cu 2,4-dinitrofenilhidrazină

Principiu. Cetoacizii formează cu (2,4-dinitrofenil)-hidrazina hidrazone colorați.

Reactivi:

1. Acidul clorhidric, 2 mol/l.
2. (2,4-dinitrofenil)-hidrazina (2,4-DNFH).
3. Sol.2,4-DNFH: 2,0 g 2,4-DNFH la 1 l sol. de 2 mol/l HCl.
4. Eter dietilic.
5. Carbonat de sodiu (Na_2CO_3), 100 g/l sol.

Utilaj:

- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;

Tehnica de lucru: $0,25 \text{ cm}^3$ urină și $1,0 \text{ cm}^3$ sol.2,4-DNFH se amestecă. Peste 10 minute se adaugă $1,25 \text{ cm}^3$ eter dietilic și se agită bine. Stratul de eter dietilic se extrage atent și se transferă în altă eprubetă la care se mai adaugă un volum egal de sol. De 100 g/l Na_2CO_3 . Conținutul eprubetei se agită.

Aprecierea rezultatelor. Intensitatea compusului colorat ce se formează, se apreciază vizual după scara de la 0 până la 4. Culoarea galbenă corespunde gradației 2, oranj – 3, oranj-intunecat (aproape cafenie) – 4. În normă conținutul eprubetei nu se colorează.

G. Identificarea acidului homogentizinic

Principiu. În mediul bazic acidul homogentizinic ușor se oxidază cu formarea compusului de culoare albastră-violetă.

Reactivi:

1. Sol. de hidroxid de sodiu, 100 g/l .

Utilaj:

- eprubete de $10 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru: La $0,5 \text{ cm}^3$ urină se adaugă câteva picături sol. de hidroxid de sodiu, 100 g/l . Rezultatele se apreciază după 1–2 minute.

Aprecierea rezultatelor. În cazul reacției pozitive urina se colorează în albastru-violet. În normă culoarea nu se dezvoltă.

H. Identificarea indicanului (proba Obermeyer)

Principiu. Transformarea indicanului în indoxil după hidroliza legăturii eterice a acidului mineral și apoi oxidarea indoxilului cu clorura de fier (III) cu formarea compusului colorat.

Reactivi:

1. Acetat de plumb $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, 100 g/l sol.
2. Acid clorhidric concentrat.

3. Clorură de fier (III) ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).
 4. Reactivul Obermeyer: 0,4 g ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) se dizolvă în 100 cm^3 acid clorhidric concentrat.
 5. Cloroform.
 6. Tiosulfat de sodiu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 200 g/l sol.
- Utilaj:*
- eprubete de 10 cm x 1 cm;
 - balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
 - baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1\text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru: Într-o eprubetă ce conține 4 cm^3 urină se adaugă $0,4\text{ cm}^3$ sol. acetat de plumb pentru sedimentarea pigmentelor biliari, sărurilor și altor substanțe ce amestecă reacției. Apoi conținutul eprubetei se filtrează și $1-2\text{ cm}^3$ de filtrat se amestecă cu un volum egal de reactiv Obermeyer, se mai adaugă $0,5 - 1\text{ cm}^3$ cloroform și atent se agită. Dacă stratul de cloroform (inferior) se colorează în albastru sau rosu, atunci acesta se transferă în altă eprubetă și se adaugă câteva picături de tiosulfat de sodiu.

Aprecierea rezultatelor. În cazul reacției pozitive culoarea stratului de cloroform nu dispare la adăugarea tiosulfatului de sodiu. În normă reacția este negativă.

7.2. Identificarea glucidelor

A. Identificarea glucozei (vezi determinarea glucozei în urină)

B. Identificarea fructozei (proba Selivanov)

Principiu. Fructoza cu rezorcina formează la încălzire un compus de culoare roșie.

Reactivi:

1. Acid clorhidric, 1 mol/l.
2. Sol. rezorcină: 5,0 g la 1 l sol. 1 mol/l de acid clorhidric.

Utilaj:

- eprubete de 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1\text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru. La 1 cm^3 sol. rezorcină se adaugă 2 cm^3 urină.

nă, apoi se încălzește în baia clocoțită până la fierbere.

Aprecierea rezultatelor: În prezența fructozei se dezvoltă rapid o culoare roșie-intensă. În normă culoarea roșie este absentă.

C. Identificarea lactozei și maltozei (proba Velka)

Principiu. Lactoza și maltoza formează cu amoniacul în mediu bazic la încălzire un compus colorat.

Reactivi:

1. NH_4OH – concentrat.
2. Hidroxid de potasiu, 200 g/l sol.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru: La 5 cm^3 urină se adaugă $2,5 \text{ cm}^3$ NH_4OH –concentrat, $0,2 \text{ cm}^3$ sol. KOH și se încălzește la baia de apă 30 minute la $t = 60^\circ\text{C}$.

Aprecierea rezultatelor. Pentru lactoză este caracteristic apariția culorii cafenii, iar pentru maltoză – culoarea roșie. În normă culoarea este absentă.

D. Identificarea pentozelor (proba Bial)

Principiu. Pentozele cu orcina și clorura de fier în mediu acid formează la încălzire un compus colorat.

Reactivi:

1. 5 - metilrezorcină.
2. Acid clorhidric concentrat.
3. Soluție de clorură de fier ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 100 g/l.

4. Reactivul Bial: 1,0 g orcină se dizolvă în 500 cm^3 HCl și se adaugă 1 cm^3 sol. de clorură de fier.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$.

Tehnica de lucru: 5 cm^3 reactiv Bial se amestecă cu 1 cm^3 urină și se încălzește până la fierbere.

Aprecierea rezultatelor. În cazul reacției pozitive apare o culoare galbenă-verzui pronunțată. În normă culoarea lipsește.

E. Identificarea glicozoaminoglicanilor

Principiu. Bromatul de cetiltrimetilamoniu cu glicozoaminoglicanii formează în mediu acid un sediment de culoare albă.

Reactivi:

1. Acid citric.
2. Hidroxid de sodiu.
3. Soluție tampon citrat, 1 mol/l, pH 5,7: 210,0 g acid citric se dizolvă într-o cantitate nu prea mare de apă, se adaugă 120 g NaOH. Se răcește și se adaugă H₂O dist.până la 1 l.
4. Soluție de bromat de cetiltrimetilamoniu: 25,0 g la 1 l de sol. tampon citrat.

Utilaj:

- eprubete de 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul de $100 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1 \text{ cm}^3$;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05 \text{ cm}^3$;

Tehnica de lucru: La 5 cm^3 urină proaspăt emisă se adaugă 1 cm^3 soluție de bromat de cetiltrimetilamoniu și timp de 30 minute se urmărește formarea sedimentului.

Aprecierea rezultatelor. Reacția se consideră pozitivă în caz de formare a sedimentului. În normă sedimentul nu se formează. Proba nu este specifică, în 40% din cazuri reacția este fals-pozitivă.

7. 3. Identificarea calciului (proba Silcovici)

Principiu. Ionii de calciu cu acidul oxalic formează o sare insolubilă – oxalatul de calciu.

Reactivi:

1. Acid oxalic.
2. Oxalat acid de amoniu.
3. Acid acetic glacial.

4. Reactivul Silcovici: 2,5 g de acid oxalic, 2,5 g de oxalat acid de amoniu și 5 cm³ de acid acetic glacial se dizolvă în 50 cm³ de apă distilată, apoi se aduce până la volumul de 150 cm³.

Utilaj:

- eprubete de 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul de $100 \pm 0,1$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea de $10,0 \pm 0,1$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea de $1,0 \pm 0,05$ cm³.

Tehnica de lucru: La 0,5 cm³ urină se adaugă 0,5 cm³ reactiv Silcovici, se agită. Peste 1–2 minute se determină gradul de turbiditate.

Aprecierea rezultatelor. Gradul de turbiditate se compară cu urina filtrată a aceluiași pacient și se determină vizual:

- 0 – lipsa turbidității;
- 1 – turbiditate slabă;
- 2 – turbiditate moderată;
- 3 – turbiditate însemnată;
- 4 – turbiditate pronunțată.

Turbiditatea de gradul 3–4 indică creșterea conținutului de calciu în urină.

Capitolul VIII

TESTE RAPIDE DE INVESTIGARE

Una din importantele achiziții ale metodologiei moderne în medicina de laborator este introducerea, dezvoltarea și aplicarea pe scară largă a testelor rapide, denumite screening-test, teste expres, bed-side tests, side-room tests, și a procedurilor simplificate, cu valoare orientativă în abateri de la valorile fiziologice normale ale compoziției biologice curent explorate în sânge, urină, LCR.

Testul rapid este o investigație biochimică care furnizează rezultate calitative sau semicuantitative, într-un timp scurt și în mod foarte simplu, folosindu-se reactivi gata pregătiți impregnați pe hârtii sub formă de bandelete (benzi din material plastic) sau tablete comprimate de testare.

Majoritatea testelor se bazează pe câteva principii simple, în toate cazurile reactivii fiind conținuți în stare solidă și uscată.

Principalele variante se bazează pe folosirea de bandelete (benzi din material plastic) impregnate cu reactivi, tablete sau comprimate de substanțe reactive, pulberi uscate din substanțe reactive, hârtii reactive. Aceste forme se găsesc în comerț sub denumiri diferite în funcție de firma care le livrează și de componentul sau reacția cărora li se adresează.

Schema bandeletei din material plastic pentru testarea urinei este expusă în *figura 8.1*. Ea este alcătuită din mai multe straturi: membrana semipermeabilă, stratul "scavenger", stratul reactiv și stratul indicator.

Pentru a optimiza și a reduce la minimum interferențele altor componente chimice stratul "scavenger" transformă substanța potențială interferentă într-un compus noninterferent. Această transformare se realizează prin oxidarea compusului interferent cu aju-

torul enzimelor (de pildă ascorbatoxidaza care oxidează acidul ascorbic), sau prin complexare, folosind chelatori de metale.

Stratul reactiv conține enzime, tampoane și substanțe cu acțiune catalizatoare. Aici are loc reacția chimică propriu-zisă și produsul de reacție penetreză stratul următor pentru a întâlni stratul indicator, unde se formează culoarea care este citită de analizator (figura 8.2).

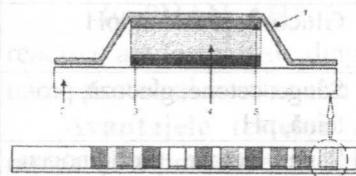


Figura 8.1. Schema bandeletei din material plastic pentru testarea urinii:

1 – membrana semipermeabilă; 2 – suportul din material plastic; 3 – stratul indicator; 4 – stratul reactiv; 5 – stratul „scavenger” care transformă substanță potențială interferentă într-un compus noninterferent.

De fapt, expres-testele diagnostice se pregătesc după tehnologii speciale, iar componenta zonei reactive reflectă cele mai avansate realizări ale chimiei analitice.

Toate felurile de cercetări pot fi efectuate cu ajutorul bandeletelor atât *monofuncționale*, cât și *polifuncționale* cu diferite combinații ale zonelor de reagenți, fapt ce permite de a efectua măsurări complexe sau măsurări ale unor componente separate.

În tabelul 8.1 sunt expuse tipurile de bandelete pentru cercetarea urinei comercializate de firma LAHEMA Cehia.

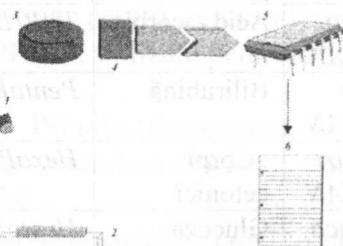


Figura 8.2. Principiul de lucru al fotometrului cu deflector:

1 – diod emițător de lumină; 2 – suprafața zonei de testare; 3 – detectorul; 4 – convertorul analog-digital; 5 – microprocesorul; 6 – rezultatul analizei.

Tabelul 8.1

Tipurile de bandelete pentru cercetarea urinei comercializate de firma LAHEMA, Cehia

Bandelete monofuncționale pentru cercetarea urinei		Bandelete polifuncționale pentru cercetarea urinei	
<i>Albu PHAN</i>	Proteină și pH	<i>DiaPHAN</i>	Cetone și glucoză
<i>Asco PHAN</i>	Acid ascorbic	<i>TriPHAN</i>	Glucoză, proteină, pH
<i>Bili PHAN</i>	Bilirubină	<i>PentaPHAN</i>	Sânge, cetonă, glucoză, proteină, pH
<i>Ceto PHAN</i>	Corpi cetonici	<i>HexaPHAN</i>	Sânge, cetonă, urobilinogen, glucoză, proteină și pH
<i>Gluco PHAN</i>	Glucoză	<i>HeptaPHAN</i>	Sânge, cetonă, bilirubină, urobilinogen, glucoza, proteină și pH
<i>Hemo PHAN</i>	Sânge și hemoglobină		
<i>Nitri PHAN</i>	Nitriți (bacteriuri)	<i>NonaPHAN asco</i>	Nitriți, pH, proteină, acid ascorbic, sânge, glucoză, urobilinogen, bilirubin, cetonă,
<i>Osmo PHAN</i>	Osmolalitatea	<i>NonaPHAN osmo</i>	Nitriți, pH, proteină, osmolalitatea, glucoză, urobilinogen, cetonă și sânge
<i>UBG PHAN</i>	Urobilinogen-nul		

Materiale de control pentru expres-teste pentru analiza urinii.

Se folosește materialul de control liofilizat care imitează urina naturală și permite de a efectua rapid controlul bandeletelor diagnostice. În fiecare fioată cu materialul de control liofilizat se adaugă cantitatea de apă distilată indicată în instrucțiunea de însoțire. Soluțiile care imitează urina se folosesc numai pentru controlul funcționalității bandeletelor de diagnostic. Materialul de control este stabil în timpul unei zile de muncă.

În cele ce urmează se aduc câteva exemple de materiale de control produse de firma LAHEMA, Cehia:

- lyoPHAN GK este predestinat pentru controlul zonelor reactive ale testelor de diagnostic PHAN, utilizate pentru determinarea glucozei și corpilor cetonici în urină;
- lyoPHAN UB este predestinat pentru controlul zonelor reactive ale testelor de diagnostic PHAN, utilizate pentru determinarea urobilinogenului și bilarubinei;
- lyoPHAN AHL este predestinat pentru controlul zonelor reactive ale testelor de diagnostic PHAN, utilizate pentru determinarea proteinei și sângei în urină.

Avantajele testelor rapide. Prin implementarea testelor rapide și a procedurilor simplificate se realizează câteva avantaje care trebuie subliniate în mod special:

- se poate efectua investigarea orientativă în condiții de dotare redusă, fără aparatură (în mediu rural, oficiul medicului de familie, serviciul de urgență);
- simplificarea și înlăturarea efectuării unor analize laborioase;
- scurtarea timpului de lucru concomitent cu reducerea consumurilor specifice de reactivi;
- pot fi executate în majoritatea lor fără pregătire de specialitate.

Stabilitatea testelor este limitată, ca de altfel și a majorității reactivilor. Se recomandă în mod special respectarea condițiilor de manipulare și conservare indicate de instrucțiunile care însoțesc testele rapide. Testele rapide cu termen expirat nu trebuie să fie folosite.

Modul de utilizare a testelor rapide. Principalele variante se bazează pe folosirea de:

- bandelete din material plastic care prezintă la un capăt hârtia impregnată cu reactivi. Bandeletele din material plastic, după cum se știe, pot fi *monofuncționale* sau *polifuncționale*;
- tablete sau comprimate de substanțe reactive;
- hârtii reactive (de pildă pentru determinarea pH-ului).

Instrucțiunea de utilizare a testului cuprinde: principiul, tehnica sau modul de folosire, sensibilitatea, specificitatea, stabilitatea trebuie și observații când este cazul. În calitate de aspecte comune, evidențiate recomandările pentru manevrarea testelor, și anume:

- se previne a nu atinge cu mâna aria reactivă a bandeletei;
- în cazul tabletelor, acestea se apucă cu pensa pentru a fi scoase din conținător.

Drept mod de utilizare, comun pentru toate bandeletele diagnostice se introduce capătul reactiv al bandeletei pentru scurt timp (1–2 secunde) în vasul de analizat. *Dacă se prelungeste timpul de imersare, componentele reactive se pot pierde prin dizolvare și reacția apare fals negativă.* Se scoate apoi bandeleta și se presează capătul imersat de peretele vasului conținător. Manevra este absolut necesară, în special la testele bazate pe reacții în care intervine oxigenul, pentru a nu fi împiedicat accesul oxigenului atmosferic necesar pentru oxidare, cum este cazul testelor pentru detectarea glucozuriei prin reacția enzimatică. Citirea se face după 1 minut, comparându-se aria de testare cu scala de evaluare de pe flacon.

Pentru obținerea unor rezultate de mare acuratețe este necesar de a folosi fotometre cu deflector (*figura 8.2*).

Implementarea testelor rapide a permis degrevarea laboratoarelor de balastul analizelor și micșorarea gradului de supraîncărcare a acestora. De aceea această tehnologie este din ce în ce mai agreată în laboratoarele clinice, ei aparținându-i un mare viitor.

Bibliografie

1. Denisa Michele. *Biochimie clinică. Metode de laborator.* Ediția a II-a. Ed. Medicală, București, 2000, 381 p.
2. Fogazzi G.B., Ponticelli C., Ritz E. *The urinary sediment.* Second Edition. Oxford University Press, New York, 1999.
3. Ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr.517 din 27.12.2006 "Despre activitatea serviciului de laborator și măsurile de perfecționare".
4. Rinichiul. *Ghid diagnostic și terapeutic / sub red. lui Ioan Romoșan.* Ed. Medicală, București, 1999, 538 p.
5. Walah J. *Interpretarea testelor de diagnostic.* Ed.științelor medicale, Cluj-Napoca, 2005.
6. Долгов В.В., Миронова И.И. *Диагностические полоски ФАН. Клинико-лабораторные исследования диагностическими полосками ФАН.* Лахема, Брюно, 2001, 90 с.
7. *Клиническая лабораторная аналитика.* Том III. Частные аналитические технологии в клинической лаборатории. Под ред. В.В.Меньшикова. Москва – Лабпресс, 2000.
8. *Лабораторные методы исследования в клинике.* Справочник. Под ред. Меньшикова В.В., М., «Медицина», 1987 г.
9. Назаренко Г.И., А.А.Кишун. *Клиническая оценка результатов лабораторных исследований.* М., 2005, с.357–362.
10. *Ошибки в лабораторной диагностике.* Под редакцией проф. Л.Л.Громашевской. Киев, «Здоровья», 1990, с.54–63.
11. Приказ МЗ СССР № 290 от 11.04.1972 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования".
12. Приказ МЗ СССР № 960 от 15.10.1974 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования".
13. Приказ МЗ СССР № 1175 от 21.11.1979 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования".
14. *Руководство по клинической лабораторной диагностике.* Ч.1–2. Под редакцией проф. А.Базарновой., Киев, „Вища школа”, 1981–1982 г.
15. *Энциклопедия лабораторных тестов.* Под. ред. Н.Тица. Изд. „Лабинформ”, Москва, 1997.